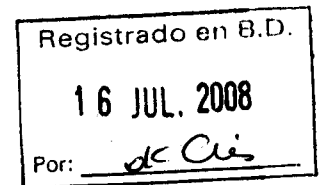


30-11-07

Universidad de Costa Rica
Escuela de Biología



Informe Final

TITULO DEL PROYECTO: Variación genética del mono congo (*Alouatta palliata*), del mono colorado (*Ateles geoffroyi*), del mono tití (*Saimiri oerstedii*) y del mono cara blanca (*Cebus capucinus*) de Costa Rica: implicaciones para la conservación de estas especies.

CODIGO DEL PROYECTO: 111-A1-015

Antecedentes

1. **Objetivo general**

El objetivo de este estudio fue caracterizar la variación genética de las cuatro especies de primates de Costa Rica, usando loci de microsatelites (MS). Estos resultados serán usados para diseñar un esquema de manejo que asegure la preservación de la variación genética y la conservación de estas especies.

Posteriormente, se incorporó un objetivo para determinar el estado general de salud de las cuatro especies de primates no humanos de Costa Rica.

2. **Duración original**

Tres años

3. **Períodos de ampliación de vigencia**

Tres.

4. **Investigadores y carga académica**

Principal

Gustavo Gutiérrez Espeleta, ¼ TC. Escuela de Biología, UCR

Asociados (sin carga)

Ronald Sánchez Porras Sede de Occidente, UCR

Grace Wong Vida Silvestre, UNA

Facultad de Microbiología, UCR.

- Olga Marta Guerrero B
- Alfredo Castro Castillo
- Beatriz Rodríguez Ortiz

- Mayra E. Solano Chinchilla
- Olger Calderón Arguedas
- Evelyn Rodríguez C
- María del Mar Gamboa C
- Fernando García S
- Libia Herrero Uribe
- Laya Hun Opfer
- Ingrid Salas Campos
- Julio García
- Karl Schosinsky N
- Manuel Jiménez Díaz
- Norma Gross Martínez
- Pedro Martínez

CIBCM, UCR

- José Bonilla

Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED)

- Misael Chinchilla Carmona
- Idalia Valerio C.

¿Cómo se hizo y qué se hizo para ejecutar el proyecto?

5. Las actividades que se desarrollaron para la consecución de las metas y el porcentaje de logro total al concluir la investigación
 - Cuantificar la variación genética nuclear y determinación del estado general de salud de al menos 50 individuos de cada especie de primates del país (80% de logro, algunos análisis de laboratorio pendientes. Ver publicaciones adjuntas).
 - La meta final es la protección de las especies que estén amenazadas o en vías de extinción (70% de logro. Ver documento sobre el taller realizado en julio del 2007. Falta procesar cierta información y redactar el documento final).
6. Los métodos o los procedimientos utilizados.

Técnicas de Captura

Debido a la carencia de un mecanismo de control sobre las condiciones, tanto bióticas como abióticas, para los hábitat naturales de las poblaciones de especies en

su estado silvestre, el trabajo en el bosque tiende a complicarse. Por esta razón se definió como prioridad principal el bienestar de la especie y las decisiones tomadas en cada captura procuraron disminuir el riesgo de daños significativos para las poblaciones de monos.

El procedimiento para la captura de los monos en su estado silvestre se llevó a partir de dardos con compuestos anestésicos, mediante técnicas estándares (Glander *et al.*, 1991). El anestésico general empleado fue el hidrocloreuro de tiletamina, un análogo de la ketamina, disponible en una combinación 1:1 con zolazepam (una pirazolodiazepina) conocido comercialmente como Zoletil®. El zolazepam al estar mezclado con la tiletamina genera un aumento en sus efectos anestésicos, ayuda a la relajación muscular, disminuye las posibles convulsiones y establece una recuperación paulatina (Swan, 1992). La dosis recomendada de este compuesto para primates es de 5-10 mg/kg (IACUC, 1998).

El lanzamiento de los dardos fue realizado por Ronald Sánchez Porras, debido a su amplia experiencia y capacitación en el procedimiento. Cuando el primate se encontraba a una distancia cercana (1-10 m) se trabajó con cerbatana, mientras que a distancias mayores (10-40 m) se contó con un rifle de dardos.

Se requiere el conocimiento logístico adecuado para rastrear los individuos que han sido impactados. Al tratarse de mamíferos con hábitos arborícolas, se debieron tomar precauciones para asegurar que el animal no resultara lastimado al caer del árbol, esto se logró mediante el posicionamiento de redes debajo del animal.

Esta investigación contó con los permisos pertinentes, estipulados en los capítulos VI y VII de la Ley de Conservación de la Vida Silvestre (Ley 7317) (SINALEVI, 2003), para llevar a cabo la recolecta científica de muestras a través de la captura de monos.

Medición y Marcaje

Una vez capturado el animal, se estudiaron los rasgos morfológicos del primate. Se tomaron medidas de la longitud del cuello, pecho, cintura, cuerpo, cola, total (cuerpo + cola); además se midió el representante derecho del brazo, pata, región palmar y plantar, utilizando una cinta métrica. Asimismo se determinó la masa corporal del animal a través de una balanza con malla incorporada, se calculó la temperatura anal y se estimó un índice de condición física (ICF) definido como el peso corporal dividido por la longitud de la pata (kg/cm). Finalmente se realizó un marcaje para cada animal capturado utilizando aretes con un sistema de nomenclatura específico para su posterior identificación y monitoreo.

Toma de muestras

Seguidamente se procedió a la toma de muestras de sangre para cada individuo. La extracción sanguínea se llevo a cabo a partir de la vena femoral localizada en el muslo interno del primate, insertando la aguja en un ángulo de 30-45 grados. Para los animales adultos se tomaron 2-3 ml de sangre, mientras que para los juveniles se procuró obtener únicamente 1-2 ml de dicho fluido vital, valiéndose de un “vacutainer” con EDTA como anticoagulante. Se contó con un par de guantes desechables para evitar la contaminación de la muestra, así como para cuidar la salud tanto del mono como del investigador (Liu, 2002). Las muestras de sangre fueron mantenidas a 4 °C hasta ser llevadas al laboratorio para su posterior procesamiento y almacenamiento.

Todos los monos anestesiados fueron cuidados adecuadamente durante su estado de inconciencia, procurando mantenerlos ilesos en condiciones microclimáticas adecuadas. Fueron liberados hasta que se disipara totalmente el efecto de la anestesia, es decir una vez que estos se desarrollaran de manera óptima bajo sus propios medios.

Trabajo de Laboratorio

El trabajo de laboratorio se realizó en la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, Sede Central Rodrigo Facio. Específicamente, se trabajó en el Laboratorio de Genética de la Conservación Animal y el Laboratorio del analizador genético.

Microsatélites Utilizados

Todos los monos fueron analizados para los siguiente marcadores microsatélites (STRPs) de ADN nuclear: AP68, AP74, AP6 desarrollados para *Alouatta palliata* (Ellsworth & Hoelzer, 1998) y PEPC3, PEPC8 Y PEPC59. Para los titís, se utilizaron D8S260, Leon 21, CJ 7, Leon15, LL3-1#1, LL1-1#18 Y LL 1-5#7 (ver abajo)

Extracción y amplificación del ADN

La extracción de ADN genómico fue llevada a cabo tanto a partir de muestras de sangre completa, como de células blancas (buffy coat). Para lograr extraer los leucocitos, la sangre completa fue centrifugada a una aceleración de 2500 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Seguidamente, la fase intermedia fue extraída mediante un gotero desechable o una micropipeta.

La obtención de ADN celular de alta calidad se logró mediante el uso de los siguientes protocolos comercialmente disponibles: “Wizard® Genomic DNA Purification

Kit” (Promega, 1999); y “Genomic DNA from blood, NucleoSpin® Blood” (Macherey-Nagel, 2002).

Una vez extraído, se procedió a amplificar el ADN mediante la técnica de PCR (Saiki *et al.*, 1988). El volumen final para cada reacción de PCR fue de 25 µl; conteniendo específicamente 18,6 µl de agua, 2,5 µl de “Buffer 10X” para ADN polimerasa termofílica libre de magnesio, 1,5 µl de cloruro de magnesio (MgCl₂) 25 mM, 0,5 µl dNTPs 10 mM, 4 pmol de cada imprimador, 2 unidades de *Taq* ADN polimerasa, sepa YT1, en “Buffer B” de almacenamiento (Promega, 1998) y 1 µl de la muestra de ADN purificado.

Para cada microsatélite, se siguió las especificaciones de la literatura con algunas modificaciones. Se utilizaron dos termocicladores disponibles: “Mastercycler Personal” (Eppendorf) y “GeneAmp PCR System 2400” (Applied Biosystems).

Se procedió a observar la eficiencia de la reacción de PCR, realizando una electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con 2,5 µl de bromuro de etidio 10 mg/ml. Las bandas fueron visualizadas a través de un transiluminador y se compararon contra el marcador 100 bp DNA Ladder (Promega, 2001).

Analizador Genético

Los productos de PCR que presentaron una amplificación adecuada, fueron enviados al analizador genético ABI Prism® 310. Se utilizó 1 o 2 µl del producto de amplificación, dependiendo de la intensidad de la banda observada en el transiluminador (a menor intensidad, mayor cantidad de muestra utilizada); además se adicionó 0,5 µl del marcador Rox y 12 µl de formamida por reacción.

Se procedió a desnaturalizar el material genético mediante un ciclo de 6 minutos a 95 °C. Inmediatamente se procedió a enfriar los tubos de PCR con el propósito de evitar la renaturalización del ADN. Finalmente cada muestra fue examinada automáticamente por el analizador genético a través del programa GeneScan® (AB, 2000). Con el propósito de determinar los genotipos de los individuos se utilizó el programa Genotyper®.

Salud:

1. Hisopado bucal y vaginal (hembras) para es estudio de:
 - i. bacterias anaerobias
 - ii. hongos patógenos (*Candida*).
2. Obtención de heces
 - i. Directo en solución salina y lugol para buscar protozoarios
 - ii. Directo por helmintos intestinales
 - iii. Cultivo por protozoarios
 - iv. Tinción con hematoxilina férrica

- v. Bacterias resistentes a antibióticos
- 3. Colección de 3-5ml de sangre de la vena femoral de cada individuo adulto y 1-2 ml de cada infante o juvenil. La sangre se distribuyó en tres vacutainers de la siguiente manera:
 - i. uno con EDTA como anticoagulante para las pruebas genéticas
 - ii. uno con anticoagulante para
 - 1. Directo por tripanosomátidos
 - 2. Directo por filarias
 - 3. Tinciones para protozoarios sanguíneos (tripanosomas y malaria)
 - 4. Tinciones para filarias
 - 5. Hematológico
 - iii. uno sin anticoagulante para obtención de suero
 - 1. Análisis bioquímico
 - 2. Serología por virus
- 4. Estudios a nivel superficial del cuerpo
 - i. Por hongos en pelambre y piel
 - ii. Por ectoparásitos a nivel cutáneo.

7. Las dificultades y la manera de confrontarlas

Dada la dimensión que tomó este proyecto, fue necesario solicitar las ampliaciones de vigencia para cubrir nuevos objetivos y campos de investigación, que originalmente no se habían contemplado.

Debe mencionarse que un problema importante que se presentó y que aún vemos las consecuencias, fue que en varias instancias y desde agosto del 2007, el ABI 310 de la Escuela de Biología dejó de funcionar. Esto atrasó drásticamente los avances en la parte molecular al extremo que se tuvo que paralizar este y otros proyectos en su totalidad, ya que no habían fondos para correr estas muestras en otros aparatos. Como aún el aparato sigue descompuesto, este problema se espera subsanar con fondos de otros proyectos, mediante la compra de este servicio a otras instituciones.

Es importante mencionar que este proyecto se desarrolló con recursos económicos limitados. Aparte de los recursos girados por la Vicerrectoría de Investigación (ver informe financiero abajo), recibió algunas donaciones personales y contó con el apoyo económico de proyectos de investigación de la Universidad Nacional y de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED) para la realización de muchas de las giras. Siempre contó con el apoyo del servicio de transporte de la UCR.

Resultados

8. Los logros o resultados más relevantes

Captura de individuos:

Cuadro 1. Número de individuos capturados y número de sitios de captura.

Especie	Número de individuos	Sitios diferentes
Congos	151	41
Carablanca	79	12
Araña	61	16
Tití	43	11
Total	334	80

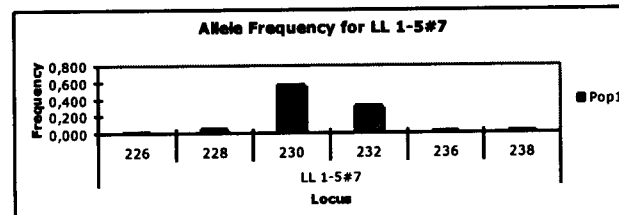
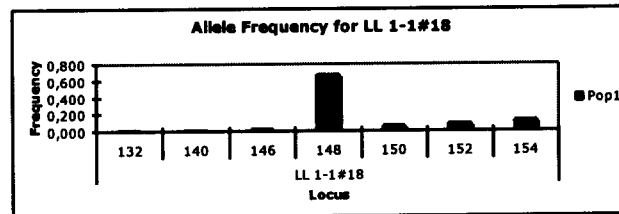
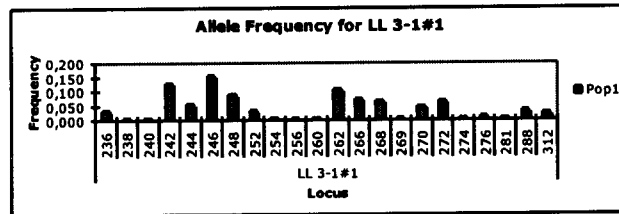
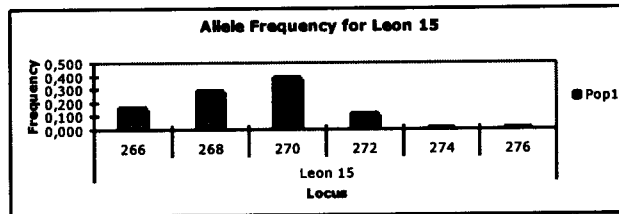
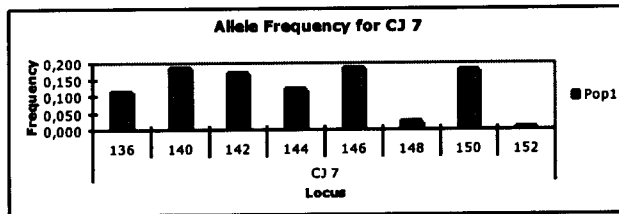
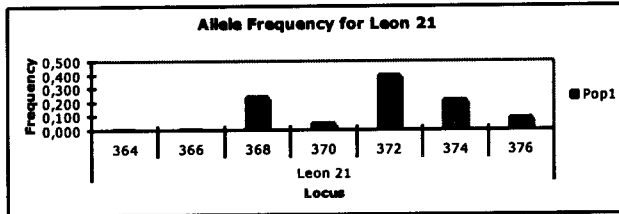
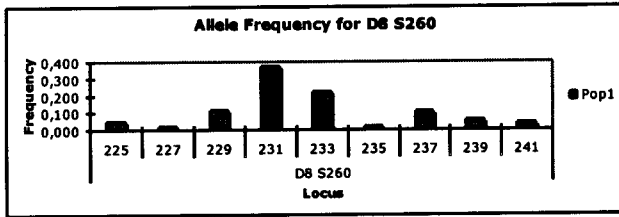
Nota. Para la captura de estos 334 individuos se realizaron un total de 91 giras.

Genética:

Ver publicaciones adjuntas. Hay resultados pendientes producto de lo que se explica en el punto 7.

Ejemplo de análisis de variación genética para los monos tití (para ser publicados en 2008).

Las siguientes figuras, muestran las frecuencias alélicas para siete marcadores moleculares para 61 muestras de monos tití (43 de este estudio y 18 de otra fuente - Mary Blair, Columbia University-).



Cuadro 2. Tamaño de la muestra (N), número de alelos (Na), número efectivo de alelos (Ne), heterozygosis observada y esperada (Ho y He) e índice de fijación (F) para el mono tití, Costa Rica.

Tití	Locus	N	Na	Ne	Ho	He	F
	D8 S260	61	9,000	4,472	0,426	0,776	0,451
	Leon 21	61	7,000	3,740	0,525	0,733	0,284
	CJ 7	61	8,000	6,166	0,705	0,838	0,159
	Leon 15	61	6,000	3,597	0,393	0,722	0,455
	LL 3-1#1	61	22,000	11,720	0,623	0,915	0,319
	LL 1-1#18	61	7,000	2,078	0,295	0,519	0,431
	LL 1-5#7	61	6,000	2,298	0,459	0,565	0,187

Salud:

Ver publicaciones adjuntas e informes de otras áreas en desarrollo. No se entrega en este informe lo concerniente a bacterias resistentes a antibióticos.

Conservación y políticas de manejo:

Se realizó el II Simposio de Primates de Costa Rica: Estrategia Nacional para su Conservación, del 25 al 27 de Julio del 2007, en el Auditorio de Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, San Ramón, Alajuela.

Esta actividad se desarrolló como una de las metas importantes de este proyecto y como una necesidad de compartir y divulgar los conocimientos adquiridos durante siete años de este proyecto de investigación. Como el título de la actividad bien lo indica, la meta final era establecer las políticas a seguir en términos de conservación y manejo de las cuatro especies de monos que tenemos en nuestro país.

Participaron los investigadores que han tenido experiencias científicas con alguna de las especies de primates del país y se discutieron áreas como genética, salud, nutrición, ecología, cautiverio y conservación (Ver documento adjunto para los resúmenes de las ponencias).

9. Trabajos de graduación y presentaciones hechas en congresos o seminarios, en el caso de que los hubiera.

Trabajos de graduación:

2002. Claudia Quan Rodas. Estado de fragmentación del hábitat para el desplazamiento del mono congo (*Alouatta palliata*) y sus efectos sobre la variabilidad genética en tropas de esta especie en el Area de Conservación Tempisque, Costa Rica. Maestría en Conservación y Manejo de Vida Silvestre. Universidad Nacional, Heredia.

2002. Galia Rojas. Flora Bacteriana Oral y su perfil de sensibilidad a antibióticos en Monos de Costa Rica (especies *Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*). Licenciatura en Microbiología. Facultad de Microbiología, UCR
2004. Laura Perdomo. Aspectos demográficos, dieta, anestesia y evaluación clínica de monos congos (*Alouatta palliata*) en el parque Nacional Cahuita, Costa Rica. Maestría en Conservación y Manejo de Vida Silvestre. Universidad Nacional, Heredia.
2004. Juan Pablo Palavicini Chavarri. ANALISIS MORFOMETRICO Y GENETICO POBLACIONAL PARA EL MONO CARABLANCA (*Cebus capucinus*) EN DIFERENTES LOCALIDADES DE COSTA RICA. Práctica de Especialidad. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago.
2004. Ana Yancy Morales Arce. Variabilidad Genética del Mono tití (*Saimiri oerstedii*) en Costa Rica: Implicaciones para su Conservación. Práctica de Especialidad. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago
2005. Catalina Ulloa y Andrea García. Variabilidad genética de 29 individuos de la especie *Cebus capucinus* y 31 individuos de la especie *Saimiri oerstedii*, a partir de muestras de sangre recolectados en diferentes sitios de nuestro país, utilizando dos microsatélites. Práctica de Especialidad. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia.
2006. Víctor Carmona Infante. Determinación de la variabilidad genética del mono araña (*Ateles geoffroyi*) mediante el uso de microsatélites. Práctica de Especialidad. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago
2007. Katrin Petschl. Liberación de monos araña (*Ateles geoffroyi*) del Zoológico La Marina al Parque Nacional Juan Castro Blanco, San Carlos. Pasantía internacional de estudiante de Alemania. Escuela de Biología, UCR.
2007. Jorge Rodríguez M. Efecto de la fragmentación en el mono congo (*Alouatta palliata*) y el mono carablanca (*Cebus capucinus*): Determinación de la estructura genética y Análisis de Viabilidad Poblacional. Licenciatura en Biología. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.
2007. Erica Hernández y Esmeralda Castro. Liberación de monos araña (*Ateles geoffroyi*) del Zoológico La Marina al Refugio de Vida Silvestre Nogal, Sarapiquí, Heredia y al Parque Juan Castro Blanco, San Carlos, Alajuela. Escuela de Biología, Universidad Latina.

2008. Laura Martínez Esquivel. Comparación de hábitos alimenticios y su relación con las infecciones parasíticas en los monos congo (*Alouatta palliata*), de Chomes y Palo Verde, Costa Rica. Licenciatura en Biología, Escuela de Biología, UCR.
2008. Hellen Lobo González y Javier Carazo Salazar. Evaluación del manejo en el campo y determinación de la variabilidad genética del mono araña (*Ateles geoffroyi*) en centros de tenencia de fauna silvestre en cautiverio en Costa Rica. Licenciatura en Biología. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia.
2008. Francisco Calvo Mora. Variabilidad Genética y Análisis Morfométrico del Mono Congo (*Alouatta palliata*) en Diferentes Zonas de Costa Rica. Licenciatura en Biología, Escuela de Biología, UCR.

Congresos, seminarios o charlas

2001. V Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación, San Salvador, El Salvador.
2002. VI Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación, San José, Costa Rica.
2004. Ideas Avanzadas en Filogenético, Caracas, Venezuela
- 2004-2007. Escuela de Biología y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica
2007. Ministerio de Ambiente y Energía, Área de Conservación Cordillera Volcánica Central.
2007. II Simposio de Primates de Costa Rica: Estrategia para su conservación. San Ramón, Alajuela.
- 2007 y 2008. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional

10. Las observaciones o recomendaciones

Sin lugar a dudas, este proyecto de investigación ha sido pionero a nivel nacional y hasta internacional en el campo de la conservación de especies silvestres, con los componentes de genética y salud. Nunca antes se había desarrollado un proyecto con estas características, que involucrara verdaderamente un trabajo multidisciplinario e

interinstitucional. Se abrieron nuevos campos de investigación y se engrandeció científicamente el patrimonio nacional o institucional, reforzando la imagen de la Universidad de Costa Rica como institución líder en esta temática.

Se forjaron además alianzas estratégicas con otras instituciones nacionales e internacionales, que han permitido colaboraciones científicas en estas y otras especies silvestres:

1. Jessica Lynch, Department of Anthropology, Center for Reproductive Biology, Washington State University: "Collection of behavioral, genetic and parasitological data from the primates in Costa Rica, as well as data collection through interviews on human attitudes and behaviors towards the monkeys"
2. Mary Blair, Molecular Primatology Laboratory, New York University, New York Consortium in Evolutionary Primatology, Columbia University, : "Microsatellite and mitochondrial DNA genetic variation among *Saimiri oerstedii* populations".

11. PUBLICACIONES: TODO PROYECTO DEBE CONCLUIR CON UNA PUBLICACIÓN CIENTÍFICA.

- 2002 Troyo, A., M. E. Solano, O. Calderón-Arguedas, M. Chinchilla, R. Sánchez and G. A. Gutiérrez-Espeleta. Fur mite, *Listrocarpus alouatae* fain (Acari: Atopomelidae), from *Alouatta palliata* gray (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Internat. J. Acarol.* 28, N° 3, 251-255.
- 2003 Zaldívar, M. E., K. E. Glander, O. J. Rocha, G. Aguilar, E. Vargas, G. A. Gutiérrez-Espeleta y R. Sánchez. Genetic variation of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica. *Biotropica* 35: 375-381.
- 2004 Calderón-Arguedas, O., A. Troyo, M. E. Solano, G. A. Gutiérrez-Espeleta and R. Sánchez. *Alouattomyia Baeri* (Diptera: Cuterebridae) Larvae Infestation in Howler Monkeys, *Alouatta palliata* (Primate: Cebidae) of the Caribbean Coast of Costa Rica. *Neotropical Primates* 12(1): 21-24.
- 2004 Gamboa-Coronado, M.M., E. Rodríguez-Cavallini, G. Rojas-Contreras, R. Sanchez-Porras y G. A. Gutiérrez-Espeleta. Flora bacteriana oral y su perfil de sensibilidad a antibióticos en monos de Costa Rica (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*). *Neotropical Primates* 12(1): 24-30.
- 2004 Troyo, A., M. E. Solano y O. Calderón-Arguedas. Two new species of *Listrocarpus* Fain (Acari: Atopomelidae) from *Cebus capucinus* Linnaeus and *Saimiri oerstedii* Reinhardt (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Systematic and Applied Acarology Special Publication* 18: 1-8.

- 2005 Chinchilla, M. A. Troyo, O. M. Guerrero, G. A. Gutiérrez-Espeleta y R. Sánchez. "Presencia de *Trypanosoma ninasense* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Parasitología Latinoamericana* 60: 90-92.
- 2005 Chinchilla, M. A., O. M. Guerrero, G. A. Gutiérrez-Espeleta y R. Sánchez Porras. Parásitos intestinales en *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 53 (3-4): 437-445.
- 2006 Ruiz-García, M., P. Escobar-Armel, D. Álvarez, M. Mudry, M. Ascunce, G. Gutiérrez-Espeleta y J.M. Shostell. Genetic Variability in Four *Alouatta* Species Measured by Means of Nine DNA Microsatellite Markers: Genetic Structure and Recent Bottlenecks. *Folia Primatol* 914
- 2006 Chinchilla M., O. M. Guerrero, G. A. Gutiérrez-Espeleta y R. Sánchez. Presencia de *Plasmodium brasilianum* (Apicomplexa, Plasmodidae) en el mono congo (*Alouatta palliata*, Primates: Cebidae) de Costa Rica. Importancia epidemiológica en relación con el ser humano. *Parasitología Latinoamericana* 61: 192- 96.
- 2007 Chinchilla M., O. M. Guerrero, G. A. Gutiérrez-Espeleta, R. Sánchez e I. Valerio. Parásitos en monos carablanca *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Parasitología Latinoamericana* 62: 170-175.

Otras publicaciones:

Medios escritos:

- 8 de noviembre 2000. **La Nación**, Viva. Hasta cuando sobrevivirán?
- 4 de marzo 2001. **La República**, Nacional: Extinción acecha monos.
- 7 de marzo 2006. **New York Times**. Rain Forest Gets Too Much Rain, and Animals Pay the Price.
- 4 de mayo 2007. **The Tico Times**. Monos en Costa Rica.

Radio:

- 31 de marzo 2006. **Radio Eco**. EcoNews. Situación de los monos de Corcovado.
- 28 de agosto 2007. **Radio Universidad**. Primates de Costa Rica

TV:

- 25 de julio 2006. **Canal 15**. Los monos en Costa Rica.
- 6 de abril 2007. **Animal Planet**. Grabación en Sarapiquí, Heredia.
- 26 de julio 2007. **Canal 6**. Repretel. Situación de los monos en CR
- 17 setiembre 2007. **Canal 15**. Proyecto de monos de la UCR.
- 26 de setiembre 2007. **Canal 13**. Proyecto de monos de la UCR.
- 5 de noviembre 2007. **Canal 7**, Telenoticias. Monos en Costa Rica.

Agradecimientos

Jeffrey Ortiz, Patricia Bolaños, Marcela Peña, Mayori Grimaldo, Federico Hernández, Sandra Hernández, Adriana Pérez, Leonardo García, Jorge Rodríguez y Jazmín Mora.

Informe financiero

12. Estado financiero total del proyecto de los recursos aportados por la Vicerrectoría de Investigación.

PROYECTO: 111-A1-015						
AÑO	PARTIDA	DESCRIPCION	ASIGNADO	AMPLIACIONES	DISMINUCIONES	GRADO
2001	1410	Viajes dentro del país	150.000	100.000	0	154.550
	2103	Reactivos y ut. de laboratorio	100.000	0	100.000	0
2002	1410	Viajes dentro del país	150.000	100.000	0	218.400
	2103	Reactivos y ut. de laboratorio	100.000	0	0	91.333
2003	4207	Becas Horas Asistente	0	234.040	0	234.368
	4207	Becas Horas Asistente	128.016	0	0	92.817
	2103	Reactivos y ut. de laboratorio	100.000	0	0	99.000
2004	1410	Viajes dentro del país	150.000	100.000	0	166.600
	4207	Becas Horas Asistente	281.652	0	0	223.056
2005	1410	Viajes dentro del país	100.000	0	0	97.800
	4207	Becas Horas Asistente	198.503	0	0	196.351
2006	2103	Reactivos y ut. de laboratorio	250.000	0	0	228.018
	1410	Viajes dentro del país	100.000	0	7.600	91.800
	2103	Reactivos y ut. de laboratorio	200.000	0	0	191.102
	4207	Becas Horas Asistente	270.648	0	0	277.173
	1417	Act. probatorias y sociales	0	7.600	0	7.600
	1417	Actividades de capacitación	0	7.600	0	7.600

Asignado real. = asignado + ampliaciones - disminuciones

“Informe final del aislamiento de hongos en monos”

Colaboradores de la Sección de Micología Médica:

Norma T. Gross, PhD.

Juan Diego Castro, Asistente de laboratorio

Resultados obtenidos:

1. Los resultados del estudio de los años 2001 al 2006, se publicaron en la Revista **Neotropical Primates**. “Yeast isolated from *Alouatta palliata*, *Atelles Geoffroyi*, *Cebus capucinus* and *Saimiri oerstedii* (Primates: Cebidae). Norma Gross, Juan Diego Castro, Olga Guerrero, Misael Chinchilla, Ronald Sánchez, Gustavo Rojas-Espeleta. En Prensa, 2008.

2. Los resultados del año 2007 son los siguientes:

Se recibieron 42 muestras distribuidas de la siguiente manera:

Tipo de muestra	Cantidad	Examen directo		Cultivos positivos
		Positivo	Negativo	
Vagina	10	2	8	4
Garganta	18	3	15	3
Pelo	14		14	

Observaciones:

1. Queda pendiente la identificación de los 7 cultivos del año 2007.
2. Quedan por identificar 7 aislamientos del 2006.
3. Queda pendiente el montaje de pruebas de sensibilidad a antifúngicos de los 14 aislamientos de levaduras y las pruebas de virulencia (proteinasas y fosfolipasas).
4. Se planea realizar estas pruebas en el 2008 y escribir el manuscrito, posiblemente una comunicación corta, ya que sólo se cuenta con un total de 14 aislamientos.

Reporte de parásitos en monos

Protozoarios	AG	AP	CC	SO
<i>Tritrichomonas</i> sp.	13			
<i>Giardia</i> sp.	3	1		1
Ameba tipo <i>E. nana</i>	1	1		
Ameba tipo <i>E. histolytica</i>	3			
Ameba tipo <i>E. hartmanni</i>	1			
<i>Plasmodium brasilianum</i>		1		
<i>Trypanosoma minasense</i>		1		
<i>Entamoeba chattoni</i>	3	7		

Helmintos	AG	AP	CC	SO
Uncinarias	2	4	1	1
Larvas <i>Strongyloides</i> sp.	5	1	2	
<i>Trypanoxyuris</i> sp.		4	1	
Microfilarias		2	5	
Oxiuridios	5			
Acantocéfalos			2	
Estrongilidios	5		1	

FLORA BACTERIANA DE LA CAVIDAD ORAL DEL MONO TITÍ (*Saimiri oerstedii*) Y SU PERFIL DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

Carlos E. Rodríguez-Rodríguez¹, Evelyn Rodríguez-Cavallini¹, María del Mar Gamboa-Coronado¹, Silvia Jiménez-Cuadra¹, Ronald Sánchez-Porras² y Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta³

1. Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.
2. Programa de Investigaciones del Bosque Premontano, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.
3. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

Introducción

Una de las especies de primates amenazada o vulnerable a desaparecer es el mono tití (*Saimiri oerstedii*) (CITES, 2003), que habita en los bosques de Costa Rica y Panamá (Wong, 1990). Otras especies del género se encuentran en América del Sur, en un área limitada por Colombia al oeste y la cuenca del Amazonas y las Guyanas al este (Wong, 1990). En Costa Rica existen dos subespecies de este género: *S. oerstedii oerstedii* y *S. oerstedii citrinellus*; ambas se consideran en peligro de extinción, principalmente por la pérdida de su hábitat, el desarrollo de infraestructura hotelera y por su captura y venta como mascotas (Carrillo *et al.*, 2000).

S. oerstedii es el mono de menor tamaño de Costa Rica y se encuentra en bosques primarios, secundarios y en áreas cultivadas; los Parques Nacionales Manuel Antonio y Corcovado son los reservorios más importantes. Es de conducta arbórea y diurna; se alimenta durante las primeras horas de la mañana, principalmente de insectos (75-80% de la dieta) y frutas (Campbell *et al.*, 2003).

La cavidad oral de los animales, al igual que la de los humanos, es uno de los hábitat microbiológicos más complejos y heterogéneos del cuerpo; la flora bacteriana incluye tanto anaerobios estrictos como *Bacteroides* sp., *Fusobacterium* sp., *Actinomyces* sp. y aerobios facultativos como *Corynebacterium* sp., *Haemophilus* sp., *Moraxella* sp. y *Neisseria* sp. (Sorum y Sunde, 2001). Dicha flora indígena contiene genes de resistencia a antibióticos, incluso en individuos sin historia de exposición a antimicrobianos preparados comercialmente (Sorum y Sunde, 2001). Son necesarios nuevos estudios en la flora normal de animales para determinar si su resistencia está directamente relacionada con el dramático incremento en la resistencia de patógenos (Sorum y Sunde, 2001).

Las escasas investigaciones relacionadas con la flora normal de monos se han llevado a cabo principalmente en el mono resus (*Macaca mulatta*) (Bowers *et al.*, 2002), mientras que en Costa Rica se efectuó un estudio relacionado con la flora oral de los monos congo (*Alouatta palliata*) y colorado (*Ateles geoffroyi*) (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004).

El presente trabajo pretende describir la flora bacteriana de la cavidad oral de *S. oerstedii* así como su patrón de sensibilidad, para compararlos con los de otros monos de Costa Rica y establecer la posible influencia del hombre en la adquisición de resistencia antimicrobiana.

Métodos

Se estudiaron 33 muestras de la cavidad oral de monos de la especie *Saimiri oerstedii*; 31 monos se capturaron en estado silvestre de cuatro zonas de Costa Rica: Parque Nacional Manuel Antonio (9°23' N, 84°07' O), Parque Nacional Corcovado (8°28' N, 83°35' O), Isla Damas (9°30' N, 84°15' O) y Golfito (8°36' N, 83°04' O), utilizando una cerbatana para el lanzamiento de los dardos (Pneudart, Inc.). Cada dardo contenía 0.3-0.4 mL de zolazepam, conocido comercialmente como Zoletil®. Los dos monos restantes fueron capturados en un zoológico, donde tenían aproximadamente dos años de estar en cautiverio.

Con una torunda estéril se rasparon los dientes y la cavidad bucal de cada uno de los monos, previamente sedados y se resuspendió la muestra en un tubo con 2 mL de solución salina estéril (SSE). Asépticamente y con jeringa estéril se inoculó 0.5 mL de la suspensión en un tubo con medio Carne Cocida (CC) prerreducido. Durante el transporte hasta el laboratorio los tubos con la suspensión en SSE se mantuvieron en frío, mientras que los de CC se mantuvieron a temperatura ambiente. A cada uno de los tubos con SSE se les agregó 2 mL de caldo tripticasa soya (CTS) y se incubaron a 35°C por 24 horas; los tubos con CC prerreducidos se incubaron a 35°C por 48 horas. A partir de cada tubo con CTS se rayó una placa de agar sangre (AS) y se incubó a 35°C por 24 horas para el aislamiento de bacterias aerobias. A partir de cada tubo con CC prerreducido se rayó una placa de AS y se incubó a 35°C por 48 horas en jarra de anaerobiosis para el aislamiento de bacterias anaerobias. Se seleccionaron los diferentes morfotipos coloniales de cada placa, se les realizó tinción de Gram y se subcultivaron en placas de AS para obtener cultivos puros. Se determinó la tolerancia al oxígeno de cada cepa aislada a través de la inoculación de dos placas de AS, una incubada en atmósfera incrementada de CO₂ y otra en jarra de anaerobiosis (35°C por 48 horas). Se seleccionaron como bacterias anaerobias aquellas cuyo crecimiento fue exclusivo o mejor en condiciones de anaerobiosis.

A las cepas bacterianas aerobias se les realizaron pruebas de Gram, oxidasa y catalasa, con el objetivo de agrupar las bacterias: enterobacterias, bacilos Gram negativos no enterobacterias, estafilococos y estreptococos. Con base en los resultados se seleccionó la galería miniaturizada de pruebas bioquímicas apropiada para la identificación; se emplearon los sistemas API 20E®, API 20NE®, y API Staph®, mientras que para las bacterias anaerobias se utilizaron las galerías API 20A®; las identificaciones se realizaron con el programa API-Plus®. Para determinar la sensibilidad a los antibióticos se emplearon galerías comerciales ATB® de acuerdo con el tipo de bacteria aerobia (ATB-G5 y ATB-Staph); en el caso de las bacterias anaerobias se utilizó el sistema ATB-ANA. Todas las galerías se incubaron y leyeron de acuerdo con las recomendaciones de la casa fabricante (bioMérieux®).

Resultados

A partir de 33 muestras de la cavidad oral de los monos títí se aislaron 137 cepas; 106 de bacterias aerobias (77.4%) y 31 de anaerobias (22.6%), lo que equivale a un promedio de 3.2 aerobios y 0.9 anaerobios por muestra. En las bacterias aerobias predominaron los bacilos Gram negativos (100 de 106 cepas aerobias), donde el género más frecuente fue *Enterobacter* (20 cepas), que se aisló del 42% de las muestras e incluyó las especies *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. sakazakii*. En frecuencia le siguieron los géneros *Burkholderia* (19 cepas) y *Aeromonas* (10 cepas), los cuales se aislaron del 27% de las muestras. Se identificaron cepas de otros 20 géneros de bacilos Gram negativos (Cuadro 1). Las seis cepas de bacterias aerobias Gram positivas fueron de los géneros *Staphylococcus* (3 cepas: *S. sciuri*, *S. xylosus* y *S. auricularis*) y *Bacillus* sp. (3 cepas).

En cuanto a las 31 bacterias anaerobias (Cuadro 2) se identificaron 17 bacilos Gram positivos (géneros *Clostridium* y *Propionibacterium*), 8 bacilos Gram negativos (géneros *Fusobacterium*, *Bacteroides* y *Prevotella*), 4 cocos Gram positivos (géneros *Gemella* y *Peptostreptococcus*) y 2 cocos Gram negativos (género *Veillonella*). El género anaerobio más comúnmente aislado fue *Clostridium* (16 cepas), a partir del 36% de las muestras, con representantes de las especies *C. bifementans*, *C. clostridioforme*, *C. perfringens*, *C. sporogenes* y *C. tyrobutyricum*.

En lo que respecta a las pruebas de sensibilidad a los antibióticos (Figura 1), el 90% de los bacilos Gram negativos fue resistente a la cefalotina y el 89% a la cefoxitina, cefalosporinas de primera y segunda generación, respectivamente. Otras cefalosporinas presentaron menores porcentajes de resistencia microbiana: cefuroxima (69%, 2° generación), ceftazidima 1 mg·L⁻¹ (61%, 3° generación), cefepima (10%, 4° generación) y cefotaxima, ceftazidima 8-16 mg·L⁻¹ y ceftriaxone, todas de tercera generación, con porcentajes inferiores al 10%. Altas tasas de resistencia se presentaron también ante amoxicilina, tobramicina y amoxicilina + ácido clavulánico (Figura 1). Ocho de los antimicrobianos demostraron porcentajes de resistencia de 10-40%, mientras que nueve estuvieron por debajo del 10%, dentro de los cuales solamente ceftriaxone y pefloxacina fueron efectivos contra todas las cepas analizadas. Por su parte, las tres cepas de *Staphylococcus* fueron resistentes a penicilina, cefalotina, ampicilina + sulbactam, eritromicina, clindamicina, nitrofurantoína, rifampicina, vancomicina y teicoplanina.

En las cepas anaerobias también se presentó resistencia a varios antibióticos (Figura 2); el mayor porcentaje de resistencia ocurrió ante el metronidazol, 26 a 35% según su concentración, seguido por cefotetán (26%), clindamicina (23%) y penicilina (19%). De las 16 concentraciones de antibióticos evaluadas, 6 (37.5%) fueron efectivas contra todas las cepas identificadas: amoxicilina + ácido clavulánico (16/2 mg·L⁻¹), cloranfenicol, imipenem, piperacilina, piperacilina + tazobactam y ticarcilina + ácido clavulánico.

Se presentaron casos de cepas multirresistentes tanto en bacterias aerobias como anaerobias, como se muestra en el cuadro 3. La multirresistencia del género *Staphylococcus* fue alta, ya que las

tres cepas fueron resistentes a entre 10 y 12 de los 15 antibióticos evaluados; la pefloxacina, ciprofloxacina y tetraciclina fueron los únicos antibióticos efectivos contra todas las cepas.

Discusión

Actualmente es escaso el conocimiento disponible sobre la flora bacteriana oral de monos y en particular de la especie *Saimiri oerstedii*. Investigaciones previas en Costa Rica fueron realizadas en *Alouatta palliata* (mono congo) y *Ateles geoffroyi* (mono colorado) (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004), por lo que el presente estudio permite realizar comparaciones entre la flora oral de diferentes especies de monos, así como comparaciones con la flora humana.

Se logró aislar un promedio de 4.1 cepas por muestra, sin embargo se encontró mayor cantidad de aerobios (3.2 por muestra) que de anaerobios (0.9 por muestra), a diferencia de los patrones esperados en la cavidad oral humana, donde la proporción favorece a las bacterias anaerobias. Este resultado pudo deberse a factores relacionados con las dificultades de la toma de muestras para anaerobios y el transporte de las mismas al laboratorio, ya que los anaerobios más sensibles pudieron haber perdido su viabilidad durante dicho procedimiento. Como los muestreos fueron realizados en zonas alejadas, debió transcurrir un tiempo prolongado (generalmente de 24 a 48 horas) antes de que las muestras fueran procesadas en el laboratorio. Durante el transporte los tubos en anaerobiosis debieron mantenerse a temperatura ambiente, con el objetivo de disminuir la solubilidad del oxígeno en el medio, que aumenta al bajar la temperatura; es por esto que no se transportaron en refrigeración como las muestras para aerobios. Dicha práctica pudo perjudicar la viabilidad de las especies de anaerobios con ámbitos estrechos de temperatura permisivos para el crecimiento, cercanos a las condiciones de la cavidad oral de los monos. Tales inconvenientes pudieron provocar la disminución en la recuperación de cepas de bacterias anaerobias.

El género más frecuentemente aislado fue *Enterobacter*, que está descrito como uno de los predominantes en la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato, 1995) y que fue también descrito como el más abundante en la cavidad bucal de los monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). Otras enterobacterias encontradas fueron *Serratia*, *Klebsiella* y *Citrobacter* con frecuencias de aislamiento entre el 12% y el 18%; si bien todas han sido aisladas de la cavidad bucal de los monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004), *Serratia* no se ha descrito como habitante de la flora oral humana, sino que está asociada a superficies de plantas, suelo, semillas y agua (Grimont y Grimont, 2005), lo que podría explicar su presencia en el mono tití.

El segundo género de aerobios más frecuentemente aislado fue *Burkholderia* (todas las cepas identificadas como *B. cepacia*), no descrito como habitante común de la boca humana ni encontrado en los monos congo y colorado. Esta bacteria se ha aislado de suelo, plantas, superficie de animales, rizosfera y aguas (Ramette *et al.*, 2005; Coenye y Vandamme, 2003). *Aeromonas* fue el tercer género aerobio en abundancia y aunque no se asocia a la boca humana, sí se ha informado en bajas

frecuencias en monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004) y se ha aislado principalmente de fuentes de agua y aguas negras (Martin-Carnahan y Joseph, 2005).

Los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter* estuvieron presentes, respectivamente, en el 12% y 9% de las muestras y han sido aislados de otros monos (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004), pero no se consideran flora normal de la cavidad oral humana. Ambos incluyen muchas especies ubicuas, aisladas de suelos, ríos, plantas y animales, entre otros (Palleroni, 2005; Juni, 2005).

Chryseomonas fue aislado en un 9% de las muestras y aunque su presencia en el ambiente es dudosa, este género es aparentemente saprófito o comensal de humanos y algunos animales de sangre caliente (Palleroni, 2005). Con igual frecuencia se aisló *Vibrio*, siendo todas las cepas identificadas como *V. parahaemolyticus*; esta especie se encuentra en ambientes acuáticos, pero parece estar limitada a estuarios o áreas costeras debido a su requerimiento de 1-8% de NaCl y se asocia a animales marinos (Carnahan y Andrews, 2000), por lo que su aparición en el mono podría estar asociada a hábitos alimenticios o de consumo de agua, tomando en cuenta que los sitios de muestreo están localizados cerca de zonas marítimas. Este género ha sido descrito como parte de la microbiota subgingival de la especie *Saimiri sciureus* (Beem *et al.*, 1991).

En cuanto a los cocos Gram positivos aerobios, los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* son los más frecuentes en la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato, 1995) y se han descrito en el 6% y el 2%, respectivamente, de la microbiota subgingival de otras especies de monos ardilla (Beem *et al.*, 1991), además de que *Staphylococcus* se ha aislado hasta en un 67% de los monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). En este estudio, sin embargo, se aislaron sólo tres cepas de cocos Gram positivos, pertenecientes todas al género *Staphylococcus*; los estreptococos no pudieron ser detectados probablemente debido a que son un género nutricional y fisiológicamente más exigente. Adicionalmente, se aislaron tres cepas de *Bacillus* sp., género que constituye hasta el 12% de la flora subgingival de otros monos ardilla (Beem *et al.*, 1991).

El resto de los géneros de bacilos Gram negativos, aislados con menor frecuencia, no se han descrito como pertenecientes a la cavidad oral humana. De éstos, sólo *Chromobacterium* fue aislado previamente de los monos congo y colorado, también con baja frecuencia (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). La mayoría de estos géneros se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, suelos y aguas, mientras que otros son considerados comensales de mamíferos, lo que podría explicar su aparición en el mono tití (Busse y Auling., 2005; Janda y Abbott., 2005; Mutters *et al.*, 2005; Palleroni, 2005).

Las bacterias anaerobias más usuales en la cavidad oral del hombre son *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* y *Veillonella* (Isenberg y D'Amato, 1995). De ellos *Fusobacterium* fue el más frecuentemente aislado en el mono tití, seguido por *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* y *Veillonella*. Estudios anteriores en monos informan de frecuencias que van desde el 4% al 50% para estos organismos (Beem *et al.*, 1991; Clark *et al.*, 1988; Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). *B. gingivalis* y *B. intermedius* han sido encontrados como

posibles patógenos de enfermedad periodontal, lo que podría correlacionar con el aislamiento de *Bacteroides* en *S. oerstedii* (Clark *et al.*, 1988). Debido a que no se encontraron *Actinomyces* ni *Eubacterium* siguiendo el mismo protocolo de muestreo, es posible que no estén presentes en *S. oerstedii*, aunque sí se han aislado de otros monos de Costa Rica. Con respecto a *Gemella*, su hábitat natural no ha sido completamente establecido, sin embargo su aparición en un 6% de las muestras, así como en la cavidad oral de otros monos (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004), podría sugerir que constituye parte de la flora normal del tracto respiratorio superior de estos animales. Con una frecuencia menor se aisló *Propionibacterium* (3%), género encontrado principalmente en derivados lácteos y en la piel humana (Holt *et al.*, 2000).

El género de anaerobios más frecuente fue *Clostridium* (36% de las muestras), al igual que en los monos congo y colorado (48%, Gamboa-Coronado *et al.*, 2004), aunque en otras especies de mono ardilla se señala como constituyente de sólo el 0.5% de la flora subgingival (Beem *et al.*, 1991). A pesar de que en los humanos no se consideran flora indígena oral, los clostridios son habitantes normales del suelo y todas las especies identificadas se han logrado aislar de suelos de Costa Rica con frecuencias que van del 21% al 50% (Gamboa *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 1993), lo que explica la posibilidad de que estas bacterias se ubiquen en la cavidad bucal de los monos, a partir de la ingesta de alimentos y agua contaminados con esporas de clostridios. Sin embargo, su alta frecuencia sugiere que este género podría ser verdaderamente parte de la flora normal de la boca de los monos.

Gran parte de las cepas bacterianas aisladas presentaron resistencia antimicrobiana ante varios agentes quimioterapéuticos, donde sobresale la alta resistencia de los bacilos Gram negativos aerobios y de los cocos Gram positivos. Para el primer grupo, un 90% de las cepas fue resistente a cefalotina, mientras que un 89% a cefoxitina y un 69% a cefuroxima. Este resultado es similar al obtenido para las cepas aisladas de otros monos de Costa Rica, donde la mayor resistencia dentro de las cefalosporinas se presentó para la cefalotina, aunque en menor porcentaje (63%, Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). La menor resistencia a la cefepima (12.7%) era de esperar, debido a que es una cefalosporina de cuarta generación, con el mayor espectro de actividad de las cefalosporinas disponibles actualmente (Gomis *et al.*, 1998). La cefepima es más estable y menos afin ante las beta lactamasas, por lo que el hallazgo de bacterias de la flora normal de los monos (particularmente cepas de *Enterobacter*, típicamente sensibles) (Gomis *et al.*, 1998) resistentes a esta droga es preocupante, dado que su uso es muy limitado al ambiente hospitalario.

Por su parte, el 65% de las cepas de bacilos Gram negativos presentó resistencia a amoxicilina, similar a las cepas de los monos congo y colorado (71%, Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). Dicho resultado correlaciona con el hecho de que la amoxicilina es uno de los antibióticos más empleados en el sistema de salud del país, debido a su bajo precio y su amplio espectro.

Los resultados muestran una importante resistencia de los bacilos Gram negativos ante los aminoglicósidos: tobramicina (52%), gentamicina (32%), netilmicina (28%) y amikacina (25%); la menor resistencia a la amikacina puede explicarse debido a que por diferencias estructurales, este

antibiótico no es inactivado por las enzimas intracelulares comunes que inactivan gentamicina y tobramicina (González y Spencer, 1998). A pesar de esto, la resistencia es mayor en las cepas aisladas del mono tití, si se le compara con los patrones de otros monos de Costa Rica, donde dichos antimicrobianos fueron efectivos contra todos los bacilos Gram negativos aislados (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004).

La resistencia de bacilos Gram negativos aerobios aislados de animales ha sido descrita previamente; estudios han demostrado la presencia de cepas de *Escherichia coli* en mandriles salvajes con niveles de resistencia menores que los presentados por cepas provenientes de humanos contemporáneos, pero similares a los de cepas obtenidas en la era previa a los antibióticos (Routman *et al.*, 1985). Por otro lado, se ha encontrado que bacterias entéricas aisladas de mandriles en contacto con el ser humano presentan niveles significativamente mayores de resistencia, en comparación con las cepas de mandriles sin contacto con el hombre (Rolland *et al.*, 1985); ambos hallazgos favorecen la hipótesis de que el amplio uso de antimicrobianos por parte del ser humano ha promovido la distribución de los genes de resistencia entre las bacterias.

Los cocos Gram positivos aerobios, correspondientes todos al género *Staphylococcus*, presentaron una multiresistencia importante ante los antibióticos evaluados. Las tres cepas fueron resistentes a 9 de las 15 concentraciones de antimicrobianos probadas (60%): penicilina, cefalotina, ampicilina + sulbactam, eritromicina, clindamicina, nitrofurantoína, rifampicina, vancomicina y teicoplanina. Estos resultados son alarmantes si se comparan con los obtenidos para los monos congo y colorado de Costa Rica, donde el 67% de los antibióticos fueron efectivos contra las 21 cepas de cocos Gram positivos aislados (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). La resistencia creciente a antibióticos por parte de los estafilococos se conoce desde hace varios años. La vancomicina todavía se considera como el mejor antimicrobiano disponible para el tratamiento de infecciones por estafilococos resistentes a las penicilinas que no son inhibidas por las penicilinasas; sin embargo, ya se reporta una resistencia incipiente a este fármaco por parte de los estafilococos (Nodarse, 2001), como se observa en este estudio (todas las cepas resistentes) y en caso de aumentar representaría una verdadera catástrofe en la quimioterapia.

La resistencia antibacteriana que presentaron las bacterias anaerobias fue considerablemente menor con respecto a la de las otras bacterias. El mayor porcentaje de resistencia se presentó ante metronidazole (35%), al igual que ocurrió en otros monos del país (49%, Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). Además de presentar excelente actividad ante *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* sp. y *Clostridium perfringens* (Chow, 2000), este agente es utilizado también para el tratamiento de infecciones por protozoarios, por lo que su difundida aplicación ha favorecido la aparición de cepas resistentes aisladas de animales y del ser humano (Diniz *et al.*, 2000). La resistencia se presentó en el 52.4% de los anaerobios Gram positivos y abarcó todos los géneros, mientras que la droga fue efectiva contra todos los Gram negativos; este hallazgo es similar al 3% de resistencia en Gram negativos y el 53.6% en Gram positivos encontrado por Boyanova y colaboradores (2000) en aislamientos de

muestras clínicas, pero contrasta con el 44% de resistencia presentado por Gram negativos en el caso de los monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004).

La clindamicina es un antibiótico muy útil para el tratamiento de anaerobios y su amplio uso favorece la aparición de cepas resistentes, principalmente por la alteración no enzimática del sitio de acción (Falagas y Siakavellas, 2000). Así por ejemplo, se han observado recientemente porcentajes de resistencia entre 5 y 15% para *Bacteroides fragilis* y entre 15 y 30% para otros miembros del grupo *B. fragilis*, organismos para los cuales se ha considerado típicamente este agente como una excelente opción de tratamiento (Lorber, 1995; Falagas y Siakavellas, 2000). En el presente estudio se obtuvo un 23% de resistencia a clindamicina (29% en Gram positivos y 10% en Gram negativos) y es similar al 28% mostrado por los anaerobios de otros monos de Costa Rica. Estos resultados son preocupantes, si se consideraba que de los aislamientos clínicos, menos del 10% de los Gram negativos y el 19.6% de los Gram positivos son resistentes (Engelkirk *et al.*, 1992).

De las cefalosporinas, la cefoxitina es probablemente la más efectiva (Murdoch, 1998), lo que concuerda con los hallazgos en el mono tití; sin embargo, hubo una mayor resistencia que la obtenida para las cepas de los monos congo y colorado (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). Los informes relacionados con el incremento continuo en la resistencia ante estas cefalosporinas por parte de algunos grupos de anaerobios (Behra-Mielliet *et al.*, 2003) refuerza la importancia de la búsqueda de nuevas estrategias para combatirlos.

La resistencia de los anaerobios a las penicilinas fue de 19% para la penicilina y 16% para la amoxicilina; sin embargo, como era de esperar de acuerdo con su mecanismo de acción, fue mayor en Gram negativos (30% penicilina; 20% amoxicilina) que en Gram positivos (14% para ambos antibióticos). La resistencia informada para las cepas de otros monos de Costa Rica es mayor para penicilina (31%) y menor para amoxicilina (10%) (Gamboa-Coronado *et al.*, 2004). Numerosos estudios revelan un aumento creciente en la resistencia a penicilina por parte de varios grupos de anaerobios: *Clostridium*, *Bacteroides* (Engelkirk *et al.*, 1992) y *Prevotella* (Hecht, 1999), mientras que otros como *Propionibacterium*, *Peptostreptococcus* y *Gemella* tienden a ser susceptibles (Murdoch, 1998; Hecht, 1999). En el caso de la ticarcilina se obtuvo una resistencia del 10%, mayor que la descrita para los monos congo y colorado (2%, Gamboa-Coronado *et al.*, 2004); sin embargo, la susceptibilidad aumentó hasta el 100% al probar este antibiótico conjuntamente con ácido clavulánico como inhibidor de beta lactamasas.

Dentro de todos los grupos bacterianos estudiados se presentó multiresistencia, principalmente en los bacilos Gram negativos aerobios y en los estafilococos, y en menor medida en los anaerobios. Sobresale el hecho de que un 6% de los bacilos Gram negativos aerobios fueron resistentes a 13 o más de las 24 concentraciones de antibióticos evaluadas, mientras que las tres cepas de *Staphylococcus* fueron resistentes a 10 o hasta 12 de los 15 agentes probados. En los anaerobios la resistencia múltiple es apreciablemente menor, ya que 39% de las cepas fueron sensibles a las 16 concentraciones de antimicrobianos, mientras que sólo el 26% mostró resistencia desde 3 hasta 7

agentes; sin embargo, dicho hallazgo no deja de ser alarmante, pues tradicionalmente se ha creído que la resistencia múltiple no es un problema común en anaerobios (Gamboa-Coronado *et al.* 2004).

Las sustancias antimicrobianas pueden estar presentes de manera natural en suelos, ya que constituyen un mecanismo utilizado por los microorganismos en sus hábitat naturales; la resistencia contra estos agentes juega un papel importante en la dinámica poblacional de estos ambientes (Kümmerer, 2004). Por otro lado existe la resistencia intrínseca hacia ciertos agentes, debido a la fisiología natural de algunos microorganismos (Kümmerer, 2004). Estos factores permiten concluir que no es de extrañar la presencia de ciertos niveles de resistencia en los organismos aislados de la cavidad oral de *S. oerstedii*; sin embargo, estos niveles son altos y similares a los encontrados en poblaciones humanas, lo que sugiere la influencia de una presión selectiva generada por el uso excesivo de antibióticos. Millones de kilogramos de agentes antimicrobianos son usados cada año en la profilaxis y tratamiento de personas, animales y en agricultura, favoreciendo la generación de resistencia al eliminar cepas susceptibles y seleccionar las resistentes (Levy y Marshall, 2004).

Los ambientes naturales no están libres de contaminación con antibióticos, se han encontrado en efluentes de centros médicos, aguas municipales, tanques de aireación, tanques de digestión anaerobia, aguas superficiales, sedimentos y suelo (Kümmerer, 2003 y 2004). Muchos de los compuestos utilizados en medicina son sólo parcialmente metabolizados por los pacientes y son descargados en los efluentes hospitalarios o en las aguas de desecho municipales si se utilizan en casa (Kümmerer, 2004), mismo destino que tienen muchos de los antibióticos descartados por vencimiento (Kümmerer, 2003; Hartmann *et al.*, 1999). Así, estos compuestos terminan en el ambiente, principalmente en el compartimento acuoso, donde se encuentran cada vez con mayor frecuencia (Levy y Marshall, 2004) y eventualmente podrían ingresar en la cadena alimentaria. Los antimicrobianos son también utilizados para el tratamiento de enfermedades en criaderos de peces, donde son adicionados directamente al agua (Kümmerer, 2004), mientras que otros son utilizados con fines veterinarios o como promotores de crecimiento, por lo que al ser excretados terminan siendo redistribuidos como abono (Kümmerer, 2003).

En Costa Rica actualmente los hospitales no cuentan con sistemas de tratamiento de aguas residuales y el país carece de la legislación adecuada para la regulación del uso de antibióticos en agricultura y ganadería (Tzoc *et al.*, 2002). Se cree que la exposición de las bacterias a estas concentraciones antimicrobianas subterapéuticas, incrementa la velocidad de selección de cepas resistentes (Kümmerer, 2003), lo que aunado a la transferencia de determinantes genéticos de resistencia presentes en el ambiente, podría explicar en parte los patrones de resistencia encontrados en los monos tití, aunque estos tengan poco contacto directo con el ser humano.

Este estudio contribuye al conocimiento y al mismo tiempo a la preservación del mono tití, animal en peligro de extinción, y muestra que pocas barreras son capaces de contener los genes de resistencia y sus hospederos bacterianos en nuestro mundo estrechamente relacionado.

Agradecimientos

Los autores queremos agradecer al Dr. Misael Chinchilla por su apoyo logístico en la investigación. Este trabajo fue realizado gracias al soporte económico de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Referencias

- Beem, J.E., Hurley, C.G., Magnusson, I., McArthur, W.P. and Clark, W.B. 1991. Subgingival microbiota in squirrel monkeys with naturally occurring periodontal diseases. *Infect. Immun.* 59: 4034-4041.
- Behra-Miellet, J., Calvet, L., Mory, F., Muller, C., Chomarat, M., Bézian, M.C., Bland, S., Juvenin, M.E., Fosse, T., Goldstein, F., Jaulhac, B. and Dubreuil, L. 2003. Antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacilli: lessons from a French multicentric survey. *Anaerobe* 9: 105-111.
- Bowers, L., Purcell, J., Plauché, G., Denoel, P., Lovet, Y. and Philipp, M. 2002. Assessment of the nasopharyngeal bacterial flora of rhesus macaques: *Moraxella*, *Neisseria*, *Haemophilus*, and other genera. *J. Clin. Microb.* 40: 4340-4342.
- Boyanova, L., Petrov, D., Osmanliev, D., Mitov, I., Usunova, I., Minchev, T., Goranov, E., Plochev, M. and Dimitrov, J. 2000. Anaerobic bacteriology in 75 cases of thoracic empyema in Sofia, Bulgaria. *Anaerobe* 6: 81-85.
- Busse, H.J. and Auling, G. 2005. Genus I. *Alcaligenes*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg y J.T. Staley (eds.), pp. 653-658. Springer, USA.
- Campbell, N., Clow, D., Crane, A. and MacDonald, A. 2003. "Squirrel Monkeys". In: Southern Kings Consolidated School (<http://www.edu.pe.ca/southernkings/sqmonkey.htm>).
- Carnahan, A.M and Andrews, G. 2000. *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Campylobacter* species. In: *Textbook of Diagnostic Microbiology*, 2ª edición, C.R. Mahon and G. Manuselis (ed.), pp. 515-538. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Carrillo, E; Wong, G y Sáenz, J.C. 2000. Mamíferos de Costa Rica 100 especies. Heredia. INBio. pp. 29, 122-123.
- Chow, A.W. 2000. Anaerobic infections: Management of anaerobic infections. In: *Infectious Disease, V Anaerobic Infections*, ACP Medicine Online, D.C. Dale and D.D. Federman (eds.). WebMD Inc., New York.
- CITES. 2003. "*Saimiri oerstedii*". En: Base de datos de especies de la CITES <
<http://www.cites.org/esp/resources/species.html>>

- Clark, W.B., Magnusson, I., Abee, C., Collins, B., Beem, J.E. and McArthur, W.P. 1988. Natural occurrence of black-pigmented *Bacteroides* species in the gingival crevice of the squirrel monkey. *Infect. Immun.* 56: 2392-2399.
- Coenye, T. and Vandamme, P. 2003. Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches. *Environ. Microbiol.* 5: 719-729.
- Diniz, C.G., Santos, S.G., Pestana, A.C.N.R., Farias, L.M. and Carvalho, M.A.R. 2000. Chromosomal breakage in the *B. fragilis* group induced by metronidazole treatment. *Anaerobe* 6: 149-153.
- Engelkirk, P.G., Engelkirk, J.D. and Dowell, V.R. 1992. *Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology, Susceptibility Testing*. Star Publishing Co., Belmont.
- Falagas, M.E and Siakavellas, E. 2000. *Bacteroides*, *Prevotella* and *Porphyromonas* species: a review of antibiotic resistance and therapeutic options. *Int. J. Antimicrob. Agents* 15: 1-9.
- Gamboa-Coronado, M.M.; Rodríguez-Cavallini, E.; Rojas-Contreras, G.; Sánchez-Porras, R. y Gutiérrez-Espeleta, G. 2004. Flora bacterial oral y su perfil de sensibilidad a antibióticos en monos de Costa Rica (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*). *Neotropical Primates* 12: 24-30.
- Gamboa, M.M.; Rodríguez, E. and Vargas, P. 2005. Diversity of mesophilic clostridia in Costa Rican soils. *Anaerobe* 11: 322-326.
- Gomis, M.; Barberán, J.; Ferrández, A. y Sánchez, B. 1998. Cefepima en el paciente neutropénico febril. *Rev. Esp. Quimioterap.* 11: 12-16
- González, L.S. and Spencer, J.P. 1998. Aminoglycosides: a practical review. *Am. Fam. Physician.* 58: 1811-1820.
- Grimont, F. and Grimont, P.A.D. 2005. Genus XXXIV. *Serratia*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 799-811. Springer, USA.
- Hartmann, A; Golet, E.M. and Gartiser, S. 1999. Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospitals waste waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 115-119.
- Hecht, D.W. 1999. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 7ª ed, P.R. Murray (ed.), pp. 1555-1565. ASM Press, Washington D.C.
- Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T. and Williams, S.T. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9ª edición. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland. 787 pp.
- Isenberg, H.D. and D'Amato, R.F. 1995. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 6ª edición, P.R. Murray (ed.), pp. 5-18. ASM Press, Washington, D.C.
- Janda, J.M. and Abbott, S.L. 2005. Genus XXI. *Morganella*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 707-709. Springer, USA.

- Juni, E. 2005. Genus II. *Acinetobacter*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 425-437. Springer, USA.
- Kümmerer, K. 2004. Resistance in the environment. *J. Antimic. Chemoter.* 54: 311-320.
- Kümmerer, K. 2003. Significance of antibiotics in the environment. *J. Antimic. Chemot.* 52: 5-7.
- Kümmerer, K. 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids, and disinfectants into wastewater by hospitals, in relation to other sources — a review. *Chemosphere* 45: 957-969.
- Levy, S.B. and Marshall, B. 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat. Med. Suppl.* 10: 122-129.
- Lorber, B. 1995. *Bacteroides*, *Prevotella* y *Fusobacterium* species (and other medically important anaerobic gram-negative bacilli). In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4^a ed, G.L. Mandell, J.E Bennett and R. Dolin (eds.), pp. 2195-2204. Churchill Livingstone, New York.
- Martin-Carnahan, A. and Joseph, S.W. 2005. Genus I. *Aeromonas*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 557-578. Springer, USA.
- Murdoch, D.A. 1998. Gram-positive anaerobic cocci. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 81-120.
- Mutters, R.; Christensen, H. and Bisgaard, M. 2005. Genus I. *Pasteurella*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 857-866. Springer, USA.
- Nodarse, R. 2001. Estafilococos multirresistentes: uso del disco de oxacilín como marcador de resistencia a antibióticos. *Rev. Cub. Med. Mil.* 30: 7-10.
- Palleroni, N. 2005. Genus I. *Pseudomonas*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2a edición, Vol 2, D.J. Brenner; N.R. Krieg and J.T. Staley (eds.), pp. 323-379. Springer, USA.
- Ramette, A.; LiPuma, J.J. and Tiedje, J.M. 2005. Species abundance and diversity of *Burkholderia cepacia* complex in the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 1193-1201.
- Rodríguez, E.; Gamboa, M.M. and Fernández, B. 1993. Clostridios mesófilos en suelos de la Meseta Central de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41: 365-369.
- Rolland, R. Hausfater, G.; Marshall, B. and Levy, S.B. 1985. Antibiotic-resistant bacteria in wild primates: increasing prevalence in baboons feeding on human refuse. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 791-794.
- Routman, E; Miller, R.D.; Phillips-Conroy, J. and Hartl, D.L. 1985. Antibiotic resistance and population structure in *Escherichia coli* from free-ranging african yellow baboons. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 749-754.
- Sorum, H. and Sunde, M. 2001. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet. Res.* 32: 3-4.

- Tzoc, E.; Arias, M.L. y Valiente, C. 2004. Efecto de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. *Rev. Biomed.* 15: 165-172.
- Wong, G. 1990. Uso del hábitat, estimación de la composición y densidad poblacional del mono tití (*Saimiri oerstedii citrinellus*) en la zona de Manuel Antonio. Quepos. Costa Rica. Tesis de Maestría. Universidad Nacional. Programa Regional en Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe.

Cuadro 1. Bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 33 monos tití (*Saimiri oerstedii*) de Costa Rica.

Género	Total de cepas n=100	Frecuencia de aislamiento(%) n= 33
<i>Enterobacter</i>	20	42
<i>Burkholderia</i>	19	27
<i>Aeromonas</i>	10	27
<i>Serratia</i>	8	18
<i>Klebsiella</i>	6	15
<i>Citrobacter</i>	6	12
<i>Pseudomonas</i>	4	12
<i>Acinetobacter</i>	3	9
<i>Chryseomonas</i>	3	9
<i>Vibrio</i>	3	9
<i>Brevundimonas</i>	2	6
<i>Morganella</i>	2	6
<i>Pantoea</i>	2	6
<i>Ralstonia</i>	2	6
<i>Flavimonas</i>	2	3
<i>Agrobacter</i>	1	3
<i>Alcaligenes</i>	1	3
<i>Chromobacterium</i>	1	3
<i>Kluyvera</i>	1	3
<i>Leclercia</i>	1	3
<i>Ochrobacter</i>	1	3
<i>Pasteurella</i>	1	3
<i>Stenotrophomonas</i>	1	3

Cuadro 2. Bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 33 monos tití (*Saimiri oerstedii*) de Costa Rica.

Género	Total de cepas n=31	Frecuencia de aislamiento (%) n=33
<i>Clostridium</i>	16	36
<i>Fusobacterium</i>	4	12
<i>Bacteroides</i>	2	3
<i>Gemella</i>	2	6
<i>Peptostreptococcus</i>	2	6
<i>Prevotella</i>	2	6
<i>Veillonella</i>	2	6
<i>Propionibacterium</i>	1	3

Cuadro 3. Multirresistencia de los bacilos Gram negativos y las bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 33 monos tití (*Saimiri oerstedii*) de Costa Rica.

Grupo bacteriano	Número de antibióticos	Porcentaje de cepas resistentes (%)
Bacilos Gram negativos	16-19	3
	13-15	3
	10-12	13
	7-9	21
	4-6	37
	1-3	21
	0	2
Anaerobios	5-7	16
	3-4	10
	1-2	35
	0	39

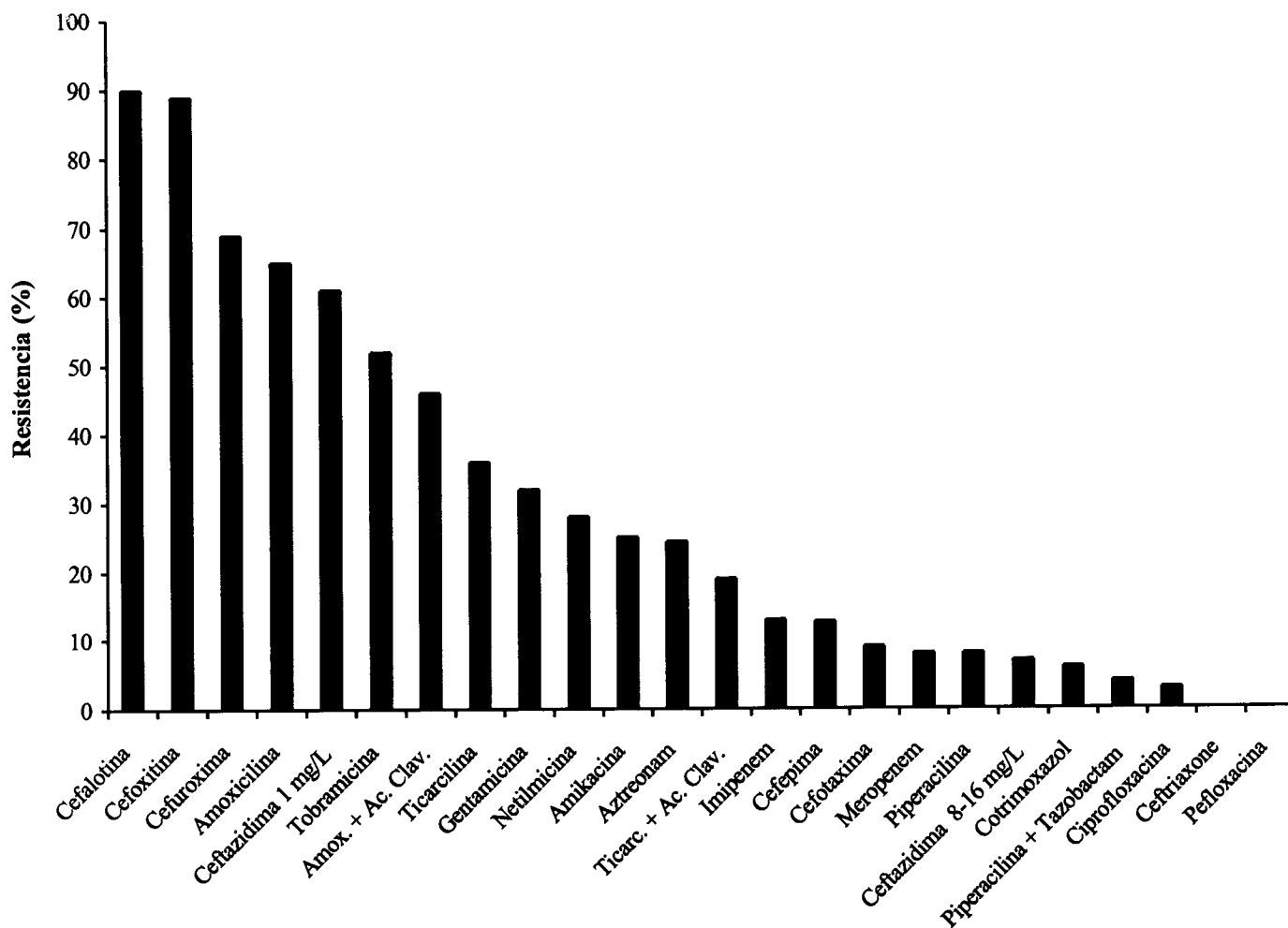


Figura 1. Resistencia antimicrobiana de 100 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 33 monos titi (*Saimiri oerstedii*) de Costa Rica.

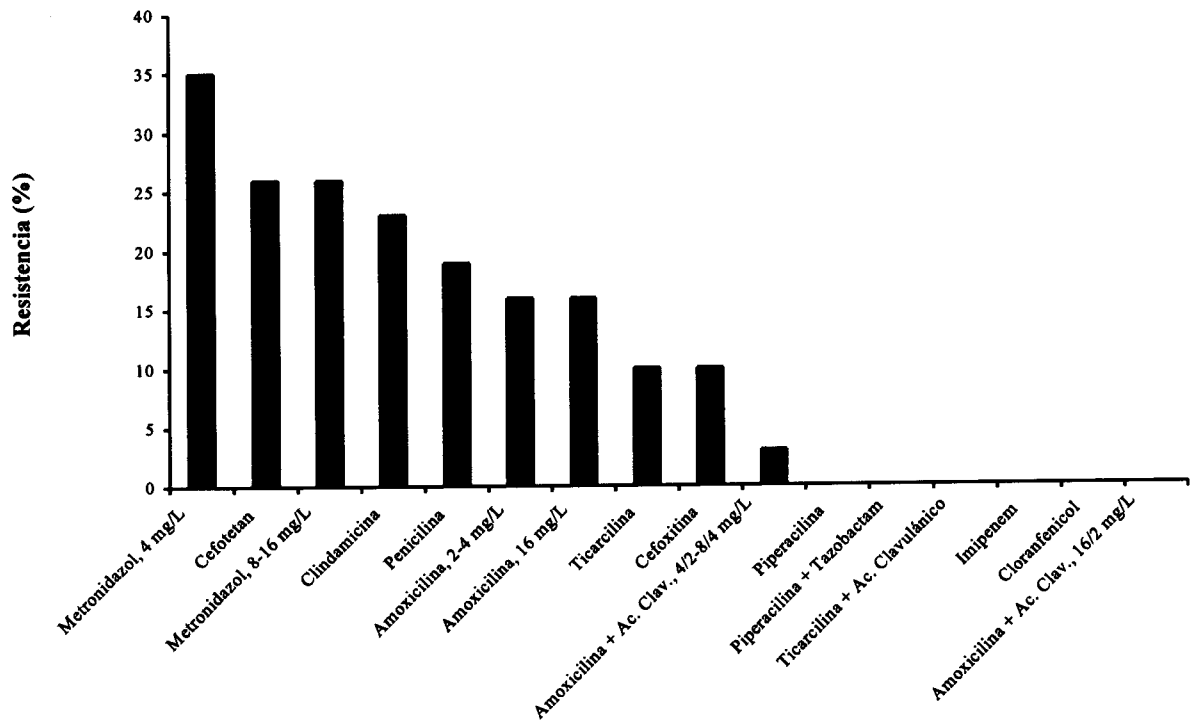


Figura 2. Resistencia antimicrobiana de 31 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 33 monos tití (*Saimiri oerstedii*) de Costa Rica.

INFORME ACERCA DE ECTOPARÁSITOS DE MONOS DE COSTA RICA

Estudios realizados y publicados

Ácaros

- 1- Se llevaron a cabo estudios preliminares en 36 monos aulladores (*Allouatta palliata*, Gray 1849) y 3 monos capuchinos (*Cebus capucinus* Linnaeus 1758). En dos de los monos aulladores fueron encontrados ácaros que correspondieron a *Listrocarpus alouattae* Fain 1972 (Astigmata: Atopomelidae).

Referencia:

Troyo, A; Solano, M; Calderón-Arguedas, O; Chinchilla, M; Sánchez, R, Gutiérrez-Espeleta, G. Fur mite, *Listrocarpus allouattae* Fain (Acari: Atopomelidae), from *Alouatta palliata* Gray (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Internat. J. Acarol.* 28: 251-255.2002.

- 2- Estudios realizados en material entomológico colectado en monos capuchinos (*Cebus capucinus* Linnaeus 1758) y monos ardilla (*Saimiri oerstedii* Reinhart 1872) de la Costa Pacífica Central permitieron la identificación de dos especies nuevas de ácaros atopomélidos las cuales fueron descritas y denominadas *Listrocarpus capucinus* sp. nov y *L. costaricensis* sp. nov.

Referencia:

Troyo, A; Solano, M & Calderón-Arguedas, O. Two new species of *Listrocarpus* Fain (Acari: Atopomelidae) from *Cebus capucinus* Linnaeus and *Saimiri oerstedii* Reinhardt (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Systematic and Applied Acarology Special Publications* 18:1-8. 2004.

Manuscrito en preparación

Listrocarpus:

Durante el período de vigencia del proyecto, se evaluaron 271 monos para la evidenciación de infestaciones por ectoparásitos. En 51 de ellos (18,8%) se identificaron ácaros de la familia Atopomelidae. Se observó una prevalencia de ácaros variable según la especie de mono, aunque cada especie de ácaro se asoció específicamente a una especie de mono. De 139 *Alouatta palliata* evaluados, 31 presentaron *Listrocarpus alouattae* (22.3% infestación). De 47

Cebus capucinus evaluados, 6 presentaron *Listrocarpus capucinus* (12.8% de infestación), de 38 *Saimiri oerstedii* evaluados, 14 presentaron *Listrocarpus costaricensis* (36.8%). En ninguno de los 52 ejemplares de *Ateles geoffroyi* se observaron ectoparásitos. Resultados detallados de estos estudios serán publicados en:

Troyo A, Solano ME, Calderón-Arguedas O, Chinchilla M, Sánchez R, Gutiérrez-Espeleta G. Prevalence of fur mites (Acari: Atopomelidae) in New World primates of Costa Rica. Manuscrito en preparación.

Miasis

- 1- Se evaluó la infestación por *Alouattamyia baeri* (Diptera: Cuterebridae) en monos aulladores *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de cinco localidades de la Costa Caribe de Costa Rica. 8 de 28 monos procedentes de localidades diferentes mostraron lesiones miásicas típicas por este díptero.

Referencia:

Calderón-Arguedas, O; Troyo, A; Solano, ME; Sánchez, R, Chinchilla, M; Gutiérrez-Espeleta, G. Infección por larvas de *Alouattamyia baeri* (Diptera: Cuterebridae) en monos aulladores, *Alouatta palliata* (Primates:Cebidae) de la Costa Caribe de Costa Rica. Neotropical Primates 12 (1): 21-24. 2004.

Atentamente:

Olger Calderón-Arguedas

Adriana Troyo

Mayra E. Solano

Búsqueda de anticuerpos contra virus Dengue y virus Influenza en monos silvestres de Costa Rica

Investigador responsable: José Bonilla (CIBCM)

Investigadores colaboradores:

Laya Hun, Cátedra Virología, Fac. Microbiología.

Gustavo Gutierrez, Cátedra Genética, Esc. Biología.

Ivannia Atmetlla, CIBCM

Fabiola Rodríguez, estudiante Maestría Microbiología.

Subproyecto de Proyecto inicial desarrollado en la Escuela de Biología por el Dr. Gutiérrez: *Variación genética del mono congo (Alouatta palliata), del mono colorado (Ateles geoffroyi), del mono tití (Saimirii oerstedii) y del mono cara blanca (Cebus capucinus) de Costa Rica:* implicaciones para la conservación de estas especies.

El objetivo general del estudio inicial era caracterizar la variación genética de las cuatro especies de primates de Costa Rica, usando loci de microsatélites (MS) y del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Objetivos específicos del proyecto inicial:

- 1- Conocer la variabilidad genética de las especies de primates de Costa Rica.
- 2- Aumentar el conocimiento sobre la distribución de las especies de Costa Rica.
- 3- Diseñar un esquema de manejo que asegure la preservación de la variación genética y la conservación de estas especies.

Este proyecto se apoya fundamentalmente en la colección de muestras que se ha logrado almacenar en la Escuela de Biología bajo la coordinación del Dr. Gutiérrez.

Para complementar los objetivos del proyecto inicial, especialmente el objetivo específico 3, se propusieron otros subproyectos que se enfocaron en el estudio clínico y microbiológico de los animals capturados.

Entre los estudios microbiológicos, ya desarrollamos anteriormente el proyecto N. 801 A2 038 “**Búsqueda de retrovirus en primates silvestres de Costa Rica**”. Con los recursos y metodología (PCR con imprimadores de amplio reconocimiento) empleados no se logró detectar ningún retrovirus en la sangre de estos monos.

Inicialmente, este proyecto pretendía detectar infecciones por Dengue e Influenza en monos silvestres, debido a los recursos limitados, a la colaboración del Dr. Michael, quien ha hecho estudios similares con Flavivirus y a que se cuenta también con experiencia y algunos reactivos para Influenza en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Microbiología.

Además de los virus originalmente propuestos (Dengue e Influenza), se logró incluir en el estudio otros virus como:

Hepatitis A y B gracias a la colaboración de la Dra. Flor Pujol, del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Hepatitis C, gracias a la colaboración de las Dras. Lizeth Taylor y Kirsten Visona del International Center for Medical Research and Training (ICMRT).

Varios otros **Flavivirus: Fiebre Amarilla (YFV), Virus del Oeste del Nilo (WNV), Virus de Encefalitis de Sant Louis (SLEV)**, gracias a la colaboración del Dr. Scott Michael del Department of Biological Sciences, Florida Gulf Coast University

Virus Polio, Influenza B, determinados también en el Laboratorio de Virología de la facultad de Microbiología UCR.

Objetivos

Optimización método serológico para Dengue	100%
Meta: Probar al menos 50 muestras	98%
Optimización método serológico para Influenza A	100%
Meta: Probar al menos 50 muestras	100%

Materiales y Métodos

Sueros de monos. Los sueros fueron extraídos por centrifugación de sangre total de las 4 especies de monos existentes en Costa Rica. Se tienen muestras de mas de 200 animales.

Nombre científico	Nombre en inglés
Saimiri oerstedii	Red-backed squirrel monkey
Cebus capuchinus	White-faced capuchin
Alouatta palliata	Mantled howler monkey
Ateles geoffroyi	Central American spider monkey

Serología.

Hepatitis A, B y C fue llevada a cabo por ELISA.

YFV, SLEV, WNV se evaluaron por Neutralización de la Infección (Microneuts).

Para Dengue se utilizó un ELISA Panbio (para los 4 tipos de virus)

Polio se evaluó con el método de neutralización del efecto citopático.

Influenza A y B se hicieron por Inhibición de la hemaglutinación

Resultados

No se han detectado sueros positivos para Hepatitis B (98 muestras) ni para Hepatitis C (30 muestras).

Las pruebas para YFV, SLEV y WNV (49 muestras) por Neutralización de la Infección (Microneuts) también resultaron negativos.

Se detectaron 2 sueros positivos para Polio (124 muestras) mediante el método de neutralización del efecto citopático.

Se detectaron 8 sueros positivos para Dengue (49 muestras) mediante el método ELISA (Panbio)

En la confirmación de los resultados de Dengue se detectaron 2 muestras positivas para YFV esta vez con el método “Plaque Reduction Neutralization Tests” (PRNTs). YFV y Dengue son virus que dan reacciones cruzadas por ser Flavivirus. Las 8 muestras serán evaluadas nuevamente.

Las pruebas para Influenza A (Influenza animal) dieron una alta positividad, de 50 sueros solo 3 resultaron negativos, el resto resultó positivo con diferentes intensidades.

Las pruebas para Influenza B, que se considera un virus que afecta mas a humanos, dieron también una alta positividad, 97 positivos de 99 probados.

La selección de la muestras ha dependido fundamentalmente de la disponibilidad de suero, que en el caso de los monos capuchinos es muy escaso. Queda por analizar el origen geográfico de los monos, de poco o mucho contacto con humanos, endemidad de enfermedades como Dengue y si las diferentes especies se asocian a diferentes virus o no.

Se prepara una publicación solo para reportar los hallazgos con Dengue, se espera publicar una mas general con los hallazgos virológicos y eventualmente participar también en las publicaciones generales del proyecto.

Resultados serológicos

<u>Virus</u>	<u># de muestras</u>	<u># de muestras positivas</u>
<u>Retrovirus (Proy anterior)</u>	<u>49</u>	<u>0</u>
<u>YFV (por Microneuts)</u>	<u>49</u>	<u>0</u>
<u>SLEV (por Microneuts)</u>	<u>49</u>	<u>0</u>
<u>WNV (por Microneuts)</u>	<u>49</u>	<u>0</u>
<u>Hepatitis B</u>	<u>58</u>	<u>0</u>
<u>Hepatitis C</u>	<u>30</u>	<u>0</u>
<u>Hepatitis A</u>	<u>58</u>	<u>2</u>
<u>Polio</u>	<u>124</u>	<u>2</u>
<u>Dengue</u>	<u>49</u>	<u>8</u>
<u>YFV (por PRNTs)</u>	<u>8</u>	<u>2*</u>
<u>Influenza A</u>	<u>50</u>	<u>47</u>
<u>Influenza B</u>	<u>99</u>	<u>97</u>

- Resultados por confirmar (possible reacción cruzada con Dengue)

Este trabajo ha permitido tener resultados preliminares interesantes, agrupar un grupo de investigadores de diferentes unidades de la UCR y atraer colaboración de investigadores extranjeros para formular otras propuestas de investigación para continuar con lose estudios

virológicos. Se han presentado propuestas a la Florida, Ice & Farm y a la Vicerrectoría de Investigación.

Durante el desarrollo de la investigación nos enfrentamos a otros problemas como:

- Atrasos en la entrega de los reactivos comprados,
- Problemas con el cultivo celular para los ensayos de Dengue
- Cambio de institución de colaborador en US (ensayos para Dengue).
- Disponibilidad de anticuerpos anti Dengue (1,2,3 y 4) en empresas distribuidoras para Costa Rica.
- La Lic. Fabiola Rodríguez, estudiante de maestría, quién se encargaría de llevar a cabo el estudio de Influenza, renunció a la Universidad.

Sin embargo, se cumplió con los objetivos propuestos y se lograron otros objetivos adicionales.

Informe final de actividades realizadas en el Departamento de Análisis Clínicos para proyecto de Investigación

Titulo del proyecto

Determinación de agentes infecciosos en simios de Costa Rica de los géneros *Alouatta*, *Ateles*, *Cebus*, etc.

Código del proyecto: 803-A1-745

Investigadores participantes como asociados:

1. Karl Schosinsky Nevermann, Ph.D. cédula: 1304092
2. Manuel Jiménez Díaz, Ph.D. cédula 1584289

En la actualidad, los compuestos organofosforados y carbamatos son los pesticidas más ampliamente usados en control de plagas tanto a nivel agrícola como doméstico (Marquis, 1986). El principal modo de acción de estos compuestos es la inhibición de las colinesterasas y por lo tanto causan la muerte por sobreestimulación colinérgica (Marquis, 1986). La determinación de las actividades de las colinesterasas es de utilidad para evaluar la exposición a organofosforados o carbamatos. La determinación de colinesterasas en sangre es relativamente fácil de realizar y correlaciona con los niveles de esta enzima en tejido nervioso.

Aunque los organofosforados y carbamatos se degradan en forma más rápida que los organoclorados, se han reportado intoxicaciones de animales salvajes después de la aplicación de estos pesticidas; asimismo pueden ocasionar disminuciones importantes en la actividad enzimática por exposición constante a ellos (White et al., 1979; Zinkl et al., 1979; Henny et al., 1985).

Se realizaron las determinaciones de colinesterasas en los monos para evaluar en que medida los mismos están expuestos a estos compuestos inhibidores de tales enzimas y para poder iniciar con la determinación de los valores de referencia de colinesterasas en las distintas especies de primates en Costa Rica.

Actividades realizadas:

Durante la duración del proyecto en el Departamento de Análisis Clínicos de la Facultad de Microbiología se recibieron un total de 200 muestras de sangre de monos, divididas en 97 sangres de *Alouatta palliata* (congo), 28 de *Saimiri oerstedii* (tití), 37 de *Ateles geoffroyi* (mono araña o colorado) y 38 de *Cebus capucinus* (carablanca o capuchino).

A todas las muestras se le realizaron análisis de colinesterasas (plasmática y eritrocítica) y hemoglobina para corrección de la colinesterasa eritrocítica; además a algunas de ellas, cuando el volumen de muestra y el grado de hemólisis lo permitieron se les hicieron otras determinaciones bioquímicas (proteínas totales, albúmina, colesterol, triglicéridos, urea y creatinina).

Procedimientos para la determinaciones de las colinesterasas:

Para la determinación de ambos tipos de colinesterasas se emplearon reactivos de la casa Biotec Int.

Colinesterasa sérica: mezclar 5 uL de plasma en 1,0 ml de reactivo de color, agregar 50 uL de sustrato y obtener el cambio de Abs/minuto a una longitud de onda de 450 nm. Para calcular la actividad enzimática de la colinesterasa plasmática, multiplicar el promedio del Abs/min por 29500.

Colinesterasa eritrocítica: colocar 2,5 uL de sangre total en 1 ml de reactivo de color, agregar 50 uL de sustrato y obtener el cambio de absorbancia por minuto a una longitud de onda de 460 nm. Para calcular la actividad enzimática de la colinesterasa eritrocítica, multiplicar el promedio del Abs/min por 82600.

Otras determinaciones bioquímicas se realizaron en el analizador automatizado ACE de la casa Alfa-Wasserman.

Las comparaciones estadísticas se realizaron empleando la prueba de Mann Whitney para comparación de medianas (prueba no paramétrica).

Resultados:

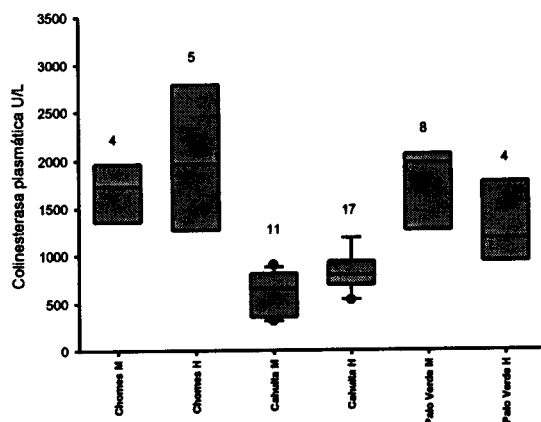
1. Resultados con muestras de monos *A. palliata* (congo)

En total se recibieron en condiciones adecuadas de procesamiento 97 muestras de monos congo; de estas 54 fueron de machos y 43 hembras de diferentes zonas del país.

1a. Comparación de valores colinesterasa plasmática en machos y hembras:

Con el fin de determinar si se observan diferencias significativas en los valores de colinesterasa plasmática entre machos y hembras, en la figura 1 se presenta la comparación realizada entre los valores de colinesterasa plasmática en machos y hembras de monos *A. palliata*.

Figura 1. Comparación valores colinesterasa plasmática machos y hembras de *A. palliata*.



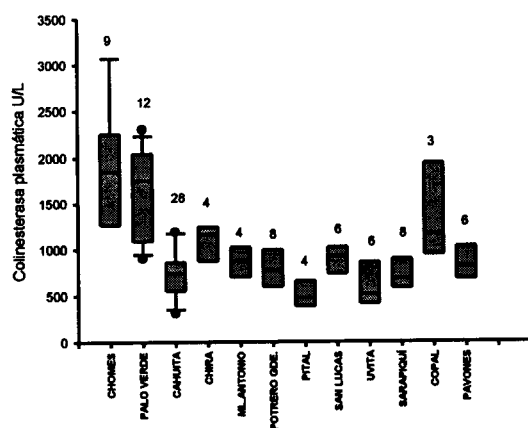
En este caso únicamente se toman en cuenta los tres sitios para los cuales se obtuvo el mayor número de individuos (Chomes, Cahuita y Palo Verde). En el caso de Chomes y Palo Verde, no se observa diferencia significativa entre machos y hembras ($p = 0,730$ y $0,073$ respectivamente), por lo que se pueden agrupar. En el caso de Cahuita los machos tienden a presentar valores ligeramente más bajos ($p = 0,039$), que las hembras. Asimismo los valores de los machos y hembras de Cahuita son significativamente más bajos que los de los otros dos sitios.

b. Valores de colinesterasa plasmática en los diferentes sitios:

En la figura 2 se presentan los valores de colinesterasa plasmática observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

No tuvimos acceso a datos de colinesterasas en monos salvajes o cautivos para poder hacer una comparación, sin embargo, sabemos que los niveles de colinesterasa plasmática en humanos se encuentran entre 4000 y 10500 U/L y sus niveles decrecen por malnutrición, problemas hepáticos severos y por exposición a plaguicidas inhibidores de las mismas (organofosforados y carbamatos). De manera que es lógico pensar que los valores más altos son los más indicativos de los niveles de referencia.

Figura 2. Valores de colinesterasa plasmática en monos *A. palliata*



Es así como los valores observados en Chomes serían los más representativos de los valores esperados en monos *A. palliata*: el valor mínimo observado en este grupo fue de 1266 U/L y el máximo fue de 3072 U/L; el promedio fue de 1868 U/L con una desviación estándar fue de 615 U/L.

Los valores de los demás sitios fueron significativamente inferiores indicando que en estos lugares, por alguna razón las poblaciones de monos están presentando valores de colinesterasa plasmática más bajos que en los tres sitios ya mencionados. Es importante llamar la atención de los resultados de Cahuita y Pital, en los cuales se observan valores sumamente bajos.

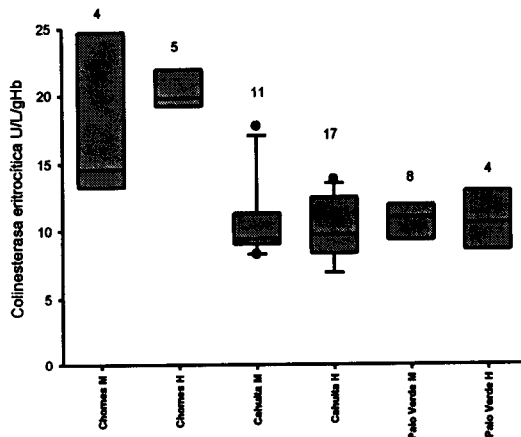
En Cahuita de los 28 monos, únicamente 5 (18%) presentaron valores iguales o superiores a 900 U/L, mientras que el 82 % (23) presentaron actividades de colinesterasa plasmática menores a este valor; el promedio en este grupo fue de 737 U/L y la desviación estándar de 235 U/L.

En Pital los cuatro individuos presentaron valores menores a 900 U/L (378, 408, 550 y 699 U/L).

c. Valores de colinesterasa eritrocítica en machos y hembras de *A. palliata*

Con el fin de determinar si se observan diferencias significativas en los valores de colinesterasa eritrocítica entre machos y hembras, en la figura 3 se presenta la comparación realizada entre los valores de dicha colinesterasa en machos y hembras de monos *A. palliata*.

Figura 3. Comparación valores colinesterasa eritrocítica machos y hembras de *A. palliata*.



De nuevo, en este caso únicamente se toman en cuenta los tres sitios para los cuales se obtuvo el mayor número de individuos (Chomes, Cahuita y Palo Verde). Al comparar las medianas de los resultados obtenidos para machos y hembras no se observa diferencia significativa (0,285 para Chomes, 0,730 para Cahuita y 0,683 para Palo Verde), por lo que se pueden agrupar los datos de colinesterasa eritrocítica sin importar el sexo.

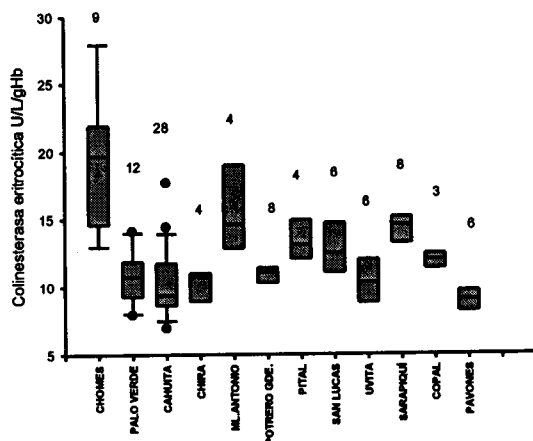
En este caso se observa que los valores de los monos de Cahuita y Palo Verde son significativamente más bajos que los de Chomes ($p < 0,0001$).

d. Valores de colinesterasa eritrocítica en los diferentes sitios:

En la figura 4 se presentan los valores de colinesterasa eritrocítica observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

Como en el caso de colinesterasa plasmática, no se tuvo acceso a datos de colinesterasas en monos salvajes o cautivos para poder hacer una comparación, sin embargo, sabemos que los niveles de colinesterasa eritrocítica en humanos se encuentran entre 27 y 42 U/gHb y sus niveles disminuyen básicamente por exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. Por esta razón es de esperar que los valores más altos son los más indicativos de los niveles de referencia

Figura 4. Valores de colinesterasa eritrocítica corregida por Hb en monos *A. palliata*



De nuevo siguiendo este razonamiento se considera que los valores observados en Chomes serían los más representativos de los valores esperados en monos *A. palliata*: el valor mínimo observado en este grupo fue de 13,0 U/gHb y el máximo fue de 27,9 U/gHb ; el promedio fue de 19,1 U/gHb con una desviación estándar de 4,65 U/gHb.

Al comparar las medianas de los demás sitios con Chomes, se observó que únicamente los valores de Manuel Antonio (4 individuos) no son significativamente más bajos ($p = 0,261$), en todos los otros lugares se obtuvieron valores significativamente más bajos que en Chomes; indicando que en estos lugares, por alguna razón las poblaciones de monos están presentando también valores de colinesterasa eritrocítica más bajos que en Chomes y Manuel Antonio. De nuevo sobresale Cahuita con valores sumamente bajos y en este caso también Pavones.

En Cahuita de los 28 monos, únicamente 4 (14%) presentaron valores iguales o superiores a 13 U/gHb, mientras que el 86 % (25) presentaron actividades de colinesterasa plasmática menores a este valor; el promedio en este grupo fue de 10,3 U/gHb y la desviación estándar de 2,5 U/gHb.

En Pavones los seis individuos presentaron valores menores a 13 U/gHb (entre 7,9 y 10,7 U/gHb).

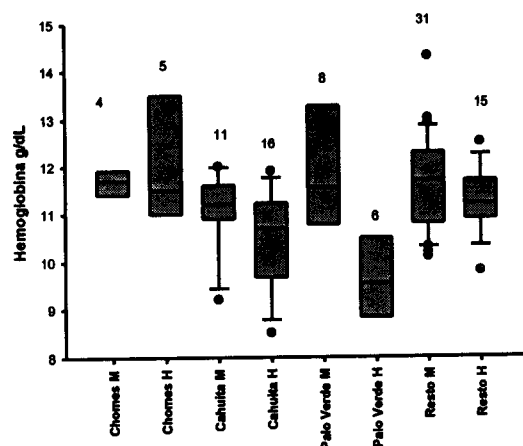
e. Valores de hemoglobina en monos *A.palliata*.

En la figura 5 se presentan una comparación de los valores de hemoglobina observados en machos y hembras de monos congo.

Puede observarse que los valores de hemoglobina en hembras tienden a ser más bajos que en machos. En el caso de Chomes y Cahuita la diferencia entre sexos no es significativa ($p = 0,902$ y $0,061$ respectivamente). Sin embargo en Palo Verde la diferencia si es significativa ($p = 0,017$). Los resultados de las muestras de los otros sitios se agruparon ("Resto") y aunque se observa de nuevo la tendencia de los valores a ser ligeramente menores en las hembras, la diferencia no es significativa ($p = 0,197$).

No se observaron diferencias significativas entre los machos de los diferentes sitios ($p > 0,05$), sin embargo los valores observados en las hembras en Cahuita y Palo Verde son significativamente más bajos que los de Chomes y los del resto.

Figura 5. Valores de hemoglobina en machos y hembras de *A. palliata*.



Al agrupar los valores de todos los machos (n = 54); se observó un valor mínimo de 9,2 y uno máximo de 14,5 g/dL, la mediana fue de 11,45 g/dL y una media geométrica de 11,54 g/dL; en este grupo el promedio fue de 11,58 y la desviación estándar de 1,0 g/dL; para los machos se puede decir que los valores de referencia van de 9,7 a 14,4 g/dL (percentiles 2,5 y 97,5).

Al agrupar los valores de las hembras del "Resto" y Chomes (dejando por fuera a Cahuita y Palo Verde), se obtuvieron 20 datos; en este grupo se observó un valor mínimo de 9,8 y uno máximo de 13,9 g/dL, la mediana fue de 11,25 g/dL y una media geométrica de 11,43 g/dL; en este grupo el promedio fue de 11,47 y la desviación estándar de 0,91 g/dL; para las hembras; con estos pocos datos; se puede decir que los valores de referencia van de 9,8 a 13,9 g/dL (percentiles 2,5 y 97,5), es decir similares a los de los machos.

El grupo de hembras de Cahuita presentó valores entre 8,5 y 11,9 para un promedio de 10,4 y una desviación estándar de 1,01 g/dL.

En el caso de Palo Verde el grupo de 6 hembras tuvo valores entre 8,7 y 10,7 g/dL; el promedio fue de 9,6 y la desviación estándar de 0,87 g/dL.

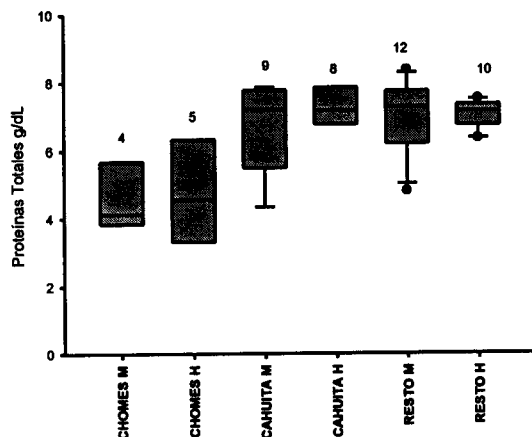
Cabe señalar que una hembra de Manuel Antonio presentó un valor de hemoglobina de 7,7 g/dL; claramente muy por debajo de lo observado en otras hembras por lo que no se incluyó en las comparaciones.

e. Valores de proteínas totales en monos *A.palliata*.

A 48 muestras de monos congo se les pudo realizar el análisis de proteínas totales, 25 fueron de machos y 23 de hembras. En la figura 6 se presentan una comparación de los valores de proteínas totales observados en este grupo de monos.

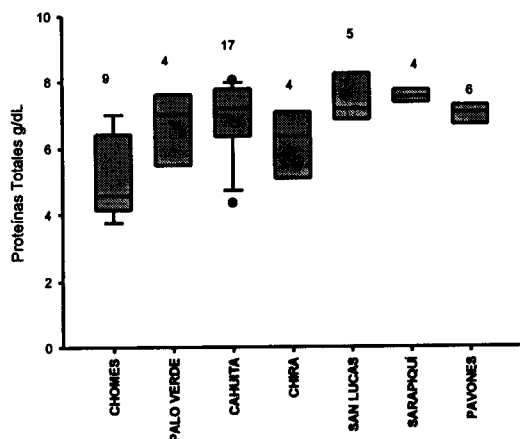
Puede observarse que los valores de proteínas totales en machos y hembras son similares, no encontrándose diferencia significativa entre sexos en las diferentes zonas, por lo que se pueden agrupar los valores.

Figura 6. Comparación valores de proteínas totales en machos y hembras de monos congo.



En la figura 7 se muestra el comportamiento de los resultados de proteínas totales en las diferentes zonas.

Figura 7. Valores de proteínas totales en monos congo en las diferentes zonas



En este caso se puede observar que únicamente los monos de Chomes presentan valores ligeramente inferiores a los de las otras zonas.

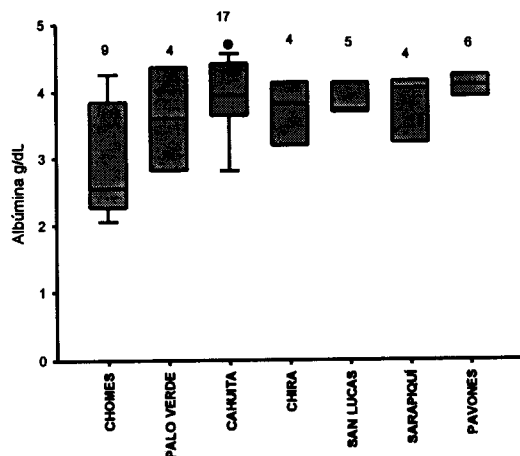
El agrupamiento de los valores de las zonas restantes produjo un grupo de 39 datos; el valor mínimo observado fue de 4,8 g/dL y el máximo de 8,4 g/dL; la mediana fue de 7,2 g/dL y una media geométrica de 7,0 g/dL; en este grupo el promedio fue de 7,04 y la desviación estándar de 0,80 g/dL. Con estos datos, los valores de referencia van de 4,8 a 8,3 g/dL (percentiles 2,5 y 97,5).

Por otra parte, los valores de los monos de Chomes son significativamente más bajos ($p < 0,0001$) que los del resto. En este grupo ($n=9$) el valor mínimo fue de 3,3 y el máximo de 6,7 g/dL, con un promedio de 4,7 y una desviación estándar de 1,3 g/dL.

f. Valores de albúmina en monos *A. palliata*.

A las mismas 48 muestras de monos congo se les realizó el análisis de albúmina sérica. Como en el caso de las proteínas totales se observó que los valores de albúmina en machos y hembras son similares, no encontrándose diferencia significativa entre sexos en las diferentes zonas, por lo que se pueden agrupar. En la figura 8 se presenta una comparación de los valores de albúmina observados en este grupo de monos en las diferentes zonas.

Figura 8. Valores de albúmina en monos congo en las diferentes zonas



También en este caso únicamente los monos de Chomes presentan valores ligeramente inferiores a los de las otras zonas.

El agrupamiento de los valores de las zonas restantes produjo un grupo de 39 datos; el valor mínimo observado fue de 2,8 g/dL y el máximo de 5,05 g/dL; la mediana fue de 4,0 g/dL y una media geométrica de 3,90 g/dL; en este grupo el promedio fue de 3,9 y la desviación estándar de 0,52 g/dL. Con estos datos, los valores de referencia van de 2,8 a 5,0 g/dL (percentiles 2,5 y 97,5).

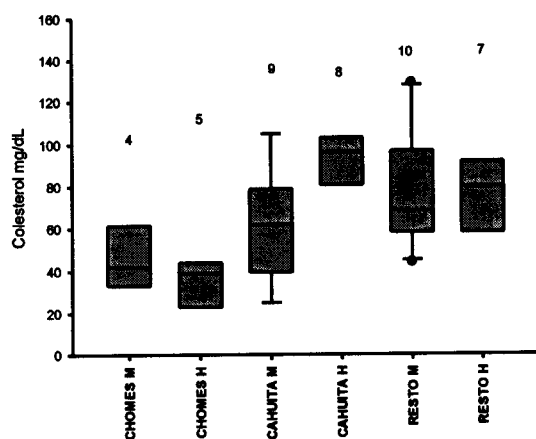
Por otra parte, los valores de los monos de Chomes son significativamente más bajos ($p= 0,004$) que los del resto. En este grupo ($n=9$) el valor mínimo fue de 2,0 y el máximo de 4,2 g/dL, con un promedio de 2,9 y una desviación estándar de 0,83 g/dL.

g. Valores de Colesterol en monos congo.

A 52 muestras de monos congo se les realizó el análisis de colesterol total; 29 fueron de machos y 23 de hembras. En la figura 9 se presentan una comparación de los valores de colesterol observados en machos y hembras de este grupo de monos.

Puede notarse que los valores de colesterol en machos y hembras son similares, no encontrándose diferencia significativa entre sexos en la mayoría de las diferentes zonas, por lo que se pueden agrupar los valores de ambos sexos. En Cahuita los valores de colesterol de las hembras son ligeramente más alto que los de los machos ($p = 0,0274$), sin embargo son similares a los de otras zonas. Además, en Chomes los valores de colesterol son más bajos que en el resto de zonas; tanto en machos como hembras.

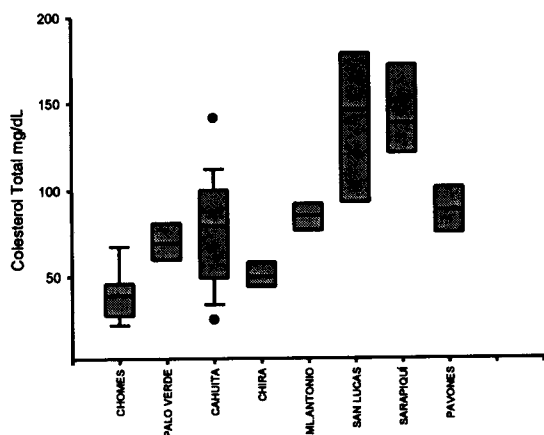
Figura 9. Comparación valores de Colesterol en machos y hembras de monos congo.



En la figura 10 se presenta una comparación de los valores de colesterol observados en este grupo de monos en las diferentes zonas.

Aparte de Chomes que presenta los valores más bajos, llaman la atención los valores de los monos de Sarapiquí y San Lucas por ser significativamente más elevados que el resto de zonas.

Figura 10. Valores de colesterol total en monos *A. palliata* de las diferentes zonas.



Al agrupar los valores de las zonas con valores semejantes, se obtuvo un grupo de 34 datos; el valor mínimo observado fue de 36 mg/dL y el máximo de 141 mg/dL; la mediana fue de 79 mg/dL y una media geométrica de 74 mg/dL; en este grupo el promedio fue de 77 y la desviación estándar de 24 mg/dL. Con estos datos, los percentiles 2,5 y 97,5 corresponden a 36 y 141 mg/dL.

Por su parte, los valores de los monos de Chomes son significativamente más bajos ($p=0,0003$) que los del resto. En este grupo ($n=9$) el valor mínimo fue de 22 y el máximo de 67 mg/dL, con un promedio de 39 y una desviación estándar de 14 mg/dL.

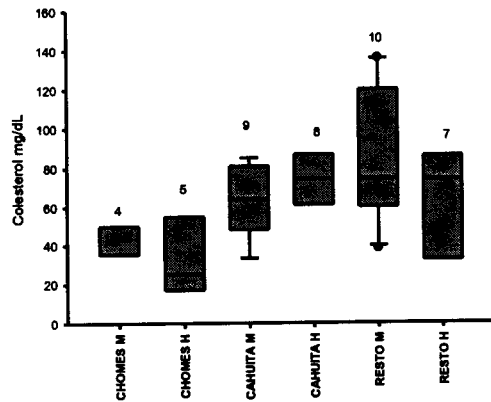
Por otro lado, los valores observados en monos de de San Lucas y Sarapiquí no presentan diferencia significativa entre sí, pero son estadísticamente más altos que los del resto de zonas ($p < 0,0001$). En este grupo de valores ($n = 10$) el valor mínimo y el máximo corresponden a 106 y 219 mg/dL respectivamente; el promedio fue de 146 y la desviación estándar de 35 mg/dL.

g. Valores de triglicéridos en monos congo.

A 52 muestras de monos congo se les realizó el análisis de triglicéridos; 29 fueron de machos y 23 de hembras. En la figura 9 se presentan una comparación de los valores de triglicéridos observados en machos y hembras de este grupo de monos.

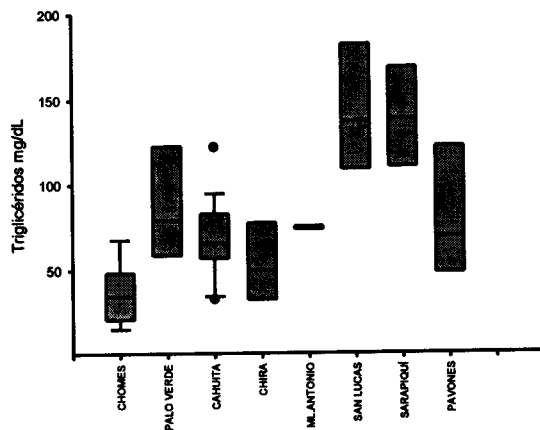
Puede notarse que los valores de triglicéridos en machos y hembras son similares, no encontrándose diferencia significativa entre sexos por lo que se pueden agrupar los valores de ambos sexos. Como en el caso del colesterol se observa que en Chomes los valores de triglicéridos son más bajos que en otras zonas, aunque únicamente los valores de las hembras son significativamente más bajos que los de otras zonas ($p = 0,048$).

Figura 11. Comparación valores de triglicéridos en machos y hembras de monos congo.



En la figura 12 se presenta una comparación de los valores de triglicéridos observados en las diferentes zonas y se nota un comportamiento similar al del colesterol. Chomes presenta los valores más bajos, y de nuevo los valores de triglicéridos de los monos de Sarapiquí y San Lucas son significativamente más elevados que el resto de zonas.

Figura 12. Valores de triglicéridos en monos *A. palliata* de las diferentes zonas.



Al agrupar los monos de las zonas con valores semejantes, se obtuvo un grupo de 34 datos; el valor mínimo observado fue de 31 mg/dL y el máximo de 136 mg/dL; la mediana fue de 71 mg/dL y una media geométrica de 68 mg/dL; en este grupo el promedio fue de 73 y la desviación estándar de 28 mg/dL. Con estos datos, los percentiles 2,5 y 97,5 corresponden a 31 y 136 mg/dL.

Por su parte, los valores de los monos de Chomes son significativamente más bajos ($p= 0,0009$) que los del resto. En este grupo ($n=9$) el valor mínimo fue de 16 y el máximo de 68 mg/dL, con un promedio de 36 y una desviación estándar de 17 mg/dL.

Por otro lado, los valores observados en monos de de San Lucas y Sarapiquí en forma similar al colesterol, no presentan diferencia significativa entre sí, pero son estadísticamente más altos que los del resto de zonas ($p < 0,0001$). En este grupo de valores ($n = 10$) el valor mínimo y el máximo corresponden a 106

y 219 mg/dL respectivamente; el promedio fue de 144 y la desviación estándar de 36 mg/dL

h. Valores de creatinina sérica en monos congo.

Comparación de valores creatinina sérica en machos y hembras:

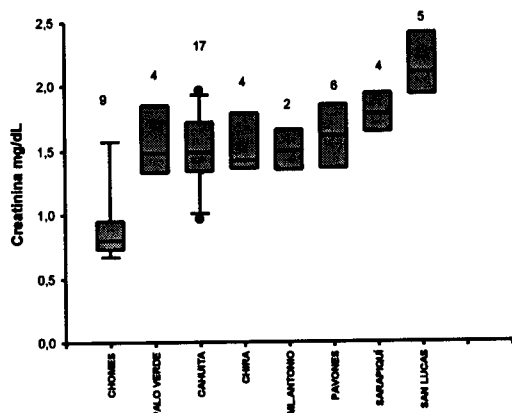
Al comparar los valores observados entre machos y hembras, para determinar si se presentan diferencias significativas en los valores entre ambos sexos no se observó ninguna diferencia por lo que se pueden agrupar.

Valores de creatinina sérica en las diferentes zonas:

En la figura 13 se presentan los valores de creatinina sérica observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

En este caso, se observa que en los valores de la mayoría de las diferentes zonas son semejantes, con excepción de los valores de los monos de Chomes, los cuales tienen valores significativamente ($p < 0,0001$) más bajos y los de San Lucas cuyos valores son significativamente más altos ($p = 0,0009$) que los de otras zonas del país.

Figura 13. Valores de creatinina sérica en monos *A. palliata* de las diferentes zonas.



Al agrupar los monos de las zonas con valores semejantes, se obtuvo un grupo de 35 datos; el valor mínimo observado fue de 0,96 mg/dL y el máximo de 1,97 mg/dL; la mediana fue de 1,5 mg/dL y una media geométrica de 1,53 mg/dL; en este grupo el promedio fue de 1,56 y la desviación estándar de 0,28 mg/dL. Con estos datos, los percentiles 2,5 y 97,5 corresponden a 0,96 y 1,97 mg/dL.

Por su parte, los valores de los monos de Chomes ($n=9$) mostraron un valor mínimo de 0,67 y el máximo de 1,56 mg/dL, con un promedio de 0,90 y una desviación estándar de 0,27 mg/dL.

Mientras que los valores de San Lucas variaron entre 1,9 y 2,4 mg/dL, con un promedio de 2,2 y una desviación estándar de 0,25 mg/dL.

i. Valores de urea sérica en monos congo.

Comparación de valores urea sérica en machos y hembras:

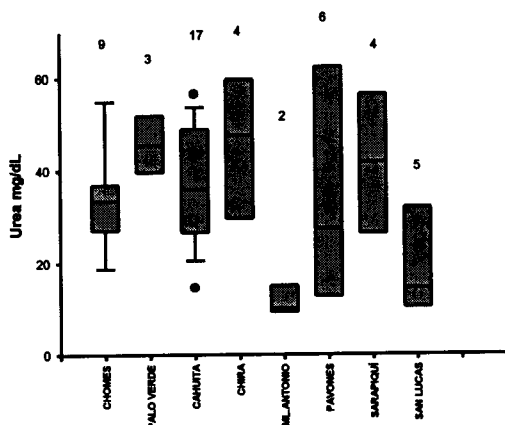
Al comparar los valores observados entre machos y hembras, para determinar si se presentan diferencias significativas en los valores entre ambos sexos no se observó ninguna diferencia por lo que de nuevo se pueden agrupar.

j. Valores de urea sérica en las diferentes zonas:

En la figura 14 se presentan los valores de urea sérica observados en los monos congo, de diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

En este caso, se observa un comportamiento similar a los valores de creatinina, ya que en los valores de la mayoría de las diferentes zonas son semejantes, con la excepción de los valores de los monos de San Lucas, los cuales tienen valores significativamente más bajos que el resto ($p = 0,0208$) y de dos monos de Manuel Antonio que también presentaron valores más bajos que los de otras zonas del país.

Figura 14. Valores de urea sérica en monos *A. palliata* de las diferentes zonas.



Al agrupar los monos de las zonas con valores semejantes, se obtuvo un grupo de 43 datos; el valor mínimo observado fue de 10 mg/dL y el máximo de 71 mg/dL; la mediana fue de 37 mg/dL y una media geométrica de 35 mg/dL; en este grupo el promedio fue de 38 y la desviación estándar de 15 mg/dL. Con estos datos, los percentiles 2,5 y 97,5 corresponden a 10 y 68 mg/dL.

Por su parte, los valores de los monos de San Lucas ($n=5$) fueron: 10; 11; 15; 16 y 48 mg/dL. Mientras que los valores de Manuel Antonio fueron de 10 y 11 mg/dL.

2 Resultados con muestras de monos *Cebus capucinus* (carablanco)

En total se recibieron en condiciones adecuadas de procesamiento 38 muestras de monos capuchino; de estas 28 fueron de machos y 10 hembras de diferentes zonas del país, la mayoría (20) de Manuel Antonio.

2a. Comparación de valores colinesterasa plasmática en machos y hembras:

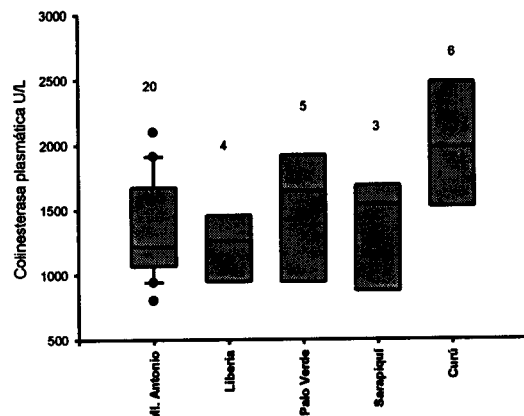
Al comparar los valores observados entre machos y hembras, para determinar si se presentan diferencias significativas en los valores de colinesterasa plasmática entre sexos no se observó ninguna diferencia por lo que se pueden agrupar.

2 b. Valores de colinesterasa plasmática en los diferentes sitios:

En la figura 15 se presentan los valores de colinesterasa plasmática observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

En el caso de los monos *Cebus*, se observa que en los valores de las diferentes zonas son semejantes, con excepción de los valores de los monos de Curú, los cuales tienen valores significativamente ($p = 0,0087$) más altos que los de otras zonas del país.

Figura 15. Comparación valores colinesterasa plasmática en monos *Cebus capucinus* de diferentes zonas.



De nuevo se pensaría que los valores observados en Curú al ser los más altos serían los más representativos de los valores esperados en monos *C. capucinus*: el valor mínimo observado en este grupo ($n=6$) fue de 1374 U/L y el máximo fue de 2640 U/L; el promedio fue de 2000 U/L con una desviación estándar fue de 491 U/L.

Los valores de los demás sitios fueron significativamente inferiores indicando que en estos lugares, las poblaciones de monos están presentando valores de colinesterasa plasmática más bajos de lo esperado.

En Manuel Antonio de los 20 monos, 11 (55 %) presentaron valores menores a 1374 U/L, mientras que el 45 % (9) presentaron actividades de colinesterasa plasmática superiores a este valor; el promedio en este grupo fue de 1348 U/L y la desviación estándar de 373 U/L.

En Liberia el promedio fue de 1221 U/L; en Palo Verde de 1477 U/L y en Sarapiquí se obtuvo un promedio de 1371 U/L.

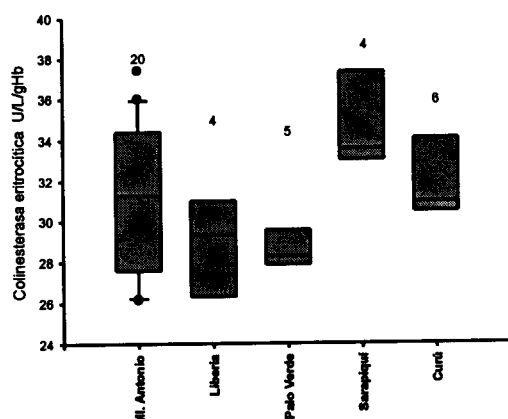
Los valores agrupados de estos cuatro lugares presentan un valor mínimo de 803 y máximo de 2067 U/L; una mediana de 1305 U/L; un promedio de 1355 U/L y una desviación estándar de 377 U/L.

2c. Valores de colinesterasa eritrocítica en *C. capucinus*

Se compararon los valores de machos y hembras de monos carablanca y no se observaron diferencias significativas por lo que se agruparon los valores de ambos sexos.

En la figura 16 se muestra la comparación de valores observados en las diferentes zonas de las cuales se recibieron muestras. Las dos zonas de valores más altos fueron Curú y Sarapiquí, al agrupar los datos ($n = 9$) de estas zonas se obtuvo un valor mínimo de 30 U/gHb y un máximo de 39 U/gHb. La mediana de este grupo fue de 32,6 U/gHb; la media geométrica de 33 U/gHb. El promedio fue de 33,1 y la desviación estándar de 3,0 U/gHb.

Figura 16. Comparación valores colinesterasa eritrocítica en monos *Cebus capucinus* de diferentes zonas.



Los valores observados en Palo Verde son significativamente más bajos que los de Curú y Sarapiquí ($p = 0,002$); en esta zona el mínimo fue de 27,6 U/gHb y el máximo de 30,2 U/gHb. El promedio fue de 28,6 y la desviación estándar de 1,0 U/gHb.

Por su parte en Liberia, aunque la diferencia no es significativa en relación a Curú y Sarapiquí ($p = 0,0503$); se observaron datos también bajos; los valores variaron entre 25,7 y 31,2 U/gHb, con un promedio de 28,9 y una desviación estándar de 2,5 U/gHb.

En Manuel Antonio aunque la diferencia no es significativa en relación a Curú y Sarapiquí, se observaron 8 (40 %) valores por debajo de 30 U/gHb. En este grupo la actividad de colinesterasa eritrocítica varió entre 26 y 37 U/gHb con un promedio de 31,2 con una desviación estándar de 3,7 U/gHb.

2d. Otros análisis bioquímicos en monos *Cebus*.

Se realizó el análisis de hemoglobina en los 38 monos, no se observó diferencia significativa entre sexos, ni tampoco entre las diferentes zonas. En el grupo de valores el mínimo fue de 10,1 y el máximo de 15,7 g/dL; la mediana fue de 13 g/dL, la media geométrica fue de 12,8 g/dL; el promedio del grupo fue de 12,9 y la desviación estándar de 1,7 g/dL.

De las muestras recibidas únicamente a cinco se les pudo realizar otros tipos de análisis. Las cinco muestras fueron de monos de Curú, las cuales presentaron valores de:

- proteínas totales entre 7,8 y 11,3 g/dL (promedio 8,9 y desviación estándar de 1,5 g/dL)
- albúmina entre 3,5 y 4,9 g/dL (promedio 4,2 y desviación estándar de 0,62 g/dL)
- colesterol entre 173 y 229 mg/dL (promedio 198 y desviación estándar de 23 mg/dL)
- triglicéridos entre 34 y 95 mg/dL (promedio 55 y desviación estándar de 24 mg/dL)
- creatinina sérica entre 0,89 y 1,25 mg/dL (promedio 1,0 y desviación estándar de 0,14 mg/dL)
- urea sérica entre 23 y 35 mg/dL (promedio 26,5 y desviación estándar de 5 mg/dL).

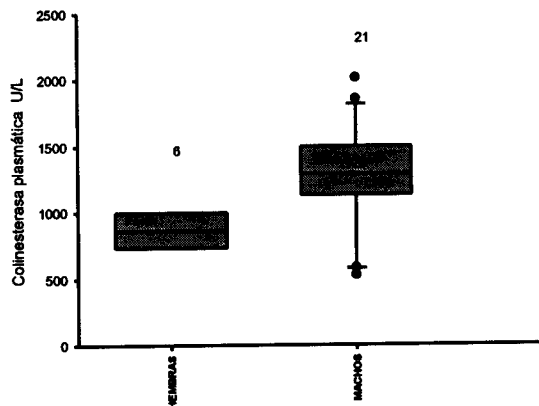
3 Resultados con muestras de monos *Saimiri oerstedii* (titi)

En total se recibieron en condiciones adecuadas de procesamiento 27 muestras de monos titi; de estas fueron 21 de machos y 6 hembras de varias zonas del país, la mayoría (20 muestras) de Manuel Antonio: 18 machos y 2 hembras; 2 de Lapa Ríos (1 hembra y 1 macho) y 5 de Golfito (3 hembras y 2 machos).

3a. Comparación de valores colinesterasa plasmática en machos y hembras:

Al comparar los valores observados entre machos y hembras, para determinar si se presentan diferencias significativas en los valores de colinesterasa plasmática entre sexos en los monos titi, se observó (figura 17) que los valores de las hembras analizadas son mas bajos que los valores de los machos ($p = 0,022$).

Figura 17. Comparación valores colinesterasa plasmática entre machos y hembras de *S. oerstedii* (titi).



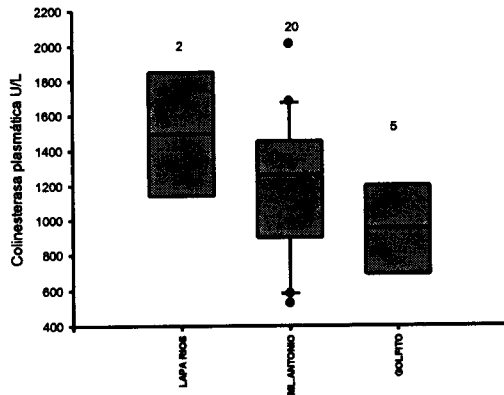
Los datos de los machos variaron entre 528 y 2010 U/L; la mediana en este grupo fue de 1280 U/L. El promedio fue de 1300 y una desviación estándar de 400 U/L. Tres de los machos presentaron valores mucho más bajos en relación a los otros (528, 583 y 586 U/L), si se eliminan estos datos como posibles outliers los valores del promedio y desviación estándar son 1400 y 280 U/L, respectivamente.

Los valores observados en las hembras fueron: 598, 782, 830, 896, 952 y 1140 U/L, para un promedio de 866 y una desviación estándar de 180 U/L.

3 b. Valores de colinesterasa plasmática en los diferentes sitios:

En la figura 18 se presentan los valores de colinesterasa plasmática observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

Figura 18 Colinesterasa plasmática en monos tití de diferentes zonas



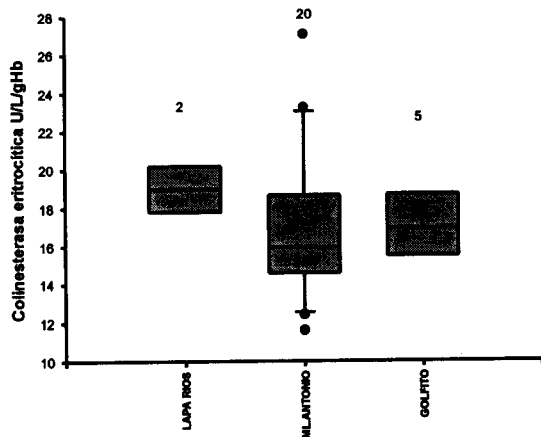
En el caso de los monos *Saimiri*, se observa que, aunque la diferencia en valores entre las diferentes zonas no es significativa ($p > 0.005$), los valores en Lapa Ríos tienden a ser más altos que en las otras zonas. Mientras en Golfito se observan valores más bajos.

3c. Valores de colinesterasa eritrocítica en monos Tití

Se compararon los valores de colinesterasa eritrocítica en machos y hembras de monos tití y no se observaron diferencias significativas por lo que se agruparon los valores de ambos sexos.

En la figura 19 se muestra la comparación de valores observados en las diferentes zonas de las cuales se recibieron muestras. En este caso los valores de los diferentes sitios son semejantes y no se observaron diferencias significativas entre zonas. Al agrupar los datos ($n = 27$) de estas zonas se obtuvo un valor mínimo de 11,60 U/gHb y un máximo de 27 U/gHb. La mediana de este grupo fue de 16,4 U/gHb; la media geométrica de 16,8 U/gHb. El promedio fue de 17,1 y la desviación estándar de 3,4 U/gHb.

Figura 19. Colinesterasa eritrocítica en monos *S. oerstedii* (tití) de diferentes zonas.

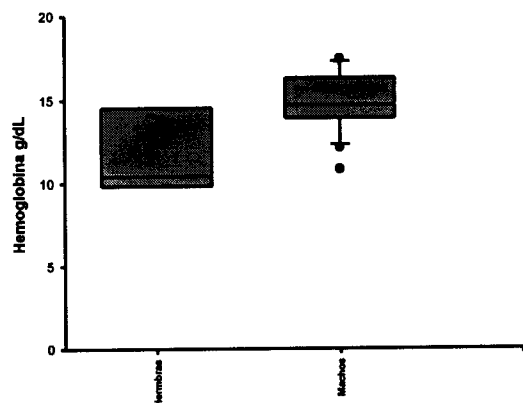


3d. Valores de hemoglobina en monos *Saimiri*.

En la figura 20 se presentan una comparación de los valores de hemoglobina observados en machos y hembras de monos tití.

Puede observarse que los valores de hemoglobina en hembras tiende a ser significativamente ($p = 0,0121$) más bajo que en machos.

Figura 20. Comparación valores hemoglobina en machos y hembras de *S. oerstedii* (titi).



Para los machos, los valores variaron entre 10,8 y 17,4 g/dL; presentaron una mediana de 14,7 g/dL. El promedio fue de 14,9 y la desviación estándar de 1,6 g/dL. Mientras que los valores de las hembras variaron entre 9,6 y 14,7 g/dL; en este caso el promedio fue de 11,6 y la desviación estándar de 2,4 g/dL.

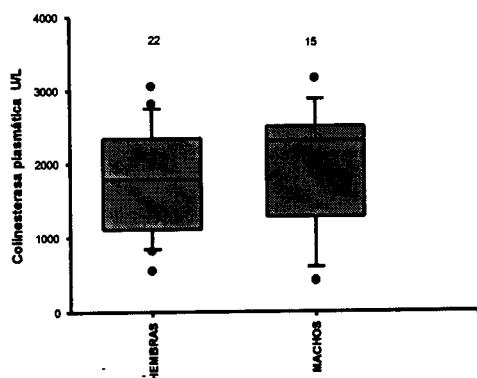
4. Resultados con muestras de monos *Ateles geoffroyi* (mono araña o colorado)

En total se recibieron en condiciones adecuadas de procesamiento 37 muestras de monos araña; de estas 15 fueron de machos y 22 hembras de diferentes zonas del país. La mayoría (21) de muestras fueron de La Marina; 2 de Sarapiquí, 5 de Curú, 5 de San Carlos, 3 de Ciruelas y una de LapaRíos.

4a. Comparación de valores colinesterasa plasmática en machos y hembras:

La figura 21 muestra la comparación de los valores observados en machos y hembras, se nota que los valores son semejantes y no se presenta diferencia significativa en los valores de colinesterasa plasmática entre sexos por lo que los valores se pueden agrupar.

Figura 21. Comparación valores colinesterasa plasmática entre machos y hembras de monos *Ateles*.

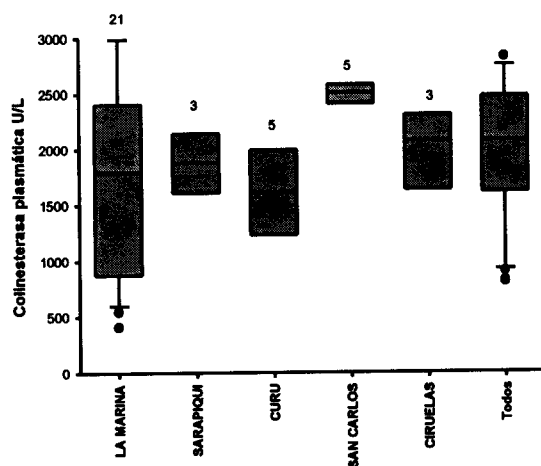


4 b. Valores de colinesterasa plasmática en los diferentes sitios:

En la figura 22 se presentan los valores de colinesterasa plasmática observados en los diferentes lugares de los cuales se recibieron muestras.

En el caso de los monos Ateles, se observa que en los valores de las diferentes zonas son semejantes, con excepción de los valores de los monos de San Carlos, los cuales tienen valores significativamente ($p = 0,0096$) más altos que los valores agrupados de otras zonas del país.

Figura 22. Comparación de los valores de colinesterasa plasmática de mono Ateles de diferentes zonas.



En San Carlos los valores observados en los machos fueron 2550, 2340 y 2510 U/L, mientras en las hembras fueron de 2480 y 2600 U/L. El promedio fue de 2500 y la desviación estándar fue de 100 U/L. Al ser los valores más altos podrían considerarse como representativos de los esperados en esta especie de monos.

Agrupando los valores de Curú, Sarapiquí y Ciruelas se observa un mínimo de 1200 y un máximo de 2300 U/L, el promedio es de 1780 y la desviación estándar de 360 U/L.

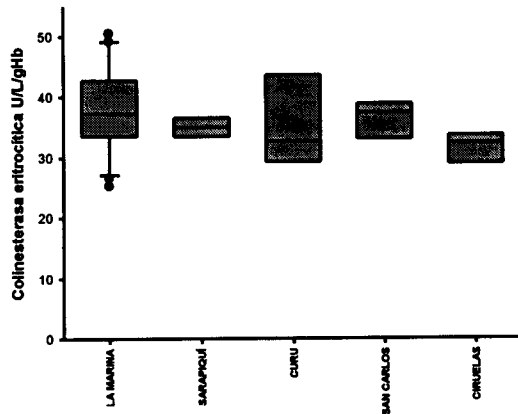
En La Marina los valores varían entre 407 y 3160 U/L; con un promedio de 1720 y una desviación estándar de 872 U/L. Obviamente en este grupo algunos individuos muestran valores muy bajos que indican alteración en los niveles de colinesterasa plasmática; 9 de ellos tienen valores inferiores a 1200 U/L.

4c. Valores de colinesterasa eritrocítica en monos araña

Se compararon los valores de colinesterasa eritrocítica en machos y hembras de monos araña de la Marina y no se observaron diferencias significativas por lo que se agruparon los valores de ambos sexos en las diferentes zonas.

En la figura 23 se muestra la comparación de valores observados en las diferentes zonas de las cuales se recibieron muestras.

Figura 23. Comparación valores colinesterasa eritrocítica de monos Ateles de diferentes zonas.



En este caso los valores de los diferentes sitios son semejantes y no se observaron diferencias significativas entre zonas. Al agrupar los datos (n = 36) de estas zonas se obtuvo un valor mínimo de 25,3 U/gHb y un máximo de 50,4 U/gHb. La mediana de este grupo fue de 36,7 U/gHb; la media geométrica de 36,2 U/gHb. El promedio fue de 36,7 y la desviación estándar de 6,1 U/gHb. Cabe señalar que la muestra de una hembra de Lapa Ríos mostró un valor de 20 U/gHb, considerado disminuido en relación a los otros datos.

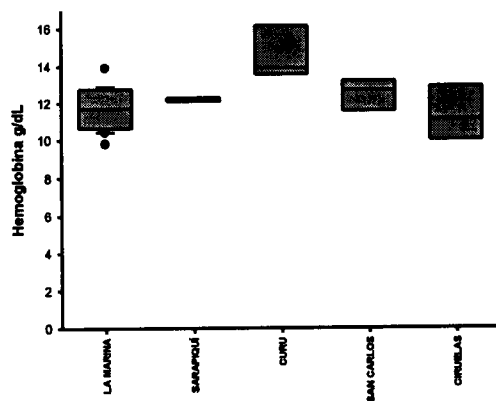
4d. Valores de hemoglobina en monos Ateles.

Al comparar los valores de hemoglobina en machos y hembras de monos araña no se observó diferencia significativa, por lo que los datos de ambos sexos se agruparon en las diferentes zonas. En la figura 24 se presentan una comparación de los valores de hemoglobina observados en monos araña de las diferentes zonas.

Puede observarse que los valores de hemoglobina en las diferentes zonas tienden a ser semejantes, únicamente las muestras provenientes de Curú presentan valores significativamente más altos ($p = 0,0007$) que las muestras de los otros sitios.

En Curú el valor mínimo fue de 13,5 y el máximo de 16,9 g/dL; el promedio fue de 14,7 y la desviación estándar de 1,47 g/dL.

Figura 24. Comparación valores hemoglobina en monos Ateles de diferentes zonas.



Por su parte, al agrupar los valores de zonas semejantes se obtuvo un mínimo de 9,8 y un máximo de 13,9 g/dL. Para este grupo de muestras (n = 32), la mediana fue de 11,9 g/dL, la media geométrica de 11,78 g/dL; el promedio fue de 11,8 y la desviación estándar de 1,06 g/dL.

4e. Otros análisis bioquímicos en monos Ateles.

Se pudieron realizar otros análisis bioquímicos únicamente en 16 muestras de monos araña, 7 machos y 9 hembras.

- **Albúmina:** los valores de albúmina en machos fueron significativamente más altos que en las hembras ($p = 0,0229$). En los machos el valor mínimo fue de 5,3 y el máximo de 6,8 g/dL; el promedio fue de 5,9 y la desviación estándar de 0,47 g/dL. Por su parte los valores de las hembras variaron entre 4,5 y 6,5 g/dL; con un promedio de 5,3 y una desviación estándar de 0,6 g/dL. Aunque fueron pocos datos en las muestras de diferentes zonas mostraron valores semejantes.
- **Proteínas totales:** al igual que con la albúmina, los valores de proteínas totales en machos fueron significativamente más altos que en las hembras ($p = 0,0164$). En los machos el valor mínimo fue de 9,7 y el máximo de 14,0 g/dL; el promedio fue de 11,6 y la desviación estándar de 1,6 g/dL. Por su parte los valores de las hembras variaron entre 8,5 y 11,7 g/dL; con un promedio de 9,6 y una desviación estándar de 1,1 g/dL. Los valores de diferentes zonas fueron semejantes.
- **Colesterol:** los valores de colesterol en machos y hembras no mostraron diferencias significativas ($p = 1,00$) por lo que se agruparon los datos de ambos sexos. En este caso el valor mínimo observado fue de 150 y el máximo de 287 mg/dL; la mediana fue de 216 mg/dL; el promedio fue de 214 y la desviación estándar de 34 mg/dL. Se observó que los valores de Curú fueron los más elevados (entre 230 y 287 mg/dL) y los más bajos fueron los de Ciruelas entre (150 y 195 mg/dL).
- **Triglicéridos:** en forma similar al colesterol, los valores de triglicéridos en machos y hembras no mostraron diferencias significativas ($p = 0,3679$) por lo que se agruparon los datos de ambos sexos. En este caso el valor mínimo observado fue de 77 y el máximo de 270 mg/dL; la mediana fue de 145 mg/dL; el promedio fue de 158 y la desviación estándar de 56 mg/dL. De nuevo se observó que los valores de Curú tienden a ser los más elevados y los más bajos fueron los de Ciruelas entre.
- **Creatinina:** en el caso de la creatinina, los valores observados en machos y hembras no mostraron diferencias significativas ($p = 0,4269$) por lo que se agruparon los datos de ambos sexos. En este caso el valor mínimo observado fue de 1,26 y el máximo de 2,15 mg/dL; la mediana fue de 1,6 mg/dL; el promedio fue de 1,6 y la desviación estándar de 1,24 mg/dL. En creatinina también se observa una tendencia en los datos de Curú a ser los más elevados (entre 1,5 y 2,15 mg/dL).
- **Urea:** los valores de urea fueron similares en machos y hembras, no mostrando diferencia significativa ($p = 0,1142$). Para este análisis el valor mínimo observado fue de 16 y el máximo de 45 mg/dL; la mediana fue de 26 mg/dL; el promedio fue de 28 y la desviación estándar de 9,1

mg/dL. En este caso los valores de las diferentes zonas fueron similares.

Conclusiones.

Aunque los valores de referencia son útiles para evaluar las alteraciones fisiológicas y patológicas de los diferentes animales, hasta ahora, los valores de referencia para las determinaciones bioquímicas en monos costarricenses no han sido determinados en forma sistemática. Nuestro objetivo fue utilizar las muestras de monos en un pequeño intento por tener una idea de los valores bioquímicos que se presentan en las especies de nuestros monos. Los datos obtenidos, aunque no provienen de grupos muy numerosos, nos proporcionan información importante en relación al estado fisiológico de los monos. Se observaron algunas diferencias entre monos de distintas zonas lo que podría deberse al tipo de nutrición o alimento disponible, medio ambiente y nivel de actividad. Creemos que los resultados obtenidos mediante este proyecto pueden ser un muy buen punto de partida para posteriores investigaciones.

En relación a las colinesterasas consideramos que las diferencias observadas entre monos de diferentes zonas se deben principalmente a exposición a productos inhibidores de estas enzimas (en especial organofosforados). Sin embargo se debe realizar más investigación para poder confirmar esta suposición.

Referencias:

Jiménez-Díaz, M.; Schosinsky, K. Valores de referencia de colinesterasa plasmática y eritrocítica en población costarricense. Comparación del desempeño clínico. *Rev Cost Cienc Med.* 21 (3-4): 117-126, 2000.

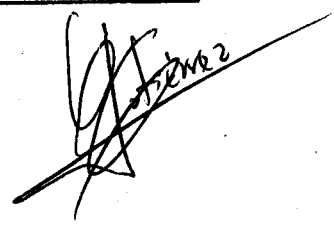
Hassan, M. R., A. J. Pesce, P. Sheng and I. B. Haneson. 1981. Correlation of serum pseudochoolinesterase and clinical course in two patients poisoned with organophosphate insecticides. *Clinical Toxicology* 18: 401-406.

Henny, C. J., L. J. Blus, E. J. Kolbe, and R. E. Fitzner. 1985. Organophosphate insecticide (Famphur) topically applied to cattle kills magpies and hawks. *The Journal of Wildlife Management* 49: 648-658.

Marquis, J. K. 1986. Contemporary issues in pesticide toxicology and pharmacology. Karger, Basel, Switzerland, 108 pp.

White, D. H., K. A. Kin, C. A. Mitchell, E. F. Hill, and T. C. Lamont. 1979. Parathion causes secondary poisoning in a laughing gull breeding colony. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 23: 281-284.

Zilnkl., J. C., C. J. Henny, and P. J. Shea. 1979. Brain cholinesterase activities of passerine birds in forests sprayed with cholinesterase inhibiting insecticides. *In Animals as monitors of environmental pollutants.* National Academy of Sciences Washington, D.C., pp. 356-365.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'G. Sánchez', is written diagonally in the upper right corner of the page.

LIBRO DE RESÚMENES

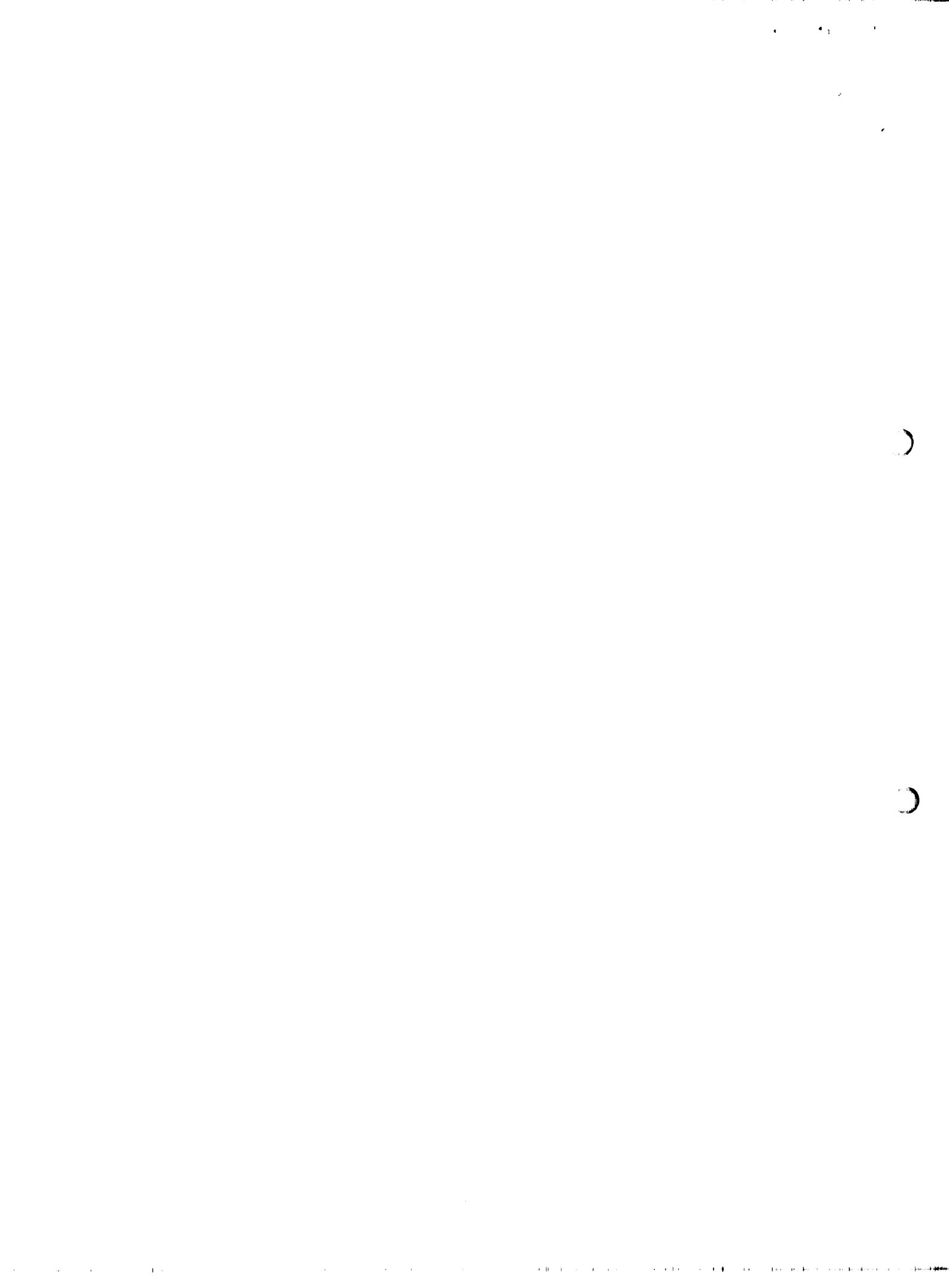
COMITÉ ORGANIZADOR

**COORDINADOR GENERAL
RONALD SANCHEZ PORRAS**

**EQUIPO DE APOYO
GUSTAVO GUTIERREZ ESPELETA
GRACE WONG REYES
MISAEAL CHINCHILLA CARMONA
IDALIA VALERIO**

INSTITUCIONES ORGANIZADORAS:

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA- SEDE DE OCCIDENTE (UCR-SO-PIBP)
UNIVERSIDAD NACIONAL (UNA)
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS (UCIMED)**



II Simposio de Primates de Costa Rica

Estrategia Nacional para su Conservación

Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente, San Ramón
25, 26 y 27 de julio de 2007

Listado de Participantes

Apellidos	Nombre	Institución	Correo Electrónico
Agüero Arias	Juan Pablo	ASCOMOTI	jpabloaguero@gmail.com
Aráuz	Martha	UCR	rorolimar@ice.co.cr
Artavia Jiménez	Alan	Municipalidad de San Ramón	aartavia@sanramon.go.cr
Barrantes	Gilbert	UCR	gbarrantes59@yahoo.com
Blanco Peña	Kinndle	Centro de Rescate Rancho Margot	kinnvet@yahoo.es
Boza	Alejandra	Pittsburgh University	alb159@pitt.edu
Brenes	Andrea	Fundazoo	andrebren@yahoo.es
Brenes Cambroner	Liz	UCR, Sede Occidente	
Calvo	Jose Joaquín	SINAC MINAE	joaquin.calvo@sinac.go.cr
Carazo Salazar	Javier	UNA	jcarazo82@hotmail.com
Cárdenas	Laura	Unión Niños salvando el bosque	lalycr2002@hotmail.com
Carrera	Daniela		danielacc@costarricense.cr
Carrillo Dóver	Pedro	UCR	pcarrill@cariari.ucr.ac.cr
Castro Vargas	Esmeralda	Ulatina	mems_12@hotmail.com
Chávez Chávez	Marco Vinicio	UCIMED	mvchevez2@yahoo.es
Chinchilla	Misael	UCIMED	chinchillacm@ucimed.com
Chinchilla Ramírez	Bernardo	Fundecor	tamancabecar@hotmail.com
Esquivel	Octavio	UCR	biogeo12@yahoo.com
Fernández	Gisella	UCR, Sede Rodrigo Facio	gisellafem@gmail.com
Gamboa Coronado	María del Mar	UCR, Sede de Rodrigo Facio	
García	Fernando	UCR	fgarcia@cariari.ucr.ac.cr
González Guzmán	Mainor	MINAE	minor.gonzalez@sinac.go.cr
González Paniagua	Antonieta	UCR, Sede Occidente	agpaniagua@gmail.com
Gross	Norma	UCR	
Guido Granados	Ismael	UCR, Sede de Occidente	ismaelguido@gmail.com
Gutierrez	Gustavo	UCR	ggutier@biologia.ucr.ac.cr
Hergenrother	Scot	Pittsburgh University	sdh22@pitt.edu
Hernandez	Jose Alfredo	MINAE	johernan@costarricense.cr
Hernández	Jorge	MINAE	jorgecrr@yahoo.com
Hernández Longan	Erika	Ulatina	erikalongan@yahoo.com
Jimenez	Mauricio	Esc. Med y Vet. UNA	mjimenez@medvet.una.ac.cr
King	Zdanna	Tulane University	zdanna@gmail.com
Lindshield	Stacy	Universidad del Estado de Iowa	slind@iastate.edu
Lobo	Hellen	UNA	hlobo81@hotmail.com
Loría Calderón	Esteban	UCR, Sede Occidente	eloria06@gmail.com

II Simposio de Primates de Costa Rica

Estrategia Nacional para su Conservación

Listado de Participantes

Martínez	Laura	UCR	laumares@gmail.com
Lynch Alfaro	Jessica	Washinton University	jessicalynchalvaro@gmail.com
Mann	Katie	Community Conservation	katiemann@planetsave.com
Menezes	Ana	Esc.Med y Vet. UNA	amenses@medvet.una.ac.cr
Mora	Emilia	Jardines de la catarata	emilia-sanjuan@hotmail.com
Morales Barrantes	Carlos Humberto	UCR, Sede Rodrigo Facio	oxesinc@yahoo.es
Morales González	Carmen	UCR, Sede Rodrigo Facio	daymor@gmail.com
Morera	Rodrigo		adiotor@racsa.co.cr
Muller	Ludwig	Fundación Primatológica de Costa Rica	
Oliveira	Jaqueline	Universidad Nacional	jaquelo@medvet.una.ac.cr
Ortiz Gamboa	Rodolfo	UCR	rortiz23v@hotmail.com
Ortiz Gamboa	Jeffry	UCR, Sede Rodrigo Facio	jeffry.ortiz@gmail.com
Pacheco	Mariana		
Palavicini	Pricilla	UCR, Sede Rodrigo Facio	pucca23@gmail.com
Peña Peña	Roberto	Centro de Rescate Jardines del Arenal	rober.j@excite.com
Pérez Zúñiga	Adriana	UCR, Sede Rodrigo Facio	adrianaperezucr@yahoo.com
Riba	Pablo	UCR	proyctocarey@yahoo.com.mx
Robles	Cristian	MINAE	Vidasilvestreacto@gmail.com
Rodriguez	Jorge	UCR CBSG Mesoamerica	joredroma@gmail.com
Rodríguez	Miguel	MINAE	migue.rodri@hotmail.com
Rodríguez Arias	Cindy	UCR	cindy748@hotmail.com
Rodríguez Ramírez	Juan María	MINAE	juan.rodriguez@sinac.go.cr
Rodríguez Ramírez	Carolina	UNA	carolina_euarin@yahoo.com
Rojas Conejo	Juan Bautista	UCR	juanbaroj@gmail.com
Rosales Meda	Marleny	ICOMVIS UNA	marleny.rosales@gmail.com
Sáenz	Joel	UNA	jsaenz@una.ac.cr
Sánchez	Erick	UCR	e_sanz_rojas@hotmail.com
Sánchez	Ronald	UCR, Sede de Occidente	ronald.rsr@gmail.com
Schulte	Meredith	WSU	Mschulte@wsu.edu
Sibaja	Karen	UNA	kainzha@costarricense.com
Solano	Daniela	UNA	dsolano@tnc.org
Soto	Wendy	UCR	khaly06@gmail.com
Valerio	Idalia	UCIMED	valeriodi@ucimed.com
Villalobos	Federico	UCR	fvillalo@gmail.com
Villalobos	Alberth	Azahar Travel	info@azahartravel.co.cr
Villanea Guevara	Fernando		
Won	Grace	UNA	gwong@una.ac.cr
Zumbado Echavarría	Marco Antonio	UCR	nassua18@yahoo.es

PROGRAMA

II Simposio sobre primates de Costa Rica: Estrategia nacional para su conservación

**25 al 27 de Julio, 2007
Auditorio de Sede de Occidente,
Universidad de Costa Rica**

Organizan: Universidad de Costa Rica, Universidad Nacional, Universidad de Ciencias Médicas.

Miércoles 25 de Julio.

9:00- 9:45 am. Bienvenida e inauguración del simposio.

10:00- 10:20 am. PARÁSITOS INTESTINALES EN MONOS CONGO *Alouatta palliata* (PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA Misael Chinchilla-Carmona.

10:20- 10:40 am. PARÁSITOS INTESTINALES EN MONOS CARA BLANCA *Cebus capucinus* (PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA Idalia Valerio.

10:40- 10:50 am. Café.

10:50- 11:10 am. PRESENCIA DE *Plasmodium brasillanum* (APICOMPLEXA, PLASMODIDAE) EN EL MONO CONGO (*Alouatta palliata*, PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA. IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN RELACIÓN CON EL SER HUMANO. Misael Chinchilla Carmona.

11:10- 11:30 am. PRESENCIA DE *Trypanosoma minasense* (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATÍDAE) EN ALOUATTA PALLIATA (PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA Misael Chinchilla Carmona.

11:30- 11:50 am. COMPARACIÓN DE PARASITOSIS EN MONOS CONGO DE CHOMES Y DEL PARQUE NACIONAL PALO VERDE, COSTA RICA. Laura Martínez

11:50- 12:10 am. LEVADURAS AISLADAS DE ALOUATTA PALLIATA, *Ateles geoffroyi*, *Cebus capucinus* Y *Saimiri oerstedii* (PRIMATES: CEBIDAE) EN DIFERENTES ZONAS DE COSTA RICA. Norma Gross.

12:10- 1:30 pm. Almuerzo

1:30- 1:50 pm. CARACTERISTICAS DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS Y DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE MONO CONGO monkeys *Alouatta palliata* EN COSTA RICA. Fernando García.

1:50- 2:10 pm. PRINCIPALES PROBLEMAS MÉDICOS QUE AFECTAN LA SALUD DE PRIMATES EN CAUTIVERIO EN CENTROS DE VIDA SILVESTRE DE COSTA RICA.

Mauricio Jiménez.

✓ **2:10- 2:30 pm. PARÁSITOS INTESTINALES DE PRIMATES EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA: INFORME PRELIMINAR.** J. B. de Oliveira.

Jacqueline

✓ **2:30- 2:50 pm. RELACIÓN ENTRE PARASITOSIS GASTROINTESTINALES EN PRIMATES Y HUMANOS DE TRES DIFERENTES CENTROS DE VIDA SILVESTRE EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA.** Mauricio Jiménez.

✓ **2:50- 3:10 pm. VALORES SANGUINEOS DE *Ateles geoffroyi*, *Alouatta palliata*, *Cebus capucinus* y *Saimiri oerstedii* EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA.** Meneses A, Jiménez M

3:10- 3:30 pm.

4:10 **NUTRICION DE PRIMATES EN CAUTIVERIO: LOS CASOS DEL ZOOLOGICO NACIONAL SIMON BOLIVAR.** Andrea Brenes.

3:30- 3:40 pm. Café.

4:30 **3:40- 4:00 pm. GUIA DE CAMPO PARA LA REHABILITACION, LIBERACION Y SEGUIMIENTO DE PRIMATES EN CAUTIVERIO.** Ronald Sánchez Porras.

✓ **4:00- 4:20 pm.**

SITUACIÓN ACTUAL DEL MONO ARAÑA (*Ateles geoffroyi*) EN CENTROS DE TENENCIA DE FAUNA SILVESTRE EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA. Javier Carazo.

No X **4:20- 4:40 pm. VARIABLES DE HÁBITAT Y PAISAJE QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DEL MONO TITI Y CARABLANCA EN UNA ZONA FRAGMENTADA DEL PACÍFICO CENTRAL DE COSTA RICA.** Joel Sáenz.

✓ **4:40- 5:00 pm. 1000 CAPTURAS DE PRIMATES COSTARRICENSES EN ESTADO SILVESTRE.** Ronald Sánchez Porras.

Jueves 26 de julio.

9:00- 9:20 am. VARIACIÓN GENÉTICA DE LAS CUATRO ESPECIES DE PRIMATES DE COSTA RICA IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACION DE ESTAS ESPECIES

Gustavo Gutiérrez-Espeleta.

10:12 **9:20- 9:40 am. DIVERSIDAD GENÉTICA Y EVOLUCION EN EL GENERO *Alouatta***

Federico Villalobos.

✓ **9:40- 10:00 am. Flora bacteriana de la cavidad bucal de los monos *Alouatta palliata*, *Ateles geoffroyi* y *Saimiri oerstedii* y su perfil de sensibilidad a antibióticos.** *María del Mar Gamboa-Coronado.*

✓ **10:00 -10:20 am EFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT EN LA ESTRUCTURA GENÉTICA Y POBLACIONAL DEL MONO CONGO (*Alouatta palliata*) Y EL MONO CARABLANCA (*Cebus capucinus*) EN LA RESERVA NOGAL, SARAPIQUÍ, HEREDIA, COSTA RICA.** *Jorge Rodríguez*

10:20- 10:40 am. Los monos de Costa Rica como modelo de estudio; Evolución y significancia ecológica de ASPM, un gen de desarrollo cerebral. *Fernando Villanea.*

10:40- 10:50 am. Café.

10:50- 11:10 am. Estado de conservación y descenso de las poblaciones de los primates en Costa Rica. *Ronald Sánchez Porras.*

11:10- 11:30 am. MORTALIDAD DE MONOS EN EL PARQUE NACIONAL CORCOVADO
Grace Wong.

11:30- 11:50 am.

✓ **ANÁLISIS SITUACIONAL DE MONO TITI EN EL AREA DE AMORTIGUAMIENTO DEL PARQUE INTERNACIONAL LA AMISTAD.** *Rodrigo Morera.*

11:50-12:10 pm. EVALUACION DEL PAISAJE, EL HABITAT Y LA POBLACION DE MONO TITI (*Cebidae: Saimiri oerstedii oerstedii*) EN LA PENÍNSULA DE OSA COSTA RICA. *Daniela Solano.*

12:10- 1:30 pm. Almuerzo.

1:30- 1:50 pm. FRUGIVORÍA Y DISPERSIÓN DE SEMILLA POR *Ateles geoffroyi* y *Alouatta palliata* Y SUS IMPLICACIONES EN LA CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD EN LA PENÍNSULA DE OSA, COSTA RICA.

Pablo Riba Hernández.

1:50- 2:10 pm.

USO DE COBERTURAS DE VEGETACIÓN POR TROPAS DE MONOS CONGOS (*Alouatta palliata*) Y CARABLANCA (*Cebus capucinus*) EN UN AGROPAISAJE Y PERCEPCIONES DE FINQUEROS CON RESPECTO A LA CONSERVACIÓN DE LOS PRIMATES EN ESPARZA, COSTA RICA"

Marleny Rosales Meda

2:10-2:30 pm. **USO DE HABITATS Y PLANTAS IMPORTANTES EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS MONOS CONGOS (*Alouatta palliata*) Y CARABLANCAS (*Cebus capucinus*) EN EL BOSQUE TROPICAL SECO, COSTA RICA.**

Rodrigo Morera.

2:30- 2:50 pm. **POBLACIÓN DE MONO CONGO (*Alouatta palliata*) EN ISLA SAN LUCAS, GOLFO DE NICOYA, COSTA RICA**

Marleny Rosales Meda.

2:50- 3:10 pm. **DISPERSION DE SEMILLAS DEL ARBOL CAREY (*Elaeoloma glabrescens*) POR LOS MONOS COLORADOS: EVIDENCIAS DE LA DEPENDENCIA DE UN PRIMATE PARA LA REGENERACION DE ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA ECONOMICA EN LA PENINSULA DE OSA, COSTA RICA . Pablo Riba Hernández.**

3:10- 3:30 pm. **Variación genética de los monos colorados y carablanca. Gustavo Gutiérrez-Espeleta.**

3:30- 3:40 pm. **Café.**

3:40- 4:00 pm. **SE PODRAN MANTENER LAS RELACIONES MUTUALISTAS ENTRE PRIMATES Y PLANTAS EN RESERVAS PEQUEÑAS: EL CASO DEL MONO COLORADO EN LA PENINSULA DE OSA, COSTA RICA. Pablo Riba Hernández.**

4:00- 4:20 pm. **ANALISIS MORFOLOGICO DE 16 POBLACIONES DEL MONO CONGO *Alouatta palliata* (*Cebidae*) EN COSTA RICA. Gilbert Barrantes.**

4:20- 4:40 pm. **Aspectos antropológicos de *Cebus capucinus* en el Pacífico Central de Costa Rica. Jessica Lynch.**

4:40- 5:00 pm. **EVOLUCIÓN Y FUNCIÓN DE LA VISIÓN TRICROMÁTICA RUTINARIA EN PRIMATES. José Esteban Loría.**

Viernes 27 de julio.

ESTRATEGIA NACIONAL PARA LA CONSERVACION DE LOS PRIMATES DE COSTA RICA.

Responsables: Ronald Sánchez-Porras, Gustavo Gutiérrez-Ezpeleta, Grace Wong Reyes. Idalia Valerio, Misael Chinchilla-Carmona.

9:00- 12:00 pm. Salud animal-cautiverio.

1:00- 5:00 pm. Conservación in situ, genética, hábitat y otras áreas del conocimiento

5:10 pm Clausura

**PARÁSITOS INTESTINALES EN MONOS CONGO *Alouatta palliata*
(PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA**

Misael Chinchilla-Carmona^{****}, Olga Guerrero-Bermúdez*, Gustavo Gutiérrez- Espeleta^{**}, Ronald Sánchez-Porras^{****} & Beatriz Rodríguez-Ortiz

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica,

Departamento de Investigación. Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).

Escuela de Biología, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

Se estudiaron las heces de 102 monos de la especie *Alouatta palliata* (monos aulladores o congos) de las siguientes regiones de Costa Rica, Valle Central: San Ramón (Alajuela); Pacífico Centra: Isla Chira y Parque Manuel Antonio (Puntarenas); Pacífico Norte: Palo Verde, Playa Potrero, Nicoya (Guanacaste) y Caribe: Cahuita (Limón). Los animales capturados fueron anestesiados con dardos conteniendo Telazol®. La mayoría de los animales defecaron espontáneamente, los que así no lo hicieron se les estimuló a defecar. Las muestras se estudiaron en el laboratorio en forma directa con solución salina (0.85%) y una solución de yodo (Lugol) o teñidas con hematoxilina férrica para identificar los parásitos correspondientes. El material se cultivó en medio de Dobell para determinar la presencia de amebas y flagelados. Se encontraron helmintos de los géneros *Trypanoxyuris*, *Strongyloides* y *Controrchis* y protozoarios de los géneros *Endolimax*, *Entamoeba*, *Trichomonas* y *Giardia*. Los porcentajes de infección por protozoarios oscilaron entre el 16.7% y el 80% y se encontraron helmintos en un 3.4% a un 80% de los animales, de acuerdo con la zona estudiada. No se encontraron diferencias importantes de parasitosis relacionadas con el sexo pero si existió mayor infección en los animales más jóvenes. En relación con el peso del animal, se encontró un ligero aumento en el grado de infección parasitaria en aquellos animales de menor peso. Los monos que se desplazan cerca de poblaciones humanas y viven en espacios limitados, presentaron mayor grado de infección por protozoarios. El hallazgo de estas infecciones parasitarias es un aspecto a tomar en cuenta, al establecer programas de conservación de los primates.

G. Gutiérrez: ggulicr@biologia.ucr.ac.cr

O. Guerrero: abriceno@racsa.co.cr

R. Sánchez: ronald.rsr@gmail.com

M. Chinchilla: chinchillacm@ucimed.com

**PARÁSITOS INTESTINALES EN MONOS CARA BLANCA *Cebus capucinus*
(PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA**

Misael Chinchilla-Carmona^{****}, Olga Guerrero-Bermúdez*, Gustavo Gutiérrez- Espeleta^{**}, Ronald Sánchez-Porras^{****}, Beatriz Rodríguez-Ortiz & Idalia Valerio-Campos^{***}

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica,

Departamento de Investigación. Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).

Escuela de Biología, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

Se estudiaron las heces de 53 monos de la especie *Cebus capucinus* (monos carablanca) de las siguientes regiones de Costa Rica, Pacífico Norte: Parque Nacional Palo Verde y Finca El Encanto (Guanacaste); Pacífico Central: Parque Nacional Manuel Antonio, Reserva Curú (Puntarenas) e Higuito de San Mateo (Alajuela); Pacífico Sur: Parque Nacional Corcovado (Puntarenas) y Caribe: Tirimbina y Sendero el Pavo. Los animales capturados fueron

anestesiados con dardos conteniendo Tiletamina. La mayoría de los animales defecaron espontáneamente, los que así no lo hicieron se les estimuló a defecar. Las muestras se estudiaron en el laboratorio en forma directa con solución salina (0.85%) y solución de yodo (Lugol), además fueron teñidas con hematoxilina férrica para identificar los parásitos. El material se cultivó en medio de Dobell para determinar la presencia de amebas y flagelados. Los helmintos encontrados se ubican en los géneros *Ancylostoma*, *Strongyloides* y *Macracanthorhynchus*, los protozoarios en los géneros *Trichomonas* y algunos flagelados similares a *Hexamita*. Los porcentajes de infección por helmintos oscilaron entre el 13% para estrogilidios, 24.5 para filarias y 30.2 para otros géneros, para protozoarios fueron de 5.7% para *Trichomonas* y 3.8% para otros géneros. En total se encontró un 74% de monos positivos, siendo ligeramente mayor la positividad en machos que en hembras. En relación con el peso del animal, los machos de menor peso presentaron mayor infección (91.7%); para las hembras, aquellas de peso intermedio presentaron mayor positividad (100%). Las zonas de mayor positividad fueron la Reserva Curú (33.3%) y el 100% de las zonas del Pacífico Norte. La mayor cantidad de microfilarias se encontró en la zona de Turrialba. El hallazgo de estas infecciones parasitarias es un aspecto a tomar en cuenta, al establecer programas de conservación de los primates.

G. Gutiérrez: gguicr@biologia.ucr.ac.cr

O. Guerrero: abriceno@racsa.co.cr

R. Sánchez: ronald.rsr@gmail.com

M. Chinchilla: chinchillacm@ucimed.com

I. Valerio: valeriodi@ucimed.com

PRESENCIA DE *Plasmodium brasilianum* (APICOMPLEXA, PLASMODIDAE) EN EL MONO CONGO (*Alouatta palliata*, PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA. IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN RELACIÓN CON EL SER HUMANO.

Misael Chinchilla Carmona*, Olga Marta Guerrero Bermúdez **, Gustavo Gutiérrez Espeleta*** y Ronald Sánchez Porras****

* Dirección de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED)

** Centro de Investigación en Enfermedades tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

*** Escuela de Biología, Sede Central Rodrigo Facio, Universidad de Costa Rica.

**** Escuela de Biología, Centro Regional de Occidente, Universidad de Costa Rica.

La especie productora de malaria en primates, *Plasmodium brasilianum*, fue encontrada por primera vez en Costa Rica en 6 de 104 monos aulladores (*Alouatta palliata*). Los animales fueron capturados y anestesiados por medio de dardos que contenían hidrocloreuro de tiletamina y zolazepam (Zoletil®) combinados en partes iguales. Para estudiar estos animales por hemoparásitos, se prepararon frotis sanguíneos que se colorearon según la técnica para la tinción de Giemsa y se observaron a 100X, encontrándose las formas de trofozoitos jóvenes o avanzados así como gametocitos y esquizontes. La morfología característica de algunos estados evolutivos, como por ejemplo, las formas en banda de trofozoitos avanzados y los esquizontes en forma de margarita o "rosetta" permitieron el diagnóstico de la especie. Puesto que se han encontrado casos humanos infectados con este organismo y éste es casi indistinguible de *Plasmodium malariae*, una especie parásita del ser humano, es importante el hallazgo de este parásito desde un punto de vista epidemiológico, en el campo de la salud.

**PRESENCIA DE *Trypanosoma minasense*
(KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATÍDAE) EN
Alouatta palliata (PRIMATES: CEBIDAE) DE COSTA RICA**

Al Chinchilla*, Adriana Troyo**, Olga Marta Guerrero**, Gustavo Gutiérrez*** y Ronald Sánchez P ****

Dirección de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED)

Centro de Investigación en Enfermedades tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Escuela de Biología, Sede Central Rodrigo Facio, Universidad de Costa Rica.

Escuela de Biología, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

Trypanosoma minasense fue reportado y descrito por primera vez en Brasil por Carlos Chagas en primates no humanos; como miembro del subgénero *Megatrypanum*, se conoce que no es patógeno para su hospedero. En Costa Rica, gracias a un estudio integral y multidisciplinario en la población de primates del país, se procedió a la captura de monos de la especie *Alouatta palliata* mediante el uso de dardos con Ketamina y Xilacina (0,2 mg / kilogramo de peso). La sangre de los primates fue recolectada en tubos con EDTA por punción de la arteria femoral y se procesó en medio de Rugai, para el aislamiento de hemoparásitos, también se realizaron frotis sanguíneos directos los cuales se tificaron según la técnica de Giemsa. A los tres días luego de sembrados los Rugai, se observaron los primeros epimastigotos, los cuales aumentaron considerablemente luego de 10 días. Parte del cultivo se utilizó para inocular ratones C₃H vía peritoneal, que luego de 10 a 12 días presentaron unas pocas formas del parásito; sin embargo, los xenodiagnósticos realizados resultaron negativos. Los estudios morfológicos y fisiológicos de los estadios estudiados indican que corresponden a *T. minasense*, organismo emparentado con *T. lambrechtii* y *T. cruzi*, otros tripanosomátidos presentes en monos del género *Alouatta*. Esta es la primera vez que se describe *T. minasense* en monos de Costa Rica.

**COMPARACIÓN DE PARASITOSIS EN MONOS CONGO DE CHOMES
Y DEL PARQUE NACIONAL PALO VERDE, COSTA RICA.**

Martínez Esquivel¹, Gustavo Gutiérrez Espeleta² y Misael Chinchilla Carmona³.

Se realizó un estudio coparazitológico durante seis meses consecutivos en dos grupos de monos congo (*Alouatta palliata*), uno en la zona de Chomes, Puntarenas y el otro en el Parque Nacional Palo Verde, Guanacaste. Con el objetivo de comparar ambas zonas se tomaron, mediante un método no invasivo, un total de 117 muestras fecales anónimas, las que se depositaron individualmente en recipientes adecuados para su transporte. Las muestras se almacenaron en frío (entre 0 y 5°C) al laboratorio donde se procedió a estudiarlas de forma directa mediante su observación con solución salina al 0.85% y solución de lugol. Además, se realizaron extendidos que se secaron al aire para su posterior tinción con las técnicas de Koster para resistencia para la detección de coccidios y la técnica de Weber modificada para la detección de microsporidios. En el examen al fresco se encontraron protozoarios de los géneros *Amoeba*, *Entamoeba* y helmintos de los géneros *Strongyloides* y *Trypanoxyuris*. En las muestras por coccidios se encontraron ooquistes de *Cyclospora* sp. y *Cryptosporidium* sp. La técnica de Weber reveló la presencia de microsporidios. Se encontró una mayor parasitosis en Chomes (50%) en contraste con Palo Verde (39.2%). Chomes presentó los mayores porcentajes de infección por protozoarios (45.5%) y Palo Verde por helmintos (20.5%). Se pretende establecer si existe o no una relación entre los parásitos encontrados y factores tales como la edad, tipo de alimentación y tamaño de las tropas.

Escuela de Biología Universidad de Costa Rica. laumares@gmail.com

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. ggutier@biologia.ucr.ac.cr

Instituto de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). chinchillacm@ucimed.com

LEVADURAS AISLADAS DE *ALOUATTA PALLIATA*, *Ateles geoffroyi*, *Cebus capucinus* Y *Saimiri oerstedii* (PRIMATES: CEBIDAE) EN DIFERENTES ZONAS DE COSTA RICA.

Norma Gross¹, Juan Diego Castro¹, Olga Guerrero¹, Misael Chinchilla², Ronald Sánchez P³ y Gustavo Gutierrez-Espeleta⁴.

1. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica; 2. Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). 3. Escuela de Biología, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, Alajuela, Costa Rica; 4. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Candida es una levadura comensal en seres humanos y animales, con la capacidad de producir enfermedad en el huésped con algún factor predisponente. El conocimiento sobre las levaduras que forman parte de la flora normal en primates es muy limitado, por esto, el objetivo del presente estudio fue el de investigar la presencia de levaduras en piel, cavidad oral y mucosa vaginal en *Alouatta palliata*, *Ateles geoffroyi*, *Cebus capucinus* y *Saimiri oerstedii* (Primates: Cebidae). A las muestras obtenidas se les realizó un examen directo en KOH al 20% y un cultivo en Agar glucosado de Sabouraud y Agar Mycosel. Las levaduras aisladas se identificaron como *Candida albicans* con la prueba del Tubo Germinativo y las otras especies de *Candida* se identificaron utilizando el sistema API-20X. Un total de 608 muestras fueron tomadas en un periodo de seis años. Ninguna de las 279 muestras de piel fue positiva por *Candida*. Sin embargo, se aislaron *Candida* spp. de la cavidad oral (228 muestras) y mucosa vaginal (101 muestras) en un 12.3% y 6.9 % de estas, respectivamente. *C. albicans* fue la especie más frecuentemente aislada. Estos resultados indican colonización de *Candida*, en cavidad oral y mucosa vaginal, pero no en piel, de un mono en particular o de una colonia específica de monos del grupo en estudio.

CARACTERISTICAS DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS Y DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE MONO CONGO *Alouatta palliata* EN COSTA RICA.

Ledis Reyes,¹ Ana Lucía Ugalde,¹ Susana Esquivel,¹ Ronald Sánchez P,³ Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta,² Fernando García^{1*}

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología,¹ Escuela de Biología,² Universidad de Costa Rica, San José, Escuela de Biología,³ Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, San Ramón, Costa Rica

Se han reportado cuatro especies de primates en Costa Rica, incluyendo *Alouatta palliata* (Gray 1849), *Cebus capucinus* (Linnaeus 1758), *Ateles geoffroyi* (Kuhl 1820), *Saimiri oerstedii* (Reinhardt 1872). Sin embargo, la situación actual de dos especies adicionales, *Saguinus geoffroyi* (Pucheran 1845) y *Aotus lemurinus* (Geoffroy 1843) es desconocida. Las primeras tres especies están ampliamente distribuidas a través de todo el país y han sido bien estudiadas desde el punto de vista de su distribución geográfica, nutrición, comportamiento. Sin embargo, son pocos los estudios enfocados en los agentes infecciosos que los afectan y cuál es el impacto que tienen los procesos infecciosos en la estructura de las poblaciones de estos primates. El propósito de este estudio fue estudiar las características de virulencia y de resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas a partir de heces de *A. palliata* (mono congo) en diferentes regiones de Costa Rica.

Se recolectaron 100 muestras de heces de mono congo, las cuales se transportaron a 4°C al laboratorio, donde fueron inoculadas en agar MacConkey conteniendo 10 µg/ml de tetraciclina, 10 µg/ml de gentamicina ó 5 µg/ml de ciprofloxacina. A partir del crecimiento primario en esos medios de cultivo se estableció una colección de 72 aislamientos de *E. coli*, los cuales fueron analizados por resistencia a antibióticos con el sistema ATB, se les determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) diversos antibióticos y se analizaron por la presencia de integrones de clase 1. Finalmente, se determinó el grupo filogenético y la presencia de diversos factores de

virulencia asociados a infecciones extraintestinales en 68 de esos 72 aislamientos. En términos generales, los aislamientos de *E. coli* mostraron relativamente bajos porcentajes de resistencia y, cuando se observa, la resistencia se expresa en bajos valores de CIM. Se destaca la resistencia a cefalotina (75.7%, CIM₅₀ = 24 µg/ml, CIM₉₀ = 256 µg/ml), tetraciclina (23.0%, CIM₅₀ = 4 µg/ml, CIM₉₀ = 256 µg/ml), sulfametoxazol (21.6%, CIM₅₀ = 64 µg/ml, CIM₉₀ = 1024 µg/ml), y amoxicilina (16.2%, CIM₅₀ = 12 µg/ml, CIM₉₀ = 256 µg/ml). En un único aislamiento, denominado *E. coli* UCR867, se detectó la presencia de integrón de clase 1, con un casete de aproximadamente 1500 pb y una estructura completa incluyendo los genes *int*, *qacEΔ1*, *sul1* y *orf5*. Se observó una alta predominancia de aislamientos de los grupos filogenéticos B2 (52.2%) y D (29.0%), con una frecuencia baja de aislamientos de los grupos A (10.1%) y B1 (7.2%). El 88.2% de los aislamientos contenían al menos un factor de virulencia. El marcador para islas de patogenicidad PAI se observó en el 61.8% de los aislamientos estudiados. Otros marcadores de virulencia frecuentemente observados fueron *fyuA* (75%), *ibeA* (36.8%), *kpsMT* (35.3%), *traT* (33.8%). En conclusión, los aislamientos de origen intestinal de *E. coli* muestran poca resistencia, y cuando se presenta, la resistencia se asocia con bajas concentraciones inhibitorias mínimas. La frecuencia de integrones clase 1 igualmente es baja en el grupo de cepas estudiado. Interesantemente, los grupos filogenéticos predominantes encontrados son los B2 y D, los cuales se asocian más frecuentemente a infecciones extraintestinales en seres humanos. En consecuencia, se observaron altas frecuencias en la presencia de varios factores de virulencia

PRINCIPALES PROBLEMAS MÉDICOS QUE AFECTAN LA SALUD DE PRIMATES EN CAUTIVERIO EN CENTROS DE VIDA SILVESTRE DE COSTA RICA

Coordinador: Dr. Mauricio Jiménez

mjimenez@medvet.una.ac.cr

Hospital de Especies Menores y Silvestres

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Participantes: Dr. Mauricio Pereira, Isabel Hagnauer.

El incremento en el turismo, la visita a parques nacionales y el creciente tráfico ilegal, mantienen un constante flujo de animales silvestres de vida libre hacia el cautiverio o un mayor contacto de los mismos con las personas o con especies domésticas. En los últimos años, la tenencia de animales silvestres en cautiverio en forma privada ha generado una diversa presentación de casos que requieren manejo médico de importancia; muchos de estos animales en algún momento de sus vidas terminan siendo entregados en un centro de rescate, zoológico u otro lugar, cuando sus propietarios o encargados se cansan de su cuidado y manejo o por que una vez que crecen no son la misma imagen de lo que se adquirió en un momento inicial. Otro factor que ha interferido son los decomisos y la entrega voluntaria de estos animales, gracias a los programas de concienciación dirigidos al público en general, acerca de porqué estos animales no deben estar en cautiverio y la desaparición de especies nativas de nuestro país. Algunas veces, esta toma de conciencia se realiza de forma tardía, sin embargo, es de suma importancia reconocer que muchos de estos animales aún pueden cumplir un papel en la conservación de cada una de sus especies, dependiendo del manejo que se les dé y los cuidados médicos que se puedan implementar a tiempo. Toda esta problemática nos ha permitido generar mayor información con respecto a las causas más importantes de manejo médico veterinario de muchas especies, entre ellas las 4 especies de primates de nuestro país. Los problemas médicos más frecuentes que se presentan en el manejo de primates son, en orden decreciente:

- a- **Problemas nutricionales:** quizás este sea uno de los puntos de partida de muchas de las enfermedades que se pueden presentar en la vida futura de muchos de los primates en cautiverio y se basan, en primera instancia, en la formulación de dietas inapropiadas o carentes de las cantidad de proteínas que cada especie requiere, esto se puede ver reflejado en la condición corporal de los animales. Además, los hace

predisponer a otras enfermedades que utilizan esta mala condición corporal como foco de entrada.

- b- *Enfermedades infecciosas*: entre las más importantes podemos mencionar los parásitos gastrointestinales y gastroenteritis bacterianas, que cursan con diarreas, anorexia y caquexia.
- c- *Traumatismos*: fracturas con y sin exposición ósea y heridas en piel, que muchas veces se complican con infecciones bacterianas a nivel local y que si no son tratadas a tiempo pueden avanzar sistémicamente.
- d- *Otros*: lesiones en piel por hongos y ectoparásitos, además también animales que se automutilan por problemas de comportamiento (estrés del cautiverio) o parasitosis.

El manejo y la profilaxis médica adecuados (exámenes coproparasitológicos periódicos, hemograma, química sanguínea y hemoparásitos, serología, entre otros) son ejes importantes para la salud de los individuos en cautiverio y en consecuencia, para la conservación de las especies en vida libre, siendo lo primeros contribuyentes para la educación ambiental y para las bases de datos de valores médicos referenciales.

PARÁSITOS INTESTINALES DE PRIMATES EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA: INFORME PRELIMINAR.

Hellen P. Porras Hernández^{1*}, Karen D. Sibaja Morales^{1*}, Jaqueline B. de Oliveira¹, Juan A. Morales², Jorge Hernández Gamboa¹

Expositor - J. Oliveira: jaquelo@medvet.una.ac.cr

¹Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

*Estudiantes de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

²Cátedra de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

El control sanitario es de fundamental importancia para la conservación de los primates en cautiverio. Por lo anterior, en el marco del proyecto de investigación titulado "*Diagnóstico y control de los parásitos de vida silvestre*" (desarrollado por las cátedras Parasitología y Enfermedades Parasitarias y Patología), se ha llevado a cabo el estudio parasitológico y anatómo-histopatológico de especies de primates mantenidos en cautiverio en varios zoológicos del país. Por lo anterior, este informe dice respecto al estudio coprológico realizado en el periodo de junio de 2004 a junio de 2006 en 123 primates de las especies *Alouatta palliata*, *Cebus capucinus*, *Ateles geoffroyi*, *Cebuella pygmaea*, *Saimiri oerstedii citrinellus*, *S. oerstedii oerstedii*, *Saguinus geoffroyi* y *Callithrix jacchus* de 4 zoológicos y de 1 colección privada, ubicados en las provincias de Alajuela (n=3), San José (n=1) y Guanacaste (n=1). Los muestreos fecales fueron realizados con intervalos de 15 días y se llevaron a cabo antes de los periodos de desparasitación programados en cada institución. Las muestras de heces frescas fueron recolectadas durante tres días consecutivos (muestreos seriados) y cada muestra fue procesada por los métodos directo (salina/lugol), flotación, sedimentación y Baermann en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA). De un total de 123 primates evaluados, 82 (66.6%) estaban parasitados por helmintos tales como *Parastrongylus costaricensis*, *Strongyloides* sp., *Trypanoxyuris* sp., *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloidea*, *Prosthenorchis* sp. y Cestoidea; además de los protozoarios *Giardia duodenalis* y *Balantidium coli*. Solamente uno de los primates evaluados presentó diarrea debido al poliparasitismo por *A. lumbricoides* y *G. duodenalis*. Por primera vez se reporta la identificación de larvas de *P. costaricensis* en las heces de *G. geoffroyi*. Además, se discute el riesgo para la salud de los primates infectados así como el manejo sanitario en los zoológicos evaluados.

Calidades:

- e- Doctor Médico Veterinario – Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Brasil
- f- Magister Scientiae (M.Sc.) en Parasitología Veterinaria – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Brasil.
- g- Philosophiae Doctor (PhD) en Parasitología Veterinaria - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Brasil.
- h- Profesor Adjunto de la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos y Silvestre - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Brasil.
*actualmente en licencia sin goce de salario.
- i- Profesor Visitante de la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias – Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Costa Rica (UNA).

RELACIÓN ENTRE PARASITOSIS GASTROINTESTINALES EN PRIMATES Y HUMANOS DE TRES DIFERENTES CENTROS DE VIDA SILVESTRE EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA

Coordinador: Dr. Mauricio Jiménez
mjimenez@medvet.una.ac.cr
Hospital de Especies Menores y Silvestres
Escuela de Medicina Veterinaria
Universidad Nacional de Costa Rica

Participantes: Dra. Julia Rodríguez, Técnico Jorge Hernández, Isabel Hagnauer, Dra. Sonia Gólcher, Dr. Mauricio Pereira.

Dentro del marco del proyecto "Determinación del estado de salud en aves y primates silvestres de diferentes zonas del país", de la Escuela de Medicina Veterinaria (EMV) de la Universidad Nacional, realizado durante el período 2004-2006, uno de los objetivos del mismo fue correlacionar la presencia de parásitos gastrointestinales de los trabajadores (quienes lo realizaron de forma voluntaria) y los de los primates presentes en 3 diferentes centros de vida silvestre en cautiverio en Costa Rica, escogidos al azar, la ubicación de los centros eran región Pacífico Norte, Chorotega y Huetar Norte. En un estudio preliminar se observó que algunas de las condiciones de manejo no eran las más aconsejables, sin embargo, los errores no necesariamente eran los mismos entre un centro y otro. En total se tomaron muestras de heces de 16 personas y 22 primates de 3 especies, *Allouata palliata*, *Cebus capucinus* y *Ateles geoffroyi*. Se trató de colectarlas lo más fresco posible, se identificaron y fueron trasladadas en frío al Laboratorio de Parasitología de la EMV. A todas las muestras se le realizaron 3 diferentes pruebas: examen directo (con solución salina o lugol), sheater (flotación con solución hipersaturada de azúcar) y sedimentación. Del total de muestras humanas, 4 fueron positivas: una para *Entamoeba histolitica*, una para *Ancylostoma spp.* y dos para *Giardia intestinalis*. De las muestras de primates, 13 fueron positivas: seis para *Strongyloides spp.*, cinco para *Oxyurideos spp.*, uno para *Giardia spp.* y uno para *Entamoeba histolitica*. De estos resultados no se logró correlacionar la presencia de los parásitos de los trabajadores con los de los primates, dado que los animales infectados no correspondían al mismo centro (lugar de trabajo) que el de las personas infectadas con el mismo parásito. Se puede concluir que, a pesar de que en muchos de los centros de vida silvestre en cautiverio del país, los trabajadores no cuentan con la debida capacitación con respecto a las medidas de bioseguridad básicas, la infección cruzada por parásitos gastrointestinales no parece ser un proceso activo, sin embargo, no se debe menospreciar su incidencia, ya que algunos parásitos como *E. histolitica* y *Giardia spp.* pueden representar un problema de salud pública. Además, es importante la realización de muestreos señalados, y en forma periódica, de los trabajadores y de los animales, así como la profilaxis médica.

Las medidas de bioseguridad contribuyen a evitar enfermedades tanto zoonóticas como antropozoonóticas. Entre estas medidas se pueden mencionar el uso de guantes de látex para la manipulación de los animales o en caso de contacto con fluidos corporales, uso de

cubrebocas, medidas apropiadas de desinfección, entre otras. Los centros de vida silvestre deben realizar un esfuerzo en relación a este tema, para la capacitación del personal y contar con el equipo básico para protección de los trabajadores y para la limpieza de los recintos.

VALORES SANGUINEOS DE *Ateles geoffroyi*, *Aloutta palliata*, *Cebus capucinus* y *Saimiri oesrstedii* EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA

Meneses A., Jiménez M.

Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica.
ameneses@medvet.una.ac.cr, mjimenez@medvet.una.ac.cr

En los últimos años la presencia de primates del Nuevo Mundo o Platyrrhini en cautiverio se ha incrementado debido a diferentes factores. Las condiciones de manejo, alimentación y el contacto de los animales con las personas, hacen a estas poblaciones susceptibles a trastornos de la salud y es de especial cuidado las enfermedades zoonóticas y antropozoonóticas. El control sistemático y sanitario de las poblaciones en cautiverio es necesario, principalmente cuando se habla de introducción o reintroducción de nuevos especímenes a una colección o a la vida libre, para garantizar el estado de salud, bienestar y conservación de las especies. Los análisis sanguíneos son una herramienta muy valiosa para valorar el estado de salud, para establecer, confirmar o descartar un diagnóstico y en el establecimiento de medidas preventivas. Sin embargo, para la correcta interpretación de los resultados de laboratorio es necesario contar con valores referenciales o normales previos, la obtención de los mismos es complicada ya que factores de tamaño de muestra, especie, raza, sexo, alimentación y manejo deben ser considerados a la hora de su establecimiento. En los primates la creación de bases de datos es compleja ya que las poblaciones al alcance son reducidas, las condiciones de manejo son de cuidado y conllevan anestesia y el valor de cada ejemplar es incalculable. Ante la carencia de referencias sanguíneas en especies silvestres nativas, desde el año 1996 se inició un estudio en los monos de *Ateles geoffroyi*, *Aloutta palliata*, *Cebus capucinus* y *Saimiri oesrstedii* en cautiverio, considerando que son especies nativas y algunas se encuentran en peligro de extinción según CITES. El hemograma, la detección de hemoparásitos, la cuantificación de proteínas totales, albúmina, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), nitrógeno ureico, creatinina, calcio y fósforo son pruebas básicas para valorar el estado de salud en general, el sistema hepático, muscular y renal, por ello son las pruebas que se consideraron a evaluar. Los animales incluidos en el estudio provienen de diferentes centros de rescate o zoológicos y debido a lo anotado anteriormente el tamaño de las poblaciones por especie son diferentes, así mismo las determinaciones realizadas ya que en los animales pequeños se ha obtenido poca cantidad de sangre lo cual ha impedido poder realizar todas las pruebas. El análisis estadístico aplicado a las diferentes variables es descriptivo y debido a la variación en el tamaño de las poblaciones no se realizó un estudio comparativo entre los diferentes grupos. Pero este trabajo permite tener datos referenciales que son útiles a la hora de valorar la condición y estado de salud de otros primates bajo condiciones de cautiverio o vida libre.

NUTRICION DE PRIMATES EN CAUTIVERIO: LOS CASOS DEL ZOOLOGICO NACIONAL SIMON BOLIVAR

Ing. Andrea Brenes Soto
Nutricionista-Programa de Nutrición Animal
Fundación pro Zoológicos

La extracción de fauna silvestre es una problemática que Costa Rica ha vivido durante muchos años, y hasta ahora no se vislumbra que pueda detenerse. La venta ilegal y trasiego de primates que se utilizan como mascotas, ha incidido en animales que viven en casas de habitación, hoteles, fincas, y otros, en la mayoría de los casos con condiciones inapropiadas de manejo, mala nutrición y pocas o nulas prácticas de salud. En algunos casos estos animales se integran dentro de las colecciones de instituciones que manejan animales en cautiverio, sean zoológicos, centros de rescate o refugios, en los cuales ellos deben disfrutar de adecuadas condiciones de manejo. Los primates que se encuentran en el Zoológico Simón Bolívar pertenecen a las especies *Cebus capucinus* y *Ateles geoffroyi*, y todos los individuos ingresaron a la institución como decomisos o donaciones voluntarias. El adecuado manejo de estos individuos en cautiverio es una de las prioridades del zoológico, y por ello existen programas especiales de nutrición animal, medicina preventiva y enriquecimiento ambiental, que se aplican a todos los animales de la colección. El Programa de Nutrición Animal se encarga de varios aspectos entre los cuales se encuentran: evaluación de la condición corporal, análisis de dietas que los animales tenían antes de ingresar al zoológico, corrección de malas costumbres alimenticias y de problemas nutricionales, formulación de dietas balanceadas de acuerdo a sus requerimientos nutricionales diarios, y evaluación de la respuesta animal, entre otros. El campo de la nutrición de animales silvestres en cautiverio se ha estado desarrollando en varios países en los últimos 25 años, enfocado más que todo en grandes mamíferos, y en especies africanas y algunas asiáticas; las especies mesoamericanas han sido de las menos estudiadas en este campo. Tomando como base lo anterior, el Programa de Nutrición Animal del Zoológico, el cual fue instaurado hace alrededor de 10 años, se ha avocado a desarrollar un campo de la ciencia muy nuevo en el país, generando valiosa información en varias especies, muchas de las cuales están en peligro de extinción. Una dieta balanceada incide no sólo en una mayor resistencia de los animales a las enfermedades, si no que también los animales bien alimentados son más longevos y se reproducen mejor, si ese fuese el objetivo. Además, los animales silvestres que no tienen una dieta balanceada en cautiverio en la mayoría de los casos presentan enfermedades nutricionales, tales como deficiencias o toxicidades de nutrientes, obesidad o desnutrición. Con base en los requerimientos nutricionales para primates no humanos del National Research Council, Washington, U.S.A, las preferencias alimenticias que estos animales muestran en vida libre, y el tipo de tracto gastrointestinal que posean, entre otros, se han diseñado fórmulas dietéticas con una alta variedad de productos, evaluando principalmente % de Proteína Cruda, Energía Metabolizable, % Calcio y % Fósforo de la ración, y comparándolos con parámetros tales como condición corporal, salud y longevidad, entre otros. Estos aspectos son los que se desea presentar en la ponencia del Simposio.

GUIA DE CAMPO PARA LA REHABILITACION, LIBERACION Y SEGUIMIENTO DE PRIMATES EN CAUTIVERIO.

MSc. Ronald Sánchez Porras
Programa de Investigaciones del Bosque Premontano (PIBP), Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, Apdo Postal , 111-4250, San Ramón, Costa Rica, ronald.rsr @ gmail. com

A pesar que Costa Rica no es un país de alta biodiversidad en primates no humanos, las cuatro especies registradas con que contamos, se han visto afectadas por un sin número de actividades humanas, que van en crecimiento y que ponen en peligro la sobre vivencia de estas especies en el territorio nacional. La pérdida de hábitat representa el peligro más eminente que

enfrentan estas especies, un fraccionamiento cada vez mayor de nuestros bosques producto de un urbanismo no planificado, un resurgimiento de la ganadería extensiva y un aumento en la producción agrícola de productos como, piña, banano, café, caña de azúcar, hortalizas, plantas ornamentales etc., devoran día a día hectáreas de bosque agravando el problema que enfrenta la biodiversidad en nuestras diferentes regiones. Además en forma colateral muchas especies se ven afectadas por el uso de agroquímicos, cacería ilegal y el tráfico de mascotas, este último ha provocado un mercado creciente y la aparición de "zoológicos familiares" como una moda para deslumbrar a quienes los visitan. El uso de especies en cautiverio también se utiliza para atraer a clientes en diferentes comercios, hoteles o restaurantes que en muchos de los casos no cuentan con las condiciones mínimas para una tenencia adecuada, hablamos de espacio, tipo de jaula, alimentación y ambientación. Estos factores que en la mayoría de los casos son desconocidos por aquellas personas, que se ven en la necesidad de dar una respuesta humanitaria y oportuna mediante los centros especializados en el rescate de la fauna silvestre, son claves para el éxito de sus propósitos.

SITUACIÓN ACTUAL DEL MONO ARAÑA (*Ateles geoffroyi*) EN CENTROS DE TENENCIA DE FAUNA SILVESTRE EN CAUTIVERIO EN COSTA RICA

Hellen Lobo-González¹, Javier Carazo-Salazar²

^{1,2} Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre, Universidad Nacional.

Apdo.1350-3000.Heredia, Costa Rica.

Tel:(506) 818-0665 ¹; (506) 841- 1256 ². Emails: hlobo@una.ac.cr ¹; jcarazo@una.ac.cr ²

Desde mayo de 2006 a abril de 2007 recopilamos información sobre el manejo del mono araña o colorado en cautiverio en 10 centros que mantienen fauna silvestre. Los datos tomados incluyen número de individuos, medidas y materiales del recinto, tipo de piso, comederos, bebederos, y enriquecimiento ambiental. Igualmente se evaluaron aspectos tales como, presencia de asistencia veterinaria, clínica, cuarentena, biólogo regente, permisos del MINAE y rotulación sobre la especie. Se contabilizaron un total 55 individuos distribuidos en 21 recintos. La mayoría de los materiales utilizados en la elaboración de los recintos fueron soportes metálicos (62%) y maya ciclónica (81%), en lugares que poseían más comúnmente piso natural (62%). En cuanto al enriquecimiento ambiental, encontramos comúnmente que la vegetación natural, es reemplazada por barras aéreas de madera (90,5%) y cuerdas (57,1%). Además de esto, se observó que la forma en que se les brinda el agua a los monos, es por medio de recipientes plásticos (57,1%), colocados a nivel del suelo (76,2%); mientras que el alimento se les ofrece sin ningún tipo de recipiente (52,4%), igualmente a nivel del suelo (62%). El 80% de los centros evaluados contaban con permisos del MINAE e igual proporción contaba con asistencia veterinaria. El 60% (6 de 10) de los centros tenían un sitio destinado a cuarentena, 50% (5 de 10) poseían clínica, 40% (4 de 10) contaba con un biólogo regente y 40% (4 de 10) tenía rótulos informativos acerca de los animales. Únicamente el 20% (2 de 10) de los centros visitados tenía un profesional especializado en la nutrición de los animales. Se observó que tan solo el 23,5% de los recintos evaluados cumple con las medidas establecidas por el Reglamento de la Ley de Conservación de la Vida Silvestre. En algunos centros, se observaron especies nativas, exóticas y domésticas compartiendo los recintos junto a los monos arañas. En cuanto a la alimentación, se observó que se suministraba mayormente frutas de la época, trozos de pan y alimento concentrado para perro. En la mayoría de los casos no se poseían registros completos del origen o procedencia exacta de los animales. Se recomienda que los centros de tenencia cumplan con las medidas mínimas de recinto establecidas por animal según MINAE y que se les brinde a los mismos las condiciones mínimas de bienestar, como son el enriquecimiento ambiental adecuado, uso efectivo del espacio de los recintos, disponibilidad de agua fresca y una alimentación balanceada en medios aéreos que incluya algún grado de dificultad para obtenerla. Igualmente, que los sitios cuenten con el personal capacitado y la infraestructura apropiada para el mantenimiento adecuado de esta especie en cautiverio.

MORTALIDAD DE MONOS EN EL PARQUE NACIONAL CORCOVADO

Grace Wong 1, Eduardo Carrillo 1, Ronald Sánchez P 2, Gustavo Gutiérrez³ y Mauricio Jiménez⁴

1 Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre, Universidad Nacional, 2 Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente, 3 Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica y 4 Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

Correo electrónico: awona@una.ac.cr; ecarrill@una.ac.cr; ronald.rsr@amail.com; aautier@bioloaia.ucr.ac.cr; mjimenez@medvet.una.ac.cr

Expositora: **Grace Wong**

Entre setiembre y noviembre del 2005 se reportó para la zona costera del Parque Nacional Corcovado (PNC) y áreas aledañas, la muerte de un número considerable de individuos de las cuatro especies de primates no humanos existentes en el país. Se realizaron dos giras de campo a la Estación Biológica Sirena (PNC) para estimar la mortalidad de primates en el área y obtener muestras, que permitieran evaluar el estado de salud de los monos. En una extensión de 198.5 has. se estimó un porcentaje de mortalidad de 24% para las cuatro especies de monos, no obstante el porcentaje de mortalidad fue mayor para los monos araña (36 %) mientras que la mortalidad para los monos congos se estimó en un 23%, en 18% para los monos carablanca y en un 9% para los monos tití. Se capturaron y colectaron un total de 13 muestras de sangre y heces (cuatro de monos congos, cinco de monos araña, tres de monos carablanca y una de monos tití). Todos los individuos capturados presentaron valores bajos de hematocrito y de pesos, aunque estos últimos valores estaban dentro del rango registrado para las cuatro especies. Se detectó la presencia de larvas de *Cuterebra sp* a nivel de piel y a nivel de heces se encontró huevecillos de ancilostomidos, *Trypanoxiurys sp*, oquistes semejantes a *Cyclospora sp*, quistes de *Giardia sp*. y larvas de nemátodos. A nivel de sangre se encontró el protozooario *Tripanosoma sp.*, probablemente *T. minasense*. Se obtuvo resultado negativo a la presencia de 19 tipos de virus, aunque por prueba de hemaglutinación-inhibición se obtuvo resultado positivo en tres muestras para Encefalitis Equina Venezolana (EEV). No se pudo determinar los factores que causaron la alta mortalidad de monos en la zona Pacifico Sur, no obstante consideramos que un elemento que pudo provocar la situación fue la alta precipitación que hubo en los meses mencionados. La fuerte precipitación pudo afectar la cantidad de alimento disponible para los primates, ya que los pudo haber sometido a un stress que pudo debilitar su condición de salud y producir la muerte de los animales que no estaban en las mejores condiciones. Es necesario monitorear las poblaciones de monos de zonas como el Parque Nacional Corcovado, donde existe una población importante de monos y monitorear variables tales como patrones de abundancia de especies claves para la alimentación de los primates y otras especies frugívoras, así como de variables climáticas para poder entender situaciones como la descrita.

1000 CAPTURAS DE PRIMATES COSTARRICENSES EN ESTADO SILVESTRE

MSc. Ronald Sánchez Porras
Universidad de Costa Rica
Sede de Occidente
Programa de Investigaciones del Bosque Premontano

¿Cómo se inicia en esta aventura?

En 1985 hace veintidós años, siendo un joven biólogo y funcionario del Parque Nacional Santa Rosa, tuve la oportunidad de conocer a un grupo de primatólogos, (personas que se dedican al estudio de los primates (monos) de la Universidad de Alberta Canadá, quienes tienen un proyecto de investigación de los primates del Parque. Dentro de este equipo se encontraba la Dra. Linda Marie Fedigan, el Dr. Larry Fedigan, de grata memoria, el estudiante de posgrado Collim Chagman y el Dr. Kent Glander de la Universidad de Duke. En esa oportunidad el Dr.

Glander quien era el experto en bajar los monos con su rifle de dardos, me da la oportunidad de hacer mi primer tiro con el rifle. El blanco era un mono congo macho, cuyos testículos visiblemente expuestos era la preocupación, ya que el dardo tenía que dar en uno de los muslos de las nalgas del animal. A pesar del temor que para mi representaba el hacerle un daño al animal debido a la falta de experiencia, se me motivó a hacerlo con tan buena suerte que di en el blanco, y el animal cayó minutos después, anestesiado sin ningún otro inconveniente. Lo que me permitió que se me diera la confianza para hacer las capturas y marcaje de los animales, cuando el Dr. Glander no se encontraba en el país. Aquí inicia una aventura que transformaría mi formación profesional sin darme cuenta.

VARIACIÓN GENÉTICA DE LAS CUATRO ESPECIES DE PRIMATES DE COSTA RICA: IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN DE ESTAS ESPECIES.

Gustavo A. Gutiérrez Espeleta^{1,3}, Ronald Sánchez², Misael Chinchilla³ y Grace Wong⁴

¹ Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, ²Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, ³Universidad de Ciencias Médicas y ⁴Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre, Universidad Nacional.

Expositor. Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta

Las poblaciones de monos de las cuatro especies que existen en Costa Rica (mono congo (*Alouatta palliata*), mono colorado (*Ateles geoffroyi*), mono titi (*Saimiri oerstedii*) y mono cara blanca (*Cebus capucinus*)) han sufrido una drástica reducción tanto en distribución como en abundancia. La principal amenaza en contra de estas poblaciones es la fragmentación del hábitat. Sin embargo, otros factores como caza, utilización como mascotas, contaminación, agentes infecciosos y factores genéticos podrían jugar un papel importante en esta amenaza. La pérdida de hábitat reduce el tamaño efectivo de la población y promueve deriva genética, por ende, pérdida de variación genética. Una meta de la genética para la conservación es retener suficiente variación genética para asegurar no solo adaptación local sino adaptación a ambientes cambiantes a través del proceso de Selección Natural, que aumenta opciones evolutivas futuras. Además, la variación genética permitiría mantener la vitalidad reproductiva, resistencia a enfermedades y reestablecimiento en poblaciones naturales. Por tanto, a mayor variación genética mayores las oportunidades de conservación. En este estudio, se procedió a caracterizar la variación genética de estas cuatro especies, entre y dentro de poblaciones en áreas protegidas y con diferentes grados de perturbación. Para esto, se capturaron y liberaron 151 congos, 77 carablancas, 61 monos araña y 40 titis en diversas partes del país. A cada animal se le tomó una muestra de sangre y se procedió a extraer el ADN. Cada una de las muestras fue analizada aproximadamente para cinco microsatélites derivados de primates. En términos generales, se encontraron bajos niveles de variación genética. Esto podría explicarse por los recientes cuellos de botella que concuerdan con cuatro choques históricos de huracanes y epidemias que han sufrido las poblaciones de primates de Centroamérica. Se puede asegurar que estas especies están seriamente amenazadas fundamentalmente por su limitada variación genética, por la continua destrucción de los bosques y por factores estocásticos como podrían ser las catástrofes ambientales y las epidemias. Esta información genética junto con los datos de salud, ecología, comportamiento y nutrición debe permitir establecer los criterios para proteger estas especies y mejorar su condición, todo dentro de un marco de conservación a inmediato plazo.

DIVERSIDAD GENETICA Y EVOLUCION EN EL GENERO *Alouatta*

MSc. Federico Villalobos

El género *Alouatta* contiene la especie *A. seniculus* la cual presenta uno de los niveles de diversidad genética más altos que han sido reportados. Sin embargo, estudios durante los últimos 20 años han mostrado que este género también cuenta con una especie, *A. palliata*, que presenta los niveles de diversidad genética más bajos. Estas estimaciones se han realizado con diversos tipos de marcadores moleculares. Empleando la filogenia del género *Alouatta*, es posible explorar si la diversidad genética de las especies del género están asociadas a alguna característica particular que la pueda influenciar. De esta forma, se exploró si existe una asociación entre sistema de apareamiento de las especies y su respectiva diversidad genética

EFFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT EN LA ESTRUCTURA GENÉTICA Y POBLACIONAL DEL MONO CONGO (*Alouatta palliata*) Y EL MONO CARABLANCA (*Cebus capucinus*) EN LA RESERVA NOGAL, SARAPIQUÍ, HEREDIA, COSTA RICA

Por: Jorge Rodríguez

La destrucción del hábitat que conlleva a la fragmentación de poblaciones de especies silvestres, se considera como uno de los principales factores en la reducción de la diversidad biológica. A medida que las poblaciones de organismos se vuelven más pequeñas, surgen nuevas amenazas para su estabilidad y persistencia. Estos problemas generalmente son el resultado de procesos azarosos o estocásticos. Dichos factores se dividen en cuatro clases: 1) incertidumbre demográfica, 2) variación ambiental, 3) eventos catastróficos y 4) incertidumbre genética o deriva genética. Estas oscilaciones alteran la sobrevivencia y probabilidades reproductivas de los individuos. Los procesos estocásticos pueden llevar a la inestabilidad de las poblaciones. La inestabilidad se traduce en fluctuaciones demográficas y genéticas, que a su vez aumentan la inestabilidad y declive de las poblaciones hasta provocar su extinción. El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos de la fragmentación en la diversidad genética y viabilidad de las poblaciones de mono congo (*Alouatta palliata*) y mono carablanca (*Cebus capucinus*) en la Reserva Biológica Nogal, Sarapiquí, Heredia, por lo cual se realizó un análisis de viabilidad de poblaciones (AVP) de ambas especies. El AVP se realizó en dos partes: 1) comparar escenarios de poblaciones aisladas con escenarios de poblaciones continuas para determinar cuanto afecta la fragmentación a la viabilidad de las poblaciones de monos congo y monos carablanca y 2) realizar un análisis de sensibilidad para determinar cuales son los parámetros demográficos que deberían estudiarse y cuales son las medidas de conservación más importantes para la persistencia a largo plazo de las poblaciones ambas especies. El análisis de viabilidad se realizó con el programa de computadora VORTEX 9.61, utilizando datos de la estructura demográfica y genética de la población en estudio y referencias bibliográficas sobre la historia natural de las especies. También se realizaron varios escenarios que reflejaran posibles eventos que podrían impactar a las poblaciones en términos de extinción, tasas intrínsecas de crecimiento, tamaño poblacional y diversidad genética. Los resultados confirman que tanto *A. palliata* como *C. capucinus* pueden sobrevivir en fragmentos boscosos aislados. Sin embargo, si se incorporan variables como depresión por endogamia, catástrofes o pérdida de hábitat; las poblaciones se vuelven inestables y aumenta el riesgo de que desaparezcan. Por otro lado, la mejor opción de manejo para las dos especies sería la de un escenario con una población continua. Si las poblaciones fueran continuas, todos los parámetros analizados predecirían una mayor estabilidad a largo plazo en comparación a los otros dos escenarios, inclusive al introducir elementos de inestabilidad. No obstante, estos factores sí podrían afectarlas de forma negativa al disminuir los parámetros analizados si se comparan con un escenario que no incluya dichos elementos. De ahí surge la importancia de monitorear las

poblaciones de ambas especies de monos y el manejo de su hábitat para disminuir los efectos negativos de diferentes factores estocásticos provocados por el ambiente.

LOS MONOS DE COSTA RICA COMO MODELO DE ESTUDIO; EVOLUCIÓN Y SIGNIFICANCIA DE ASPM, UN GEN DE DESARROLLO CEREBRAL.

Por: Fernando Villanea Guevara

ESTADO DE CONSERVACIÓN Y DESCENSO DE LAS POBLACIONES DE LOS PRIMATES DE COSTA RICA

MSc. Ronald Sánchez Porras
Universidad de Costa Rica
Sede de Occidente
Programa de Investigaciones del Bosque Premontano

En Costa Rica, antes de la conquista Española (1500) los bosques cubrían alrededor de 49.000 Km² (96%) de su territorio. Para 1940 todavía se contaba con 33.726Km² (66%) del total del bosque primario y las alteraciones se encontraban principalmente en el Noroeste del país y en el Valle Central (OPSA, 1979). Drásticamente el país fue desbastado en las siguientes cuatro décadas, y ya para 1987 solamente se contaba con el 25% (12.775 km² aproximadamente) de nuestros bosques naturales, muchos de ellos ya incorporados al Sistema de Áreas Protegidas, en sus diferentes categorías de manejo. Por los datos anteriores, podemos decir que muchas especies sufrieron en pocos años, producto de un desarrollo acelerado, una pérdida de hábitat mayor a la que sufrieron en más de cuatrocientos años de convivencia entre la especie humana y la naturaleza (Palavicini 2004). La destrucción de hábitat es sin duda, la mayor amenaza que afrontan las poblaciones de primates no humanos alrededor del Mundo, sin embargo, la cacería para una variedad de diferentes propósitos puede ser un factor muy significativo a considerar en las diferentes regiones de nuestro país. Claro que la cacería podría ser una causa más dañina que la destrucción del bosque en ciertas regiones que podrían resultar en la pérdida de poblaciones locales con hábitat potencial (Mittermeier 1987). La tenencia en cautiverio de estas especies como mascotas mantiene un mercado ilegal nada despreciable que se refleja con la tenencia en cautiverio de alrededor de cinco mil individuos, dentro de los que sobresalen el mono cara blanca (*Cebus capucinus*), el colorado (*Ateles geoffroyi*) y el mono tití (*Saimiri oerstedii*) y, en menor número el mono congo (*Alouatta palliata*) debido a su color, su comportamiento y su dieta. La interacción de los primates con el ser humano es otro de los factores que pone en riesgo estas especies. En Costa Rica con el tiempo los primates han aumentado su contacto con los humanos y se han vuelto más accesibles a éste, ejemplos de ello es el contacto de los turistas en los diferentes Parques Nacionales como Cahuita, Manuel Antonio, Palo Verde, Santa Rosa, etc. Esta interacción está también asociada al aumento de la producción agrícola, donde grandes extensiones de bosque se ven sometidas a tala raza para la siembra de productos como el banano, palma africana, cítricos, piña, café, caña de azúcar, arroz, melón, plantas ornamentales y muchas otras más, las que han transformado el paisaje costarricense dejando poblaciones de primates aisladas en el mejor de los casos, y en contacto con los humanos. El uso de agroquímicos para fumigar las plantaciones, el uso indiscriminado de antibióticos en las actividades agropecuarias y un acelerado crecimiento urbanístico sin el control debido han contribuido en una forma acelerada al descenso de la población de primates en Costa Rica. La presente investigación pretende estimar el número de individuos por especie de los primates de Costa Rica, de acuerdo con el área potencial existente, así como las causas de su descenso,

con el fin de establecer una estrategia nacional para su conservación. Se realizaron visitas de campo a las diferentes regiones del país, para localizar grupos de monos, con el fin de establecer el estado de conservación de las especies, estado del hábitat, las amenazas potenciales, así como el grado de interacción de los primates con el ser humano por región. Se obtuvo muestras por medio de la captura, para conocer el estado de salud de los individuos. Se calculó el número de individuos de las especies de primates en el país, se contaron el número de individuos por grupo y se calculó el área (para efecto de este estudio se tomaron los rangos de distribución de las especies). Una vez obtenida el área y el número de individuos, se calculó el Área Potencial Protegida (APP), esto nos dio un subtotal de 1.339.579 has, y se le agregó un 16.53% de aquellas áreas que no están protegidas pero que cuentan con potencial, para un gran total de 1,840,448 has. Se dividió el número de hectáreas entre la cantidad de individuos y se obtuvo el número de hectáreas por individuo, una vez obtenido el valor, se dividió el número de hectáreas potenciales entre el número de hectáreas por individuo y se obtuvo la población (N) aproximada de las especies de primates en el país.

$APP / n^{\circ} \text{ de ind } \times \text{ ha} = N \text{ aproximada}$

Poblaciones Estimadas de Primates en Costa Rica de Acuerdo con el Área Potencial, R. Sánchez 2007

ESPECIE	Área potencial (ha)	Monos / ha	Pobla/ Estimada
<i>Alouatta palliata</i>	1 840448	0.02	36808
<i>Ateles geoffroyi</i>	1840448	0.0039	7217
<i>Cebus capucinus</i>	1840448	0.03	54130
<i>Saimiri oerstedii</i>	145425	0.066	9695

VARIABLES DE HÁBITAT Y PAISAJE QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DEL MONO TITI Y CARABLANCA EN UNA ZONA FRAGMENTADA DEL PACÍFICO CENTRAL DE COSTA RICA

Joel C. Sáenz

Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre, Universidad Nacional

Apartado postal 1350-3000, Heredia, Costa Rica

jsaenz@una.ac.cr

Se evaluó el impacto de las variables de hábitat y paisaje sobre dos especies de primates, el mono tití (*Saimiri oerstedii critinellus*) y el mono carablanca (*Cebus capucinus*) en la Región del Pacífico Central de Costa Rica; mediante un Análisis de Discriminante Canónico (ADC) para determinar cuales variables de hábitat y paisaje explican mejor la presencia/ausencia de los monos. Se realizó una búsqueda intensiva de tropas de monos en todos los fragmentos (45) de bosque del área de estudio (540 km²); adicionalmente, en los fragmentos que fueron difíciles de visitar, se entrevistó a los dueños de las fincas para conocer si ambas especies se encontraban en su propiedad. Se definieron 10 variables de paisaje, tres de vegetación al interior del fragmento y dos variables de la matriz. Se encontraron titíes en 28 fragmentos y carablanca en 30. Los fragmentos con presencia exclusiva de una especie ocurrió en 18 fragmentos, 11 para monos tití, siete para monos carablanca y una presencia conjunta de las dos especies en 21 fragmentos. El número de individuos en las tropas de monos tití varió entre 14 y 80. El 14.3 % de las tropas de tití estuvo formado por más de 50 individuos, el 60.7% (17 tropas) tuvieron entre 25 y 50 individuos y el 25% restante menos de 25 individuos. Las tropas de monos carablanca tuvieron entre 6-17 individuos; sin embargo, el tamaño de la mayoría de las tropas (51.6%) varió de 10 a 15 individuos, mientras que el 38.7% (12 tropas) estuvo conformada por menos de 10 individuos, y muy pocas tropas (3 tropas) con más de 15 individuos. El ADC mostró que el eje canónico 1 (CAN1) explica la presencia de los titíes mediante dos variables, la distancia a los hábitat fuente (bosques continuos) y la presencia de corredores entre fragmentos. Para los carablanca el CAN1 separó dos variables, el tamaño del fragmento y el % de charral en un

radio de 5 km alrededor de sitio de ubicación de los monos, ambos explican la presencia de estos monos en los fragmentos. Al considerarlos los primates como dos grupos separados en el ADC, sólo la variable corredor explica (100%) la presencia de ambos monos. Por otro lado, los tities presentaron diferencias entre los fragmentos con corredor y sin corredor ($X^2=7.248$, $p=0.0067$) ocurriendo la mayoría de los avistamientos en fragmentos conectados por corredores. Se concluye que los tamaños de las tropas no fueron diferentes de los reportados para áreas continuas o bosques protegidos, lo cual hace viable la conservación de estos primates en áreas fragmentadas. Por último se concluye que los fragmentos cercanos a hábitat fuentes y los fragmentos conectados por corredores tienen alta probabilidad de contener tities. Sin embargo, para los monos carablanca es importante el tamaño del fragmento y el porcentaje de charral en la matriz circundante.

ANÁLISIS SITUACIONAL DE MONO TITI EN EL AREA DE AMORTIGUAMIENTO DEL PARQUE INTERNACIONAL LA AMISTAD

MSc. Rodrigo A. Morera Ávila

El presente trabajo se realizó en dos etapas y cada una en secciones diferentes dentro del Área de Amortiguamiento y de influencia del Parque Internacional La Amistad (PILA), las cuales tenían un área comprendida desde Río Cabagra por el Norte, hacia el sureste, margen del río Singri, parte de distrito de Boleo, La Puna. Por el Oeste hasta los cultivos de café cerca de Colorado y El Carmen, al Sureste hasta la Finca Gromaco, por el Sur las comunidades de Javillo, San Carlos y al Suroeste hasta la ladera Sur del río Limón contiguo a la zona de Changuena hasta la desembocadura del río Limón al río Grande de Térraba. Se evaluó la disponibilidad de alimento en general y su relación con el cambio de uso del suelo presente en la zona, tales como agropecuarios, forestales y monocultivos. La cobertura vegetal presente en la zona fue determinada mediante la categorización de los tipos de vegetación de acuerdo con las características de la vegetación presente en el área muestreada, obteniéndose tres categorías, las que a su vez incluyeron otros tipos de vegetación. La primera categoría: incluye la vegetación primaria, secundaria avanzada, y vegetación riparia. La segunda categoría se definió su composición por una vegetación secundaria joven arbustos, además de charrales y breñones los palmares abundantes en la zona y en algunas ocasiones se presenta en parches espesos y casi siempre mezclados con breñones y la vegetación secundaria joven. La tercera categoría son los pastos con árboles aislados, son áreas que en la actualidad están siendo utilizadas para la actividad de ganadería, estas áreas se encuentran distribuidas mayormente en las partes planas contiguas a los ríos y quebradas pero también es posible observar que estas áreas se ubican en lugares con alto grado de pendiente. El total de grupos ubicados fue 54 grupos en 21307.2 ha., la mayoría con rangos de acción en hábitats de vegetación riparia. El total de individuos censados fue de 1638, con una variación desde siete a 68 individuos por grupo para un tamaño promedio de grupo de 37.4. Las hembras adultas fue la mayor categoría en la composición de los grupos con el 36.3%. Mientras que los juveniles con el 26.4 % como la segunda categoría, los machos adultos el 23.6 % y los infantes el 10.4 %. La relación entre hembras adultas y los machos adultos se ubicó en un rango de 0.67 y 2.00. Al evaluar áreas buffer de un Km. radial, se presentan 17 núcleos o áreas, con diferentes grados de cohesión y pocos grupos aislados siendo entonces positivos los flujos de intercambio genético. Se ubicaron grupos a diferentes altitudes en rangos de 100 a 800 m.s.n.m. Consumieron 32 plantas, siendo las de mayor consumo el espavel (*Ancardium exelsum*) en los meses de la estación seca y el caimito (*Crysophillum argentum*) durante los meses intermedios de la estación húmeda.

EVALUACION DEL PAISAJE, EL HABITAT Y LA POBLACION DE MONO TITI (Cebidae: *Saimiri oerstedii oerstedii*) EN LA PENÍNSULA DE OSA COSTA RICA

Daniela Solano Rojas, dsolroj@hotmail.com
Instituto Internacional de Conservación y Manejo de Vida Silvestre
Universidad Nacional

Se evaluó el estado del hábitat y del paisaje del mono tití fuera del Parque Nacional Corcovado en la Península de Osa, durante los setiembre del 2005 a mayo 2006. En 22 sitios boscosos, entre el río Rincón y el río Carate se estudió la composición florística y su estructura horizontal, y se determinó características demográficas de los monos tití (tamaño de tropa y composición de sexos y edades). Se establecieron 63 parcelas, distribuidas entre 22 sitios boscosos, cada una tiene un tamaño de 20 x 50 m (0.1 ha). Para cada sitio se calculó el número de árboles con un DAP mayor a 5 cm. y la riqueza de especies arbóreas (S), la diversidad de la altura del follaje (FHD), el área basal por hectárea (G), la diversidad de DAP (DAPD), así como la diversidad alfa (α) promedio por parcela por sitio. Se identificó 354 especies de árboles y 69 se clasificaron como desconocidos. Los sitios ubicados cerca del poblado de La Palma fueron los más diversos y similares en su composición florística (NMS: estrés final=13.20859; inestabilidad final=0.00001; n° de interacciones=72), Cabinas Tití fue el sitio boscoso con mayor número de especies (S= 64). Todos los sitios boscosos estudiados poseen una estructura disetánea, la mayoría de individuos poseen un DAP menor a 35 cm y se encuentran en el rango de los 5 a 10 metros de altura. Las especies arbóreas más abundantes fueron el Peine'e Mico (*Apeiba tibourbou*), el Guácimo (*Guazuma ulmifolia*), la Guaba de mono o Guabilla (*Inga thibaudiana*), el Guácimo Colorado (*Luehea seemani*) y el Jobo (*Spondias mombin*), frutos de estos árboles son utilizados por los monos tití como alimento. Se elaboró un Mapa de Uso del Suelo 2005, en un área total de 247 Km.² con 16 diferentes clases de uso del suelo. Las clases dominantes son: bosque (7471 ha) y pasto (6218 ha). El área mínima mapeable fue de 0.5 ha. Se sobrepuso una grilla de hexágonos de 30 hectáreas y se evaluó 4 hexágonos por sitio (120 ha). Se calculó métricas de paisaje para cada grupo de 4 hexágonos. Para analizar la relación del tamaño de tropa de monos titís con respecto a las variables de hábitat (DH, FHD, PH), de paisaje (composición boscosa {porcentaje de las categorías bosque, tacotal, charral en la subunidad de paisaje compuesta por 4 hexágonos}, Densidad de Bordes ED: cantidad de límites con relación al área total del paisaje en la subunidad de paisaje compuesta por 4 hexágonos) y presencia de otros primates (*Ateles* y *Alouatta*) se realizó un modelo lineal generalizado (GLM), Modelo de Regresión de Poisson. Se usó el Criterio de Información de Akaike Corregido para muestras pequeñas (AICc) para la selección del mejor modelo, con el cual determinó que el tamaño de las tropas de monos tití está relacionada positivamente con el componente arbóreo (0.8854) y la densidad de bordes (0.3015) y se relaciona negativamente con la presencia de mono araña (-0.2208) (AICc=123.67). Es necesario proteger los bosques secundarios o tacotales fuera del Parque Nacional Corcovado y educar a los pobladores de las comunidades cercanas a los sitios utilizados por el mono tití.

FRUGIVORÍA Y DISPERSIÓN DE SEMILLA POR *Ateles geoffroyi* y *Alouatta palliata* Y SUS IMPLICACIONES EN LA CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD EN LA PENÍNSULA DE OSA, COSTA RICA.

Pablo Riba Hernández¹ y Kathryn E. Stoner². ¹Proyecto Carey, Bahía Drake, Península de Osa, Costa Rica. ²Centro de investigaciones de Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán

Los monos colorados y congos representan los frugívoros arbóreos de mayor tamaño en la Península de Osa. Hasta la fecha se desconoce la importancia de estas especies en la dispersión de semillas en esta zona y la posibilidad que tienen estas especies de suplantar una

a la otra. Se estudió la dieta frugívora de ambas especies en forma simultánea durante un año. Los monos colorados consumieron hasta 52 especies de frutos, mientras los congos consumieron 31 especies. A pesar de vivir en simpatria, estas especies sólo compartieron siete especies de frutos. Estas especies de frutos fueron consumidas en diferente intensidad por ambas especies. Los monos colorados consumieron un mayor número de frutos con semillas grandes (> 25 mm) que los monos congos. Estos datos sugieren que ninguna de las dos especies podría suplantar a la otra en la dispersión de semillas y por ende la pérdida de cualquiera de las dos puede tener consecuencias importantes en la biodiversidad de la Península de Osa.

USO DE COBERTURAS DE VEGETACIÓN POR TROPAS DE MONOS CONGOS (*Alouatta palliata*) Y CARABLANCA (*Cebus capucinus*) EN UN AGROPAISAJE Y PERCEPCIONES DE FINQUEROS CON RESPECTO A LA CONSERVACIÓN DE LOS PRIMATES EN ESPARZA, COSTA RICA"

Marleny Rosales Meda
Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre
Universidad Nacional. marleny_rm@yahoo.com y
marleny.rosales@gmail.com

Los primates pueden brindar información valiosa y necesaria para la conservación a nivel de paisaje debido a que juegan un papel importante en la biodiversidad a nivel de región con su rol de depredadores y dispersores de semillas, polinizadores y agentes de regeneración de los bosques tropicales. El objetivo general de esta investigación es generar información ecológica (uso de coberturas vegetales y estructuras paisajísticas) y etnobiológica (conocimiento ecológico tradicional) de las especies de primates *Alouatta palliata* y *Cebus capucinus* en un sistema agroforestal en Esparza. Los objetivos específicos son: 1) Evaluar el uso que le dan seis tropas de monos congo y seis de monos carablanca a ocho tipos de cobertura vegetal dentro de su área de actividad y en un área buffer (de amortiguamiento) adyacente a ésta, 2) Relacionar la presencia y uso de ambas especies de primates con estructuras del paisaje (fragmentos boscosos, parches de vegetación, corredores y matriz) y características del paisaje (grado de fragmentación y conectividad estructural y funcional) dentro de su área de actividad y en el área buffer, 3) Identificar las percepciones y prácticas favorables y desfavorables de los finqueros locales con respecto a la conservación de los primates en áreas privadas. Cada una de las seis tropas de monos congo fueron seguidas por un total de 22 horas y las seis tropas de monos carablanca, por un total de 25.5 horas cada una. Los resultados preliminares hasta la fecha, muestran que los monos capuchinos utilizan una mayor cantidad de tipos de cobertura vegetal y que su área de actividad es mucho mayor (88 a 408 ha) que la de los monos congos (9 a 21 ha). Ambas especies se les vio utilizar el suelo para desplazarse distancias cortas, y también han utilizado cercas vivas dentro de las fincas (según su disponibilidad), siendo los monos capuchinos quienes han mostrado más frecuencia en estos tipos de desplazamientos. Las doce tropas estudiadas tienen al menos un remanente boscoso dentro de su área de actividad el cual varía en el tipo y tamaño y en general muestran selección al uso de remanentes boscosos (riparios y/o secundarios). Según la percepción local de hombres y mujeres, los monos capuchinos son considerados animales problemáticos ya que causan daño a cultivos de maíz y árboles frutales que son utilizados para alimento. A pesar de ello, el 98% de los entrevistados indicaron que es importante la conservación de ambas especies en el área e identificaron algún tipo de utilidad. Además, se han recopilado varias historias orales comunes para ambas especies de primates en el área, lo cual ayuda a entender las relaciones entre los pobladores locales y los recursos naturales que deben considerarse para futuras opciones de manejo con esta especie. Dicha investigación actualmente está en la fase final de

análisis y es realizada gracias al financiamiento otorgado por el Cleeland Metroparks Zoo, el Cleeland Zoological Society's Scott Neotropical Fund y parcialmente por el proyecto ESIME, GEF-Banco Mundial.

USO DE HABITATS Y PLANTAS IMPORTANTES EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS MONOS CONGOS (*Allouata palliata*) Y CARABLANCAS (*Cebus capucinus*) EN EL BOSQUE TROPICAL SECO, COSTA RICA.

Por: Rodrigo A. Morera Ávila

A través de actividades diarias definidas como búsqueda de alimento, descanso y otras realizadas por los Congos (*Allouata palliata*) y Carablancas (*Cebus capucinus*), evalué la utilización y consumo de especies vegetales en el Parque Nacional Santa Rosa del Área de Conservación Guanacaste. Mediante la fenología de plantas importantes determiné la categorías de alimento (hojas tiernas y maduras, brotes, flores, frutos y "otras" partes y la frecuencia de alimentación estos monos. También fue evaluado el uso de habitats por estos primates. Esta información fue obtenida mediante las observaciones de dos grupos de Congos (1320 h) y dos grupos de carablanclas (1320 h) entre setiembre 1992 y agosto 1993. Durante todo el periodo evaluado los Carablanclas dedicaron mayores porcentajes de tiempo a la búsqueda de alimento 59.8 %, siendo en la estación lluviosa 52.8 % y en la seca 40.7%. Los Congos dedicaron más tiempo al descanso 62.8 % para el periodo anual, con 59.7 % para la estación lluviosa y un 66.0 % para la seca. Se presentaron diferencias significativas ($F=17.9$; $gl=7.88$, $P < 0.0001$) entre el tiempo de consumo de las diferentes categorías de alimento para los Congos en todo periodo, lo mismo para los carablanclas ($F=131.4$; $gl=7.88$; $P < 0.00001$). En invierno los Congos se alimentaron de hojas tiernas en 46.2 % del tiempo, 30 frutos, 9.4 flores, 9.1 hojas maduras, 1.45 brotes y 6.4 de "otras" categorías. En el verano consumieron de 29.6 % hojas tiernas, 8.2 frutos, 30.4 hojas maduras, 6.4 "otras" categorías y 5.3 brotes. No hubo diferencias significativas en el tiempo de consumo de estas categorías en el invierno ni en el verano. El tiempo de consumo de las categorías de alimento empleado por los Carablanclas mostró diferencias significativas ($F = 54.8$; $gl=7.38$; $p < 0.00001$) en invierno y ($F=19.2$; $gl=7.29$; $p < 0.00001$) en verano. El tiempo invertido consumiendo frutos fue similar para las dos estaciones 57.3 y 58.7 % respectivamente. Hubo un descenso importante en el consumo de insectos de 38.4 a 29.6 % del invierno al verano. Los Congos se alimentaron de 42 especies vegetales, seis en porcentajes igual o mayor al 15 % del tiempo de consumo. En cuanto a la frecuencia de uso *Bursera simaruba* presentó los mayores porcentajes en siete meses de los 10 que fue consumida. *Albizia adinocephala* fue utilizada durante 11 meses pero sólo en un mes presentó la mayor frecuencia de uso. Varias especies de *Ficus* fueron consumidas durante 10 meses, ninguno presentó porcentajes mayores de frecuencia. De las 57 plantas consumidas por Carablanclas 13 fueron consumidas en porcentajes mayores o iguales al 15%, la gramínea *Lasearis sorgoides* fue consumida en mayor porcentaje en tres meses, el bejuco *Cissus sicyoides* dos meses y un mes *Karwiskia calderoni*, *Luhea candida*, *Acacia colleinsi*, *Genipa americana*, *Snododendron exelsum*, *Bunchosia biocellata* y *Allophillus occidentales*. Los Carablanclas usaron todos los habitats presentes, el Crecimiento Secundario fue el más usado en las dos estaciones. Los Congos usaron en altos porcentajes el Crecimiento Secundario Avanzado en las dos estaciones.

POBLACIÓN DE MONO CONGO (*Alouatta palliata*) EN ISLA SAN LUCAS, GOLFO DE NICOYA, COSTA RICA

Marleny Rosales Meda

Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre

Universidad Nacional. marleny_rm@yahoo.com y marleny.rosales@gmail.com

Se ha reportado que los monos congos juegan un papel determinante en la regeneración y restauración de hábitats, principalmente en bosques secos del país y, en la actualidad, las poblaciones de monos aulladores están consideradas en peligro de extinción en Costa Rica. En el Refugio Nacional de Vida Silvestre Isla San Lucas –RNVSISL– habita una población de monos congo desde hace 40 años.

Es por ello que el estudio de esta especie en isla San Lucas es importante para formular e implementar acciones de manejo que permitan mejorar la viabilidad de dicha especie y de su hábitat en la isla. La presente investigación es el primer aporte que se realiza para conocer el estado de los monos aulladores en ese lugar y tuvo como objetivos (1) realizar un censo de la población existente e identificar su composición por sexo y edad e (2) identificar algunos de los árboles utilizados como alimento y descanso en época seca.

El registro de la población de aulladores se realizó mediante recorridos en la mañana y tarde durante 11 días, en época seca (17 al 27 de abril). Se visitó, al menos dos veces, todos los remanentes de bosque siempre verde donde podían habitar los monos pero también se realizaron recorridos en los otros tipos de cobertura vegetal.

Durante 65.5 horas de esfuerzo en búsqueda y observación se detectó un total de 112 individuos distribuidos en nueve tropas y un macho adulto solitario. Las tropas estuvieron compuestas por 31 machos adultos (28 %), 38 hembras adultas (34 %), 21 juveniles (19 %), 6 infantes (5 %) y 15 crías (14 %). La media del tamaño de tropas fue de $12,33 \pm 6,5$ y la mediana fue de 11, con un intervalo de 3 a 23 individuos. Todos los individuos fueron detectados en remanentes de bosque siempre verde en árboles de 20 m o más de altura. La densidad estimada de monos congo en Isla San Lucas fue de 0,24 individuos/ha y en el bosque siempre verde en época seca fue de 2,29 individuos/ha. Los árboles utilizados como alimento fueron *Mangifera indica* y *Spondias purpurea* (fruto); *Cassia grandis*, *Bursera simarouba*, *Ficus benjamina*, *Anacardium excelsum*, *Pseudobombax septenatum*, *Albizia saman*, *Tamarindus indica*, *Acacia centralis*, *Desmopsis bibracteata*, *Melicoccus bijugatus* y *Mayterius segoviarum* (hojas). Frecuentemente se les observó descansando en árboles de *Bombacopsis quinata*, *Sideroxylon capiri*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Callycophyllum candidissimum* y *Lonchocarpus* spp.

DISPERSION DE SEMILLAS DEL ARBOL CAREY (*Elaeoloma glabrescens*) POR LOS MONOS COLORADOS: EVIDENCIAS DE LA DEPENDENCIA DE UN PRIMATE PARA LA REGENERACION DE ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA ECONOMICA EN LA PENINSULA DE OSA, COSTA RICA

Pablo Riba Hernández. Proyecto Carey, Bahía Drake, Península de Osa, Costa Rica.

Existen pocos casos en los que se ha documentado la dependencia de especies particulares de frugívoros para la regeneración de especies forestales. El árbol de Carey es una de las especies más importante en la dieta de los monos colorados en la península de Osa, sin embargo, se desconoce que tan importante es este primate para la regeneración de esta especie. Para determinar la importancia de este primate en la ecología de dispersión de semillas y la regeneración de esta especie forestal se monitorearon los frugívoros que visitaron los árboles de Carey durante la época de fructificación del 2004. Se encontró que cuatro mamíferos visitaron

los árboles; *Cebus capucinus*, *Potos flavus*, *Ateles geoffroyi* y *Sciurus granatensis*. De estos los únicos que dispersaron las semillas lejos de los árboles paternos fueron *A. geoffroyi* y *P. flavus*. Sin embargo, el segundo visitó con poca frecuencia los árboles y defecó las semillas bajo la copa de árboles con-específicos. *A. geoffroyi* en cambio, no solo removía la mayoría de los frutos, sino que dispersa las semillas en su mayoría. Además, los árboles que mostraron mayor cantidad de visitas por los monos colorados, mostraron una mayor tasa de dispersión de semillas. Muestreos de la regeneración del Carey a partir de los árboles paternos mostraron que la posibilidad de reclutamiento se incrementó lejos de la copa del árbol, esto sugiere que *A. geoffroyi* juega un papel substancial en el reclutamiento del Carey en la Península de Osa. Para lograr que se dé un manejo forestal adecuado en la zona se debe tomar en consideración la presencia de estos primates.

FLORA BACTERIANA DE LA CAVIDAD ORAL DE los MONOS *Alouatta palliata*, *Ateles geoffroyi* y *Saimiri oerstedii* Y SU PERFIL DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS

Evelyn Rodríguez-Cavallini¹, María del Mar Gamboa-Coronado¹, Carlos E. Rodríguez-Rodríguez¹, Galia Rojas-Contreras¹, Silvia Jiménez-Cuadra¹, Ronald Sánchez-Porras² y Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta³

1. Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.
2. Programa de Investigaciones del Bosque Premontano, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.
3. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

Se estudió la flora bacteriana oral de 60 monos de tres especies de monos de Costa Rica: *Alouatta palliata*, *Saimiri oerstedii* y *Ateles geoffroyi*. Se trabajaron muestras de raspado de dientes y cavidad bucal que se resuspendieron en solución salina estéril para el aislamiento de bacterias aerobias. De esta suspensión se inoculó un tubo con medio Carne Cocida prerreducido para el aislamiento de bacterias anaerobias. Para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos se utilizaron galerías comerciales. En todas las especies estudiadas se encontró mayor cantidad de aerobios que de anaerobios, a diferencia de lo encontrado en la cavidad oral humana. Esto pudo deberse a factores relacionados con las dificultades de toma de muestras para anaerobios, su transporte al laboratorio, o bien a que esa diferencia existe. En las tres especies de monos, las bacterias aerobias más frecuentes correspondieron a bacilos Gram negativos, siendo *Enterobacter* el más frecuente y descrito como uno de los predominantes en la cavidad oral humana. Se aislaron 25 especies bacterianas, pero no se encontró relación entre ellas y alguna de las especies de monos. Los cocos Gram positivos correspondieron a *Staphylococcus* y *Streptococcus* en el caso de monos congo y colorado, mientras que solo a *Staphylococcus* en monos tití; la razón para esta diferencia no está clara. *Clostridium* fue el género de anaerobios más frecuente en las tres especies estudiadas pero en mayor porcentaje al descrito en otras especies de monos. A pesar de que los clostridios no son flora indígena oral humana, son habitantes normales del suelo lo que explicaría este hallazgo. En monos tití *Fusobacterium* fue el segundo género más frecuente y en monos congo y colorado fue *Bacteroides*. Además se aislaron 10 especies de anaerobios, muchas ya descritas anteriormente en monos. Los bacilos Gram negativos aerobios presentaron alta resistencia a cefalosporinas, especialmente a cefalotina. Además, a partir de los monos tití se aislaron cepas resistentes a otras cefalosporinas (cefotina y cefuroxima), así como a aminoglicósidos. Dos terceras partes fueron resistentes a amoxicilina, lo que correlaciona con su amplio uso en el sistema de salud del país. Las tres cepas de *Staphylococcus* de monos tití presentaron mayor multiresistencia que las cepas de monos congo y colorado. Además fueron resistentes a vancomicina, considerado el mejor antimicrobiano disponible para el tratamiento de

infecciones por estafilococos. La resistencia antibacteriana que presentaron los anaerobios fue considerablemente menor que la de los aerobios. En las tres especies la mayor resistencia fue a metronidazole; a penicilina en el caso de los monos congo y colorado y a cefotetan en los monos titi. Se observó resistencia a la clindamicina, antibiótico ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones por anaerobios. Finalmente, los anaerobios también presentaron multiresistencia pero menor a la de los aerobios. La resistencia antimicrobiana en las bacterias de cavidad oral de monos podría explicarse, al menos parcialmente, por la resistencia intrínseca de algunos microorganismos hacia ciertos agentes o a la presencia de sustancias antimicrobianas en el suelo. Sin embargo, los niveles observados en nuestros estudios son altos y similares a los encontrados en poblaciones humanas, lo que sugiere la influencia de una presión selectiva generada por el uso excesivo de antibióticos.

SE PODRAN MANTENER LAS RELACIONES MUTUALISTAS ENTRE PRIMATES Y PLANTAS EN RESERVAS PEQUEÑAS: EL CASO DEL MONO COLORADO EN LA PENINSULA DE OSA, COSTA RICA.

Pablo Riba Hernandez¹ y Kathryn E. Stoner². ¹Proyecto Carey, Bahía Drake, Península de Osa, Costa Rica. ²Centro de investigaciones de Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán.

Debido a efectos antropogénicos la Península de Osa ha sufrido una alta tasa de fragmentación, transformado su paisaje en fragmentos pequeños. Hasta la fecha se desconoce el efecto que puede este proceso en las interacciones mutualista entre primates y plantas, en particular la dispersión de semillas. Evaluamos la frugivoría por *A. geoffroyi* en el Refugio de Vida Silvestre Punta Río Claro. Encontramos que *Ateles* consumió los frutos de 52 de las 70 especies esperadas para la zona de estudio, su dieta incluye un 30% de semillas grandes (> 25 mm), las semillas de todas las especies consumidas fueron tragadas y por ende dispersadas. Aproximadamente un 90% de los eventos de alimentación ocurrieron en bosque primario. A pesar que lo anterior indica que las relaciones mutualistas se mantienen, los monos colorados no se alimentaron todo el año dentro del refugio. Esto sugiere que reservas pequeñas semejantes a nuestro sitio de estudio no podrían mantener poblaciones de primates grandes a largo plazo, y por ende se producirán cambios en la estructura y diversidad. Mayores esfuerzos de conservación se deben enfocar a identificar y monitorear fragmentos de mayor tamaño, para mantener las relaciones mutualistas a largo plazo en la zona.

ANALISIS MORFOLOGICO DE 16 POBLACIONES DEL MONO CONGO *Alouatta palliata* (Cebidae) EN COSTA RICA

Gilbert Barrantes
Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología

En Costa Rica *Alouatta palliata* habita en el bosque seco y lluvioso, principalmente desde nivel del mar hasta 1500 m de elevación. Naturalmente y como resultado de la destrucción de su habitat, muchas de las poblaciones de esta especie se han mantenido aisladas, al menos por varias décadas. Un análisis morfológico detallado de monos de 16 poblaciones reveló que los monos de bosque lluvioso tienen un mayor peso (6.18 ± 1.82 kg) que aquellos que habitan bosques más estacionales (4.89 ± 1.52 kg). Adicionalmente, este análisis mostró que dentro de cada tipo de bosque algunas poblaciones muestran diferencias morfológicas muy marcadas en relación a otras poblaciones, aun entre poblaciones muy cercanas. Este es el caso de las poblaciones de Potrero, Corcovado y la isla de Chira. Es posible que estas diferencias sean el resultado de factores ambientales, como la disponibilidad de recursos alimentarios a través del año, y factores genéticos, como el efecto fundador y deriva génica.

ASPECTOS ANTROPOLÓGICOS DE *Cebus capucinus* EN EL PACÍFICO CENTRAL DE COSTA RICA.

Por: Jéssica Lynch

EVOLUCIÓN Y FUNCIÓN DE LA VISIÓN TRICROMÁTICA RUTINARIA EN PRIMATES

José Esteban Loría Calderón
Profesor de la Sede de Occidente
Universidad de Costa Rica

Trabajo extraído de la publicación:

Peter, L., N. Dominy, Riba, P., Stoner, K., Y. Nayuta, Loría, E., W.Petersen, Rojas, Y., R. Salas, Solís, S., Osorio, D., and B. Darvell. 2003. Evolution and function of routine trichromatic vision in primates. *Evolution* 57(11):2636-2643.

Las diferencias en el canal "rojo-verde" tendieron fuertemente hacia el rojo. Los taxa tricromáticos rutinarios consumieron significativamente una mayor cantidad de hojas "enrojecidas" que los tricromáticos no rutinarios. Pero no se encontraron diferencias significativas para los frutos para este color en este canal, a pesar de que las señales de estos frutos eran más variables. Las diferencias en el canal "azul-amarillo" no tuvieron ninguna tendencia. Los tricromáticos rutinarios escogieron significativamente los frutos más amarillos, mientras que los tricromáticos no rutinarios escogieron las hojas más amarillas. La selección entre cosechas tanto de frutas como de hojas, requiere de una muy fina distinción de color más que de la detección. Diferencias significativas fueron encontradas en el uso de las señales de color "rojo-verde" entre los grupos de primates tanto para frutos y como para hojas, pero las diferencias para la selección tendieron mucho menos hacia la detección. Los tricromáticos rutinarios seleccionaron frutos "rojizos" significativamente más frecuentemente que los frutos adyacentes de colores alternativos, pero seleccionaron significativamente hojas más verdes, a pesar de que estas eran más rojizas que las del fondo. Las diferencias fueron significativas al comparar el total de azúcares entre las frutas consumidas y no consumidas, correlacionadas positivamente con las diferencias en ambas señales de color (rojo-verde: $r = 0.38$, $P < 0.001$, $n = 81$; azul-amarillo: $r = 0.42$, $P < 0.001$, $n = 84$).

ESTRATEGIA NACIONAL PARA LA CONSERVACION DE LOS PRIMATES DE COSTA RICA.

Responsables: Ronald Sánchez-Porras, Gustavo Gutiérrez- Ezpeleta, Grace Wong Reyes. Idalia Valerio Misael Chinchilla-Carmona.

Este documento será el resultado del aporte de muchos investigadores (), y personas involucradas en la conservación y protección de los primates costarricenses, su experiencia y su visión de lo que debe hacerse se plasmará en un documento que se entregará a las autoridades correspondientes para la toma de decisiones.

METODOLOGIA: se establecieron al menos 7 áreas (Salud, Genética, Conservación, Tenencia en Cautiverio, Centros de Rescate, Educación para la Conservación, Investigaciones Futuras) Los participantes al Simposio podrán aportar de acuerdo con su experiencia en cada una de las áreas. Se espera que los asistentes, al final de cada ponencia, puedan escribir en las hojas correspondientes sus aportes, que contribuyan con el objetivo principal de la consulta, para establecer las acciones prioritarias de la estrategia. Partiremos de un objetivo general para la construcción de la estrategia, el cual podrá ser modificado de acuerdo con la información disponible.

Objetivo General de la Estrategia: Proteger los habitats potenciales de los primates para su conservación, de acuerdo con su rango de distribución y la legislación existente, mediante el ordenamiento del territorio, sin poner en riesgo la sobre vivencia de las especies.

Objetivo-s General por Área de Interés: se construirán a partir del consenso de los participantes por área definida del simposio.

La(s) Política (s) cada participante podrá construir sus propias políticas (responde a la pregunta ¿Qué tenemos que hacer? Y para qué) que serán sometidas al grupo de estudio. El grupo definirá la (s) política(s), por consenso que serán presentadas en la plenaria.

La (s) Estrategia(s) se entiende como aquellas tareas específicas a realizar, para poder alcanzar las políticas

Las Acciones responden a cómo lo vamos a hacer, para alcanzar las estrategias.

Los Responsables son aquellas instancias que por ley tienen que velar por el cumplimiento de las acciones.

Actores Relevantes son aquellas instancias que deben coadyuvar en realización de las acciones
(Ver Ejemplo)

CONSERVACIÓN

Objetivo general: Fortalecer la capacidad nacional para la conservación de los primates

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores
Desarrollo de la capacidad nacional de realizar acciones de conservación como complemento a la consolidación de áreas protegidas	Fortalecimiento de la participación del sector académico y privado en actividades de conservación	Consolidar un sistema de áreas protegidas universitario y otro del sector privado	Universidades, SINAC, IDA, Mag, Sector Privado	Universidades Hoteleros, Proyectos Hidroeléctricos Areas protegidas privadas

AREA DE SALUD.

Objetivo general por área de interés

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores

ÁREA DE GENÉTICA

Objetivo general por área de interés

Determinar la variación genética de las Hsp de primates y su distribución en diferentes pobl. del país.

U.V. Arroyo

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores
<i>Realizar un muestreo representativo de las pobl. de primates del país</i>				

TENENCIA EN CAUTIVERIO
 Objetivo general por área de interés

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores

CENTROS DE RESCATE
 Objetivo general por área de interés

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores

EDUCACION PARA LA CONSERVACION
 Objetivo general por área de interés

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores

INVESTIGACIONES FUTURAS
Objetivo general por área de interés

Políticas	Estrategias	Acciones	Responsables	Actores

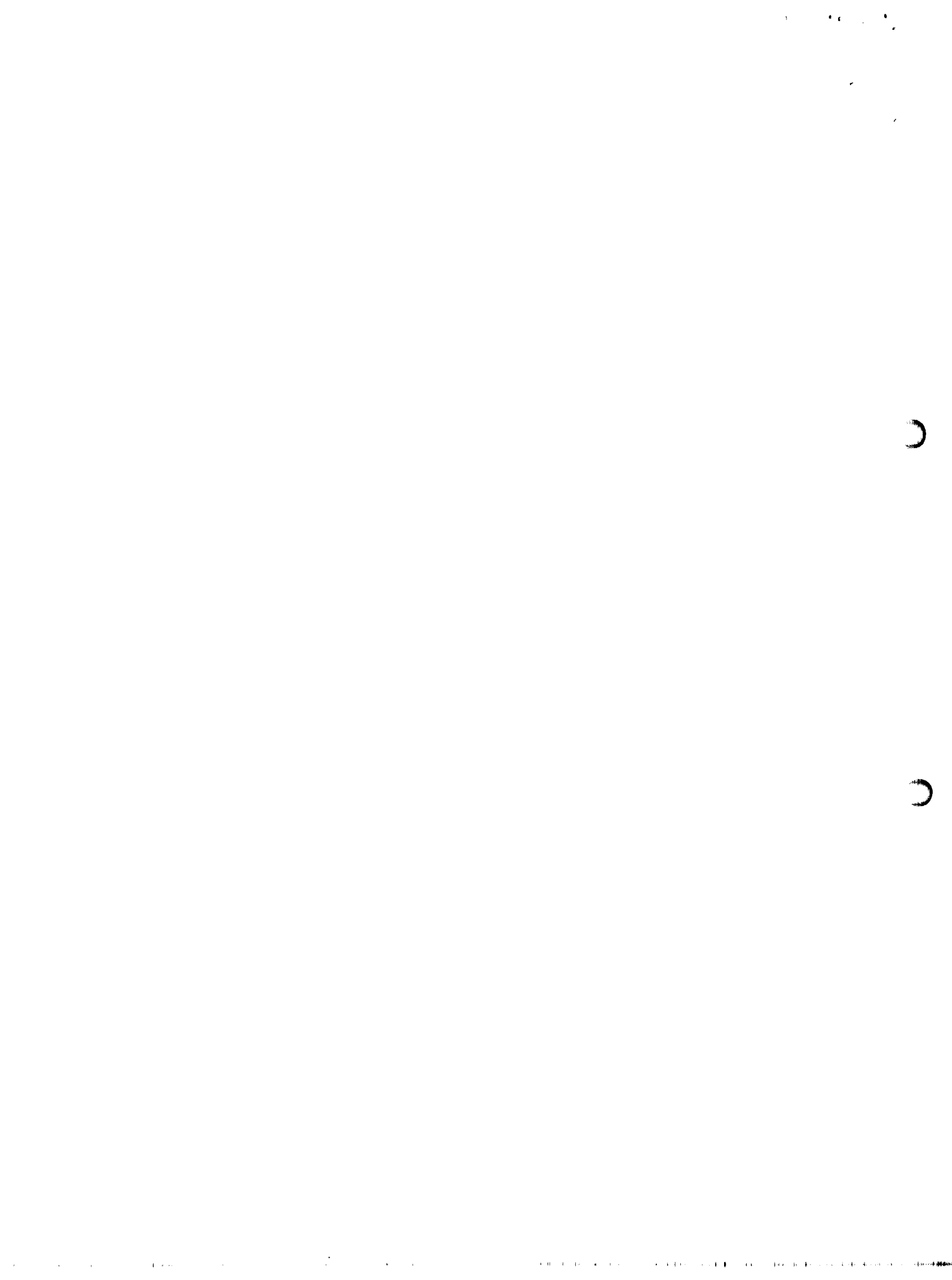
LOS MONOS DE LA SABIDURÍA LE DICEN:



NO
al

**Trasiego
Lucro y
Caza**

de especies silvestres



FUR MITE, *LISTROCARPUS ALOUATTAE* FAIN (ACARI: ATOPOMELIDAE), FROM *ALOUATTA PALLIATA* GRAY (PRIMATES: CEBIDAE) IN COSTA RICA

Adriana Troyo,¹ Mayra E. Solano,¹ Olger Calderón-Arguedas,¹ Misael Chinchilla,¹ Ronald Sánchez² and Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta³

1. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, e-mail: atroyo@cariari.ucr.ac.cr; 2. Escuela de Biología, Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica, Alajuela, Costa Rica; 3. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

ABSTRACT - Preliminary results of a study on ectoparasites of Costa Rican monkeys are presented. Thirty six mantled howler monkeys (*Alouatta palliata* Gray, 1849) and 3 capuchin monkeys (*Cebus capucinus* Linnaeus, 1758) from different zones of the country were examined for ectoparasites. Fur mites of the family Atopomelidae were found on 2 of the individuals of *A. palliata*, which were identified as *Listrocarpus alouattae* Fain, 1972 (Acari: Astigmata). A statistical analysis showed differences between most measurements of these specimens and those described by Fain (1979) suggesting that there are intraspecific variations in *L. alouattae*.

Resumen - Se presentan resultados preliminares de un estudio sobre ectoparásitos de monos de Costa Rica. Se evaluaron 36 monos aulladores (*Alouatta palliata* Gray, 1849) y 3 monos capuchinos (*Cebus capucinus* Linnaeus, 1758) provenientes de diferentes zonas del país. En 2 de los *A. palliata* se encontraron ácaros de la familia Atopomelidae que fueron identificados como *Listrocarpus alouattae* Fain, 1972 (Acari: Astigmata). El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre la mayoría de las medidas de estos ejemplares y las descritas anteriormente por Fain (1979) por lo que se sugiere que existen variaciones intraespecíficas en *L. alouattae*.

Key words - Acari, Atopomelidae, *Listrocarpus*, fur mite, ectoparasite, howler monkey, Costa Rica.

INTRODUCTION

Various arthropods have been described as ectoparasites of primates, including lice, fleas, flies, mites and ticks (Renquist and Whitney, 1987; Colwell and Milton, 1998). There are also reports of fur mites belonging to the family Atopomelidae associated with monkeys (Fain, 1967; Fain, 1972). These ectoparasitic mites have modifications on legs I and II, which allow them to hold on to the host hairs (McDaniel, 1968; Krantz, 1978). There are 64 genera in this family, mainly associated with rodents, marsupials, insectivores, and primates (Fain, 1979). One genus, *Listrocarpus* Fain, 1967, is associated specifically with New World primates in the families Cebidae and Callitrichidae (Fain, 1979).

Four species of primates are reported from Costa Rica: *Cebus capucinus* Linnaeus, 1758 (white faced capuchin), *Alouatta palliata* Gray, 1849 (mantled howler monkey), *Ateles geoffroyi* Kuhl, 1820 (spider monkey) and *Samiri oerstedii* Reinhardt, 1872 (squirrel monkey) (Rodríguez and Chinchilla, 1996). However, the actual status of two additional monkeys *Saguinus geoffroyi* Pucheran, 1845 (rufous naped or Geoffroy's tamarin) and *Aotus lemurinus* Geoffroy, 1843 (night or owl monkey) is currently unknown (Timm, 1988; Mora, 2000). Of these, the first three species are widely distributed throughout the country (Rodríguez and Chinchilla, 1996) and have been well studied including geographical distribution (Massey, 1987; Lippold, 1988), nutrition (Jones, 1983; Happel, 1986) and behavior (Zucker *et al.*, 1996). There are also some reports of copro-parasitological studies (Stuart *et al.*,



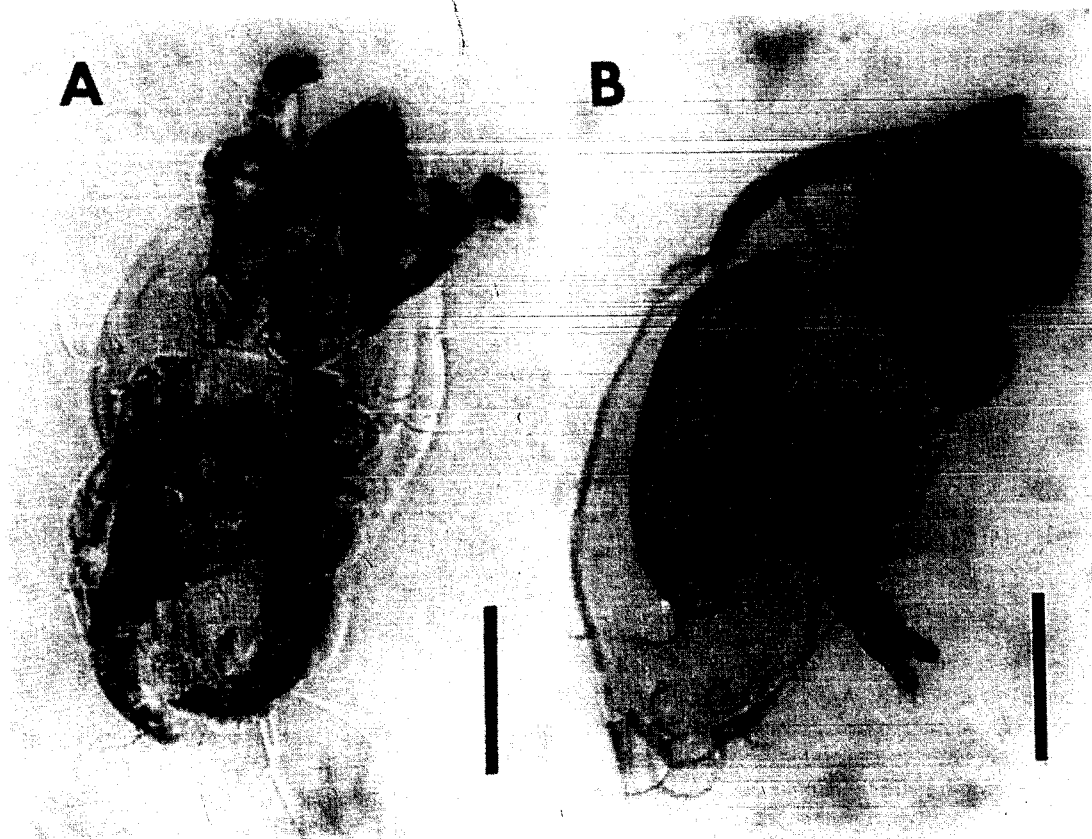


Fig. 1. Atopomelid mites (*Listrocarpus alouattae* Fain, 1972) found on *Alouatta palliata* of Costa Rica - (A) male ventral view, (B) female with egg in lateral view (scale bar = 150 μ m). Fig. 2. Ventral view of male genitalia showing two triangular sclerites (scale bar = 100 μ m)

Table 1. Mean (\bar{X}) and standard deviation (SD) of the key diagnostic measurements (μm) of the fur mites collected, and those described previously for *Listrocarpus alouattae* (Fain, 1979).

Measurement		Specimens collected			<i>L. alouattae</i> *
		\bar{X}	(n)	SD	
Female	1 pdp	183.19	(31)	6.35	190 [†]
	1 sol tt III	30.18	(25)	1.95	25 [†]
	1 sol tt IV	21.79	(24)	3.05	27 [†]
Male	1 tb	41.84	(17)	2.83	36-40 ^{**†}
	1 pdp	136.49	(12)	4.74	150 [†]
	w tt III	25.43	(24)	1.67	21 [†]
	1 tt III	74.00	(25)	1.94	88 [†]

l = length, n = number of observations, pdp = postdorsal plate, sol = solenidion, tb = transversal band, tt = tibiotarsal segment, w = width.

* Holotype female and allotype

**2 Paratypes

[†] statistical difference

[‡] no statistical difference

1990; Stuart *et al.*, 1998; Appleton and Boinski, 1991). However, little scientific research has been conducted on monkey ectoparasites in Central America. Consequently, a study on ectoparasites of Costa Rican monkeys is in progress. The objective of this paper is to present preliminary results for fur mites collected from *A. palliata* and *C. capucinus* monkeys.

MATERIALS AND METHODS

A total of 39 monkeys was studied, 36 *A. palliata* and 3 *C. capucinus* from different zones of Costa Rica: Central Pacific (10), North Pacific (15), Atlantic (11), and Central Valley (3). The animals were sedated with a dart containing Telazol[®] or a mixture of ketamine and xylosine (approximately 0.2 mg/kg). Once on the ground, search for ectoparasites was performed by combing each monkey's hair. The ectoparasites were collected by cutting hair samples, placed in glass vials and transported to the laboratory for further study. The specimens were fixed in 70% ethyl alcohol, cleared and softened in lactophenol for approximately one month. Whole and dissected mites were mounted in Hoyer's medium (Krantz, 1978), dried in an incubator at 37°C for at least 7 days and observed with a light microscope at 100 and 400x.

Family and generic determinations were made using taxonomic keys by Krantz (1978) and Fain (1979). Diagnostic characters were measured and analyzed using Student's T-test (Daniel, 1984). Results were compared to measurements taken by Fain (1979).

Mounted specimens are deposited in the Arthropod Collection, Department of Parasitology, School of Microbiology, University of Costa Rica, San Jose.

RESULTS

The only ectoparasites found were mites that belong to the family Atopomelidae. Specimens were found on two mantled howler monkeys, both from Cahuita, located in the Caribbean coast of the country, in the province of Limón. The mites were associated with the hair and skin surrounding cutaneous lesions. No ectoparasites were found on other primates from other geographical areas.

The adult mites ranged in size from 500 to 650 μm , with distinct characteristics of the genus *Listrocarpus* (Fain, 1967), including a small prodorsal plate, wider than long, and a postdorsal plate, longer than wide. The female had an elongated tubular sperm duct. In the male, the fourth pair of legs was enlarged, directed toward the midline of the body, lacked the terminal stalked discs, and the tarsi were reduced (Fig. 1). Males had a distinct pair of undivided and slightly curved triangular sclerites as part of the genitalia (Fig. 2), which is an important character of *Listrocarpus alouattae* (Fain, 1979).

Statistical analysis showed differences between most of the key measurements of the mite found in Costa Rica and ones previously reported for *L. alouattae* ($p < 0.05$) (Table 1). The measurements reported earlier do not overlap the ranges of those obtained in this study, except for the lengths of the female postdorsal plate and the male transversal band.

DISCUSSION

Some of the reported arthropod ectoparasites of *Alouatta* spp. include the larvae of the bot fly, *Alouattomyia baeri* Shannon and Greene, 1926; the sucking

louse, *Pediculus mjobergi* Ferris, 1916; the biting louse, *Cebidicola semiarmatus* Neumann, 1913 (Stuart et al., 1998); as well as the fur mite, *L. alouattae* (Fain, 1972). There are no records of mite infestations associated with cebids in Costa Rica; the only reported information on ectoparasites concerned larvae of the bot fly *A. baeri* (Zeledón, 1957; Stuart et al., 1998).

Eight of the nine species of *Listrocarpus* have been found on primates, and although some of these mites might be associated with more than one monkey species, *L. alouattae* has been reported only for *Alouatta seniculus* Linnaeus, 1766 from Surinam (Fain, 1979). The fur mite found in Costa Rica on *A. palliata* has been identified as *L. alouattae* mainly by key features present in the male genitalia. Two species, *L. cebi* and *L. alouattae*, have nonsegmented curved triangular sclerites but the sclerites of *L. cebi* are longer and have a hooklike end (Fain, 1979). This character is not present in the genitalia of these mites (Fig. 2). Differences in the male genital sclerites, and the lack of other specific diagnostic features, exclude them from the remaining *Listrocarpus* species.

It is important to note that the keys and descriptions of *L. alouattae* (Fain, 1979) were based on only 5 specimens: 1 holotype (female), 1 female paratype, 1 allotype, and 2 male paratypes. A much larger sample was used in this study (Table 1). Therefore, the differences shown in the statistical analysis between the measurements of the specimens found and those previously described (Table 1) do not exclude them from belonging to the species *L. alouattae*. These differences may be due to intraspecific variations between populations.

The statistical differences in these data could be explained by the fact that the mites found in this study were collected from a different howler monkey species and from another geographical area. Thus, the specimens of *L. alouattae* found in *A. palliata* of Costa Rica could be considered as size variants, probably without taxonomic value. Further studies must be conducted on atopomelid mites in all 6 species of howler monkeys and other New World primates as well.

Considering the fact that little information on *L. alouattae* is available, further studies are in progress.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Drs. Mario Vargas, Facultad de Microbiología, and Hugo Aguilar, Escuela de Agronomía, Universidad de Costa Rica; Ronald Ochoa, Systematic Entomology Laboratory USDA, ARS, PSI, for their critical reviews and helpful suggestions. We are grateful to Dr. Alex Fain, Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, for the confirmation of the species. This work was supported by the Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, project # 111-A1-015.

REFERENCES

- Appleton, C. C. and S. Boinski. 1991. A preliminary parasitological analysis of fecal samples from a wild population of Costa Rican squirrel monkeys (*Saimiri oerstedii*). *J. Med. Primatol.* 20: 402-403.
- Colwell, D. D. and K. Milton. 1998. Development of *Alouattamyia baeri* (Diptera: Oestridae) from howler monkeys (Primates: Cebidae) on Barro Colorado Island, Panama. *J. Med. Entomol.* 35: 674-680.
- Daniel, W. W. 1984. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.* Editorial Limusa, México. 485 pp.
- Fain, A. 1967. Diagnoses d'acariens sarcoptiformes nouveaux. *Rev. Zool. Bot. Afr.* LXXV. 3-4: 378-382.
- Fain, A. 1972. Nouveaux acariens parasites (Sarcoptiformes et Trombidiformes). *Bull. Ann. Soc. R. Belg. Ent.* 108: 242-252.
- Fain, A. 1979. Les listrophorides d'Amerique neotropicale (Acarina: Astigmates) II. Famille Atopomelidae. *Bull. Ins. R. Sci. Nat. Belg.* 51: 1-158.
- Happel, R. 1986. Seed predation by *Ateles geoffroyi* (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Brenesia* 25-26: 261-264.
- Jones, C. B. 1983. Do howler monkeys feed upon legume flowers preferentially at flower opening time? *Brenesia* 21: 41-46.
- Krantz, G. W. 1978. *A Manual of Acarology.* Oregon State University Book Stores Inc., Corvallis, USA. 509 pp.
- Lippold, L. K. 1988. A census of primates in Cabo Blanco absolute nature reserve, Costa Rica. *Brenesia* 29: 101-105.
- Massey, A. 1987. A population survey of *Alouatta palliata*, *Cebus capucinus*, and *Ateles geoffroyi* at Palo Verde, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 35: 345-347.
- McDaniel, B. 1968. The superfamily Listrophoroidea and the establishment of some new families (Listrophoroidea: Acarina). *Acarologia* 10: 477-482.
- Mora, J. M. 2000. *Mamíferos silvestres de Costa Rica.* Editorial UNED, San José, Costa Rica. 220 pp.
- Renquist, D. M. and R. A. Whitney Jr. 1987. Zoonoses acquired from pet primates. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17: 219-240.
- Rodríguez, J. and F. A. Chinchilla. 1996. Lista de mamíferos de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 44: 877-890.
- Stuart, M. D., L. L. Greenspan, K. E. Glander and M. R. Clarke. 1990. A coprological survey of parasites of wild mantled howling monkeys, *Alouatta palliata*. *J. Wild Dis.* 26:547-549.

- Stuart, M. D., V. Pendergast, S. Rumpfelt, S. Pierberg, L. Greenspan, K. E. Glander and M. R. Clarke. 1998. Parasites of wild howlers (*Alouatta* spp.). *Int. J. Primatol.* 19: 493-512.
- Timm, R. M. 1988. A review and reappraisal of the night monkey, *Aotus lemurinus* (Primates: Cebidae), in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 36: 537-540.
- Zeledón, R., O. Jiménez and R. R. Brenes. 1957. *Cuterebra baeri* Shannon y Greene, 1926 en el mono aullador de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 5: 129-134.
- Zucker, E. L., M. R. Clarke, K. E. Glander and N. J. Scott Jr. 1996. Sizes of home ranges and howling monkey groups at hacienda La Pacifica, Costa Rica: 1972-1991. *Brenesia* 45-46: 153-156.

- . 1993b. Feeding ecology of mangrove crabs in north eastern Australia: mangrove litter consumption by *Sesarma messa* and *Sesarma smithii*. J. Exp. Marine Biol. Ecol. 171: 165–186.
- MOLOISKY, J., AND C. K. AUGSPURGER. 1992. The effect of leaf-litter on early seedling establishment in a tropical forest. Ecology 73: 68–77.
- NEWMAN, J. A., J. BERGELSON, AND A. GRAFFEN. 1997. Blocking factors and hypothesis tests in ecology: Is your statistics text wrong? Ecology 78: 1312–1320.
- O'DOWD, D. J., AND P. S. LAKE. 1989. Red crabs in rain forest, Christmas Island: removal and relocation of leaf fall. J. Trop. Ecol. 5: 337–348.
- PETERSON, C. J., AND J. M. FACELLI. 1992. Contrasting germination and seedling growth of *Betula alleghaniensis* and *Rhus typhina* subjected to various amounts and types of plant litter. Am. J. Bot. 79: 1209–1216.
- PROCTOR, J. 1984. Tropical forest litterfall II. The data set. In A. C. Chadwick and S. L. Sutron (Eds.), Tropical rain forest: Ecology and management, pp. 267–273. Supplementary volume. Proceedings of the Leeds Philosophical and Literary Society. Oxford University Press, Boston, Massachusetts.
- READER, R. J. 1991. Control of seedling emergence by ground cover: A potential mechanism involving seed predation. Can. J. Bot. 69: 2084–2087.
- . 1993. Control of seedling emergence by ground cover and seed predation in relation to seed size for some old-field species. J. Ecol. 81: 169–175.
- , AND B. E. BEISNER. 1991. Species-dependent effects of seed predation and ground cover on seedling emergence of old-field forbs. Am. Midl. Nat. 126: 279–286.
- RICE, E. L. 1984. Allelopathy. Academic Press, London, England.
- ROBERTSON, A. I. 1986. Leaf-burying crabs: their influence on energy flow and export from mixed mangrove forests (*Rhizophora* spp.) in northeastern Australia. J. Exp. Marine Biol. Ecol. 102: 237–248.
- , AND P. A. DANIEL. 1989. The influence of crabs on litter processing in high intertidal mangrove forests in tropical Australia. Oecologia 78: 191–198.
- SCOTT, D. A., J. PROCTOR, AND J. THOMPSON. 1992. Ecological studies on a lowland evergreen rain forest on Maracá Island, Roraima, Brazil. II. Litter and nutrient cycling. J. Ecol. 80: 705–717.
- SHERMAN, P. M. 1997. Direct and indirect effects of the land crab *Gecarcinus quadratus* (Gecarcinidae) on seedling density, organic carbon distributions and rooting profiles in Corcovado National Park, Costa Rica. Ph.D. dissertation. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan.
- . 2002. Effects of land crabs on seedling densities and distributions in a mainland Neotropical rain forest. J. Trop. Ecol. 18: 67–89.
- STOCKER, G. C., W. A. THOMPSON, A. K. IRVINE, J. D. FITZIMON, AND P. R. THOMAS. 1995. Annual patterns of litterfall in a lowland and tableland rainforest in tropical Australia. Biotropica 27: 412–420.
- TURKAY, M. 1973. Bemerkungen zu einigen Landkrabben (Crustacea, Decapoda). Bull. Mus. Nat. Hist. (Paris) 142: 969–980.
- TWILLEY, R. R., M. POZO, V. H. GARCIA, V. H. RIVERA-MONROY, R. ZAMBRANO, AND A. BODERO. 1997. Litter dynamics in riverine mangrove forests in the Guayas River estuary, Ecuador. Oecologia 111: 109–112.

Genetic Variation of Mantled Howler Monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica¹

María E. Zaldivar²

Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Jose, Costa Rica

Kenneth E. Glander

Department of Biological Anthropology and Anatomy, Duke University, Durham, North Carolina 27708, U.S.A.

Oscar Rocha, Gabriel Aguilar, Elida Vargas, Gustavo A. Gutierrez-Espeleta

Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Jose, Costa Rica

and

Ronald Sanchez

Universidad de Costa Rica, Departamento de Biología, Sede Regional de Occidente, San Ramón, Costa Rica

ABSTRACT

We examined genetic diversity of howler monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica. Blood samples of howler monkeys were collected at various locations in Costa Rica, and electrophoresis of total plasma proteins yielded no variation. We also conducted starch gel electrophoresis of red cell isozymes and did not find variation for any of the 14 loci analyzed (*i.e.*, ACP, ADA, CA2, EST, GPI, IDH, LDH-1, LDH-2, MDH, PGD, PGM-1, PGM-2, SOD, and TPI). These findings were compared with the levels of genetic variation for *A. seniculus* and *A. belzebul* from one Brazilian population. Four of the 14 isozymes (ADA, GPI, PGD, and SOD) showed more than one allele for these species. Both *A. seniculus* and *A. belzebul* from Brazil showed similar levels of genetic variation. The potential causes of the low genetic variation in *A. palliata* from Costa Rica are discussed.

RESUMEN

Se estudió la diversidad genética de los monos congo (*Alouatta palliata*) de Costa Rica. Se recolectaron muestras de sangre en varias localidades de Costa Rica. El análisis de las proteínas totales del plasma mediante electroforesis no mostró variación. El análisis de las isoenzimas de glóbulos rojos mediante electroforesis en geles de almidón tampoco mostró variación para ninguno de los 14 loci analizados (*i.e.*, ACP, ADA, CA2, EST, GPI, IDH, LDH-1, LDH-2, MDH, PGD, PGM-1, PGM-2, SOD, y TPI). Estos resultados se compararon con los niveles de variación genética en *A. seniculus* y *A. belzebul* de una población de Brasil. Estas especies presentaron más de un alelo en 4 de las 14 isoenzimas analizadas (ADA, GPI, PGD, y SOD). Tanto *A. seniculus* como *A. belzebul* presentaron niveles comparables de variación genética. Se discuten las causas potenciales de la poca variación genética en *A. palliata* de Costa Rica.

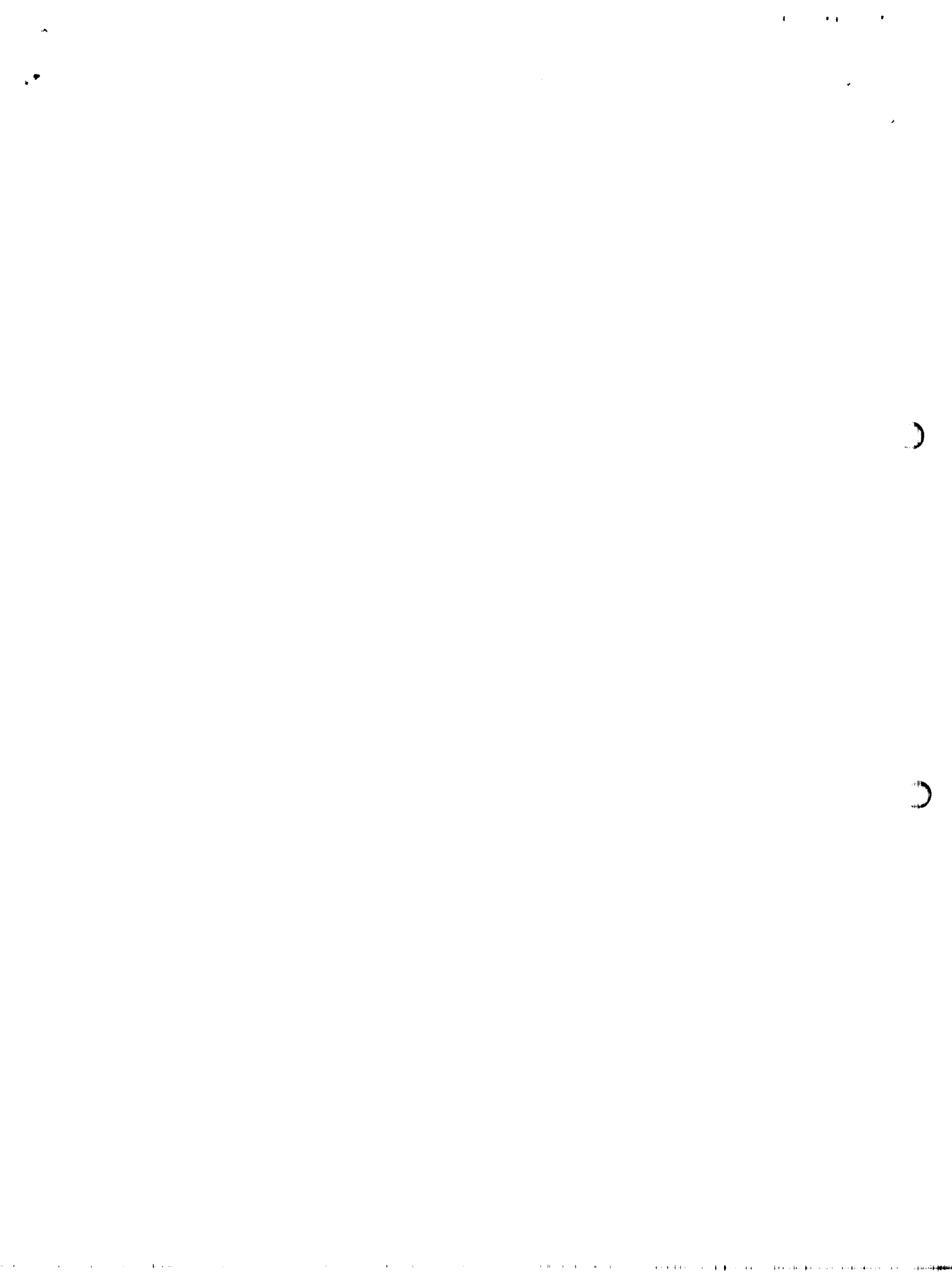
Key words: dispersal; habitat fragmentation; howler monkeys; isozymes; New World monkeys.

CENTRAL AMERICAN HOWLERS (*ALOUATTA PALLIATA* AND *A. PIGRA*) EXHIBIT EXTREMELY LOW LEVELS OF GENETIC VARIATION for plasma proteins and red cell isozymes (Malmgren & Brush 1978, Froelich & Thorington 1982, James *et al.* 1997). This observation contrasts markedly with the high levels of genetic variation shown by howler species from South America (*A. seniculus*, *A. belzebul*, and *A. fusca*; Lima *et al.* 1990, Pope 1992, Sampaio *et al.* 1996).

It has been proposed that the low genetic diversity of Central American howlers is due to the action of random genetic drift (Froelich & Thorington 1982, Pope 1996, James *et al.* 1997). Random genetic drift leads to the loss of genetic diversity within populations (Falconer 1989; Futuyma 1989; Ellstrand & Elam 1993). Under these circumstances, we would expect to find little or no variation within populations. This was the case for the populations described by Malmgren and Brush (1978), Froelich and Thorington (1982), and James *et al.* (1997), and for those reviewed by Pope (1996). At the same time, random genetic drift promotes genetic differentiation between popula-

¹ Received 28 May 2002; revision accepted 24 August 2003.

² Corresponding author: Tel. (506) 207-4644, Fax (506) 207-4216, e-mail: marizaldivar@hotmail.com



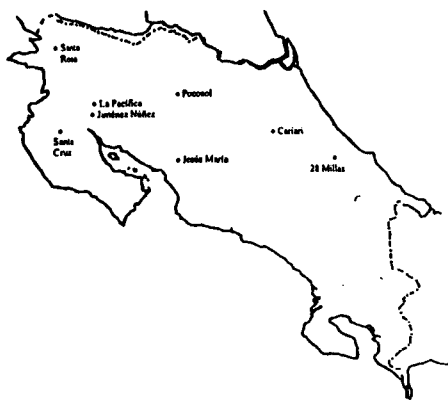


FIGURE 1. Location of study sites in Costa Rica, Central America.

tions since different alleles become fixed in each population (Falconer 1989, Futuyma 1989, Ellstrand & Elam 1993). Based on this, we would expect to find variation between populations. This issue has not been addressed in previous research studies.

We conducted electrophoretic analyses for plasma proteins and red cell enzymes to characterize genetic variation in mantled howlers (*A. palliata*) from different sites within Costa Rica. We also did a comparative study between Costa Rican mantled howlers and Brazilian red howlers (*A. seniculus*) and red-handed howlers (*A. belzebul*). The possible causes for the low levels of genetic variation in Costa Rican mantled howlers (*A. palliata*) are discussed.

MATERIALS AND METHODS

STUDY SPECIES.—Mantled howlers (*A. palliata*) are one of the most variable of the six howler species, ranging in adult body size from 4.5 to 9.8 kg for males and 3.1 to 7.6 kg for females (Ford & Davies 1992). They are strict herbivores and eat mostly leaves and fruits from a variety of tree species, showing a very flexible diet (Glander 1978, 1981; Chapman 1987, 1990, Crockett & Eisenberg 1987). Mantled howlers are found from southern Mexico to northern Ecuador (Wolfheim 1983) and live in a wide variety of habitats, including deciduous, riparian, evergreen, and montane forests (Crockett & Eisenberg 1987). They can occupy altered environments, including small patches of forest neighboring agricultural and urban areas.

SAMPLE COLLECTION.—Blood samples were collected from several mantled howler sites in Costa Rica during a period of four years, starting in 1993 (Fig. 1). Table 1 lists the name of the site, the region within which it is located, and the number of samples collected at each site. Most samples came from the Guanacaste region, located on the northwestern side of the country. It has seasonal rains and vegetation typical of lowland deciduous and semi-deciduous dry forests (Holdridge 1967, Janzen 1983). The sample sites were: Santa Rosa National Park, the largest protected area in the region; La Pacifica, a private cattle ranch, tourist resort, and forest reserve (this population has been studied by KEG since 1970); Jimenez Nuñez, an agricultural station with a small forest reserve at the time of the study; and Santa Cruz, a cattle ranch near the town of Santa Cruz.

The Atlantic Region, on the eastern side of the country, receives a greater amount of rainfall and the populations studied are from areas with vegetation typical of lowland rain forests (Holdridge 1967, Janzen 1983). Blood samples were collected at three sites: La Suerte, a field station and former cattle ranch; 28 Millas, a banana plantation; and Pocosol, a cattle ranch.

The Central Region included only one site, Rio Jesus. This site is at a higher elevation, with vegetation typical of premontane humid forests (Holdridge 1967, Janzen 1983), and is highly disturbed. The troop sampled occupied a 5 ha fragment of forest neighboring coffee plantations and pastures.

All sampled populations were located at least 30 km from each other, with the exception of Jimenez Nuñez and La Pacifica, which were ca 15 km from each other. Also, the Atlantic and Pacific Regions are separated by a mountain range running along the center of the country in a north-south direction.

Samples were collected using standard dart gun techniques (Glander *et al.* 1991). Animals were anesthetized with Telazol (tilethamine hydrochloride and zolazepam hydrochloride) and 5 ml of blood was drawn from their femoral vein using a vacutainer with ICD (isocitrate dextrose) or EDTA as an anticoagulant. Animals were allowed to recover and were then released at the site of capture. The samples were kept cold until processing in the laboratory. Once in the laboratory, the blood samples were centrifuged at low speed for ca 15 minutes to separate plasma, white cells, and red cells. The red cells were washed twice with isotonic 9 percent saline solution. Each fraction was stored separately at -20°C .

In order to conduct a comparative study between Central and South American howler monkey species, ten samples of red cells from each of two South American species, Brazilian red howlers (*A. seniculus*) and red-handed howlers (*A. belzebul*), were also included in the analyses. These samples came from the same geographical area in the state of Pará.

ANALYSIS OF TOTAL PLASMA PROTEINS.—Plasma proteins of *A. palliata* were analyzed according to their molecular weight using acrylamide gel electrophoresis. A total of 137 samples was analyzed. We followed the procedure described for the Biorad Protein II system, using 7.5 percent acrylamide gels. The electrophoresis was performed at 200 volts for about five hours. Total plasma proteins were

stained with Coomassie Blue. We used a medium-weight molecular marker from Promega to identify the size of the proteins analyzed.

ANALYSIS OF RED CELL ISOZYMES.—Red cell isozymes were analyzed using standard starch gel electrophoresis following the methods described by Harris and Hopkinson (1978), Richardson *et al.* (1986), and Lima *et al.* (1990). A total of 76 samples of *A. palliata* was analyzed; only 30 samples from La Pacifica were included in these analyses (Table 1). We also analyzed 10 samples of *A. belzebul* and 10 samples of *A. seniculus*. We examined 14 loci, namely ACP, ADA, CA2, EST, GPI, IDH, LDH-1, LDH-2, MDH, PGD, PGM-1, PGM-2, SOD, and TPI. We used 9–11 percent starch gels. All electrophoreses were run overnight at constant voltage (60–75 volts). We followed the staining procedures recommended by Harris and Hopkinson (1978). For multiple loci in the same isozyme system, the most anodal isozyme was arbitrarily numbered "1," with the remaining loci numbered sequentially. The different alleles for each isozyme (locus) were identified in a similar fashion; the most anodal allele was arbitrarily identified as "A," with the remaining alleles identified sequentially.

Genetic analyses were conducted using the program POPGENE 1.61 (Yeh *et al.* 1999). Using the data from the red cell isozyme electrophoresis, we determined the levels of genetic diversity for each species using common indicators, such as observed number of alleles, effective number of alleles, Nei's diversity index, and the Shannon diversity index. Population differentiation was estimated using Nei's genetic distance between all possible pairs of populations and Wright's F-statistics, determined using the infinite allele model F_{IT} (Weir & Cockerham 1984).

RESULTS

ANALYSIS OF TOTAL PLASMA PROTEINS.—The analysis of total plasma proteins discriminated mostly proteins weighing more than 40 kDa. The resolution of our gels was not good enough to determine variation in smaller-size proteins. Our data revealed no genetic variation in total plasma proteins of *A. palliata*, as all the individuals examined showed the same banding pattern.

ANALYSIS OF RED CELL ISOZYMES.—The analysis of red cell enzymes also showed that *A. palliata* was monomorphic for all loci; *i.e.*, all individuals examined showed the same electrophoretic pattern.

TABLE 1. Number of samples of *Alouatta palliata* from each location.

Species, Site	Geographical coordinates	Number of samples
<i>A. palliata</i> , Costa Rica		137
GUANACASTE		
La Pacifica	10°46'N, 85°13'W	91
Jimenez Nuñez	10°25'N, 85°12'W	15
Santa Cruz	10°25'N, 85°59'W	10
Santa Rosa	10°83'N, 85°61'W	6
CENTRAL PACIFIC		
Rio Jesus	10°03'N, 84°52'W	7
ATLANTIC		
28 Millas, Limón	10°09'N, 83°38'W	6
Cariari, Limón	10°37'N, 83°74'W	1
Pocosol, San Carlos	10°36'N, 84°65'W	1

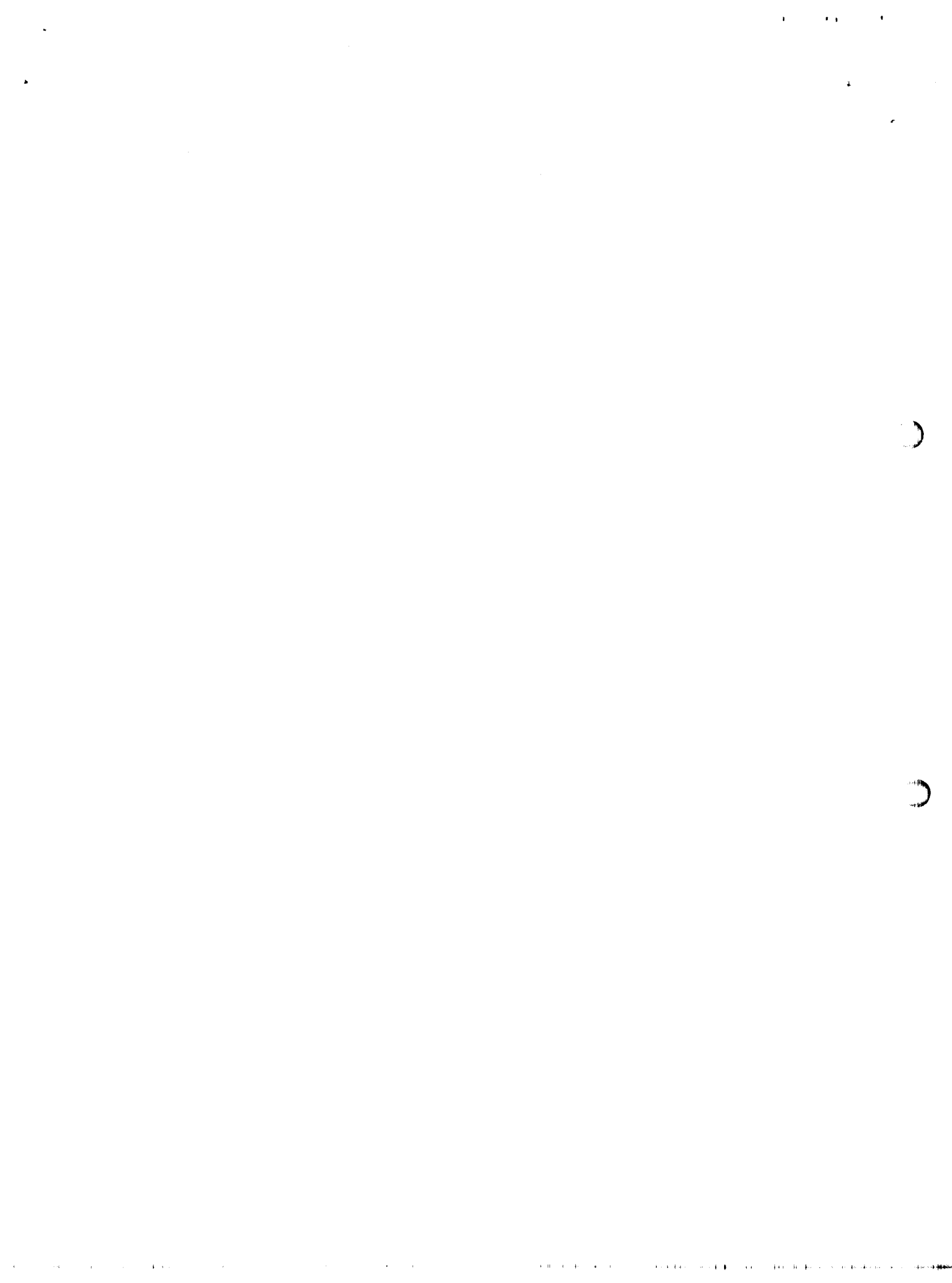


TABLE 2. Allele frequencies for the red cell enzymes analyzed for each *Alouatta* species.

Enzyme	Allele	Species		
		<i>A. palliata</i>	<i>A. seniculus</i>	<i>A. belzebul</i>
ACP	A	1.00	1.00	1.00
ADA	A	1.00	0.90	0.95
	B	0.00	0.10	0.05
CA2	A	1.00	1.00	1.00
EST	A	1.00	1.00	1.00
GPI	A	1.00	0.80	0.60
	B	0.00	0.20	0.40
IDH	A	1.00	1.00	1.00
LDH-1	A	1.00	1.00	1.00
LDH-2	A	1.00	1.00	1.00
MDH	A	1.00	1.00	1.00
PGD	A	1.00	0.55	0.30
	B	0.00	0.45	0.70
PGM-1	A	1.00	1.00	1.00
PGM-2	A	1.00	1.00	1.00
SOD	A	1.00	0.65	0.90
	B	0.00	0.35	0.10
TPI	A	1.00	1.00	1.00

Unlike the Costa Rican mantled howler, both South American species, red-handed howlers (*A. belzebul*) and red howlers (*A. seniculus*), showed genetic variation for 4 of the 14 loci examined (ADA, GPI, PGD, and SOD). Table 2 shows the frequency of the most common red cell alleles for each species. For all enzymes studied, the alleles observed in mantled howlers (*A. palliata*) were also observed in the South American species (*A. seniculus* and *A. belzebul*); however, both South American species exhibited additional alleles not found in *A. palliata*.

Table 3 shows the value of common indicators of genetic diversity, such as observed number of alleles, effective number of alleles, expected heterozygosity, Nei's diversity index, and the Shannon diversity index. All indicators of diversity show comparable values for *A. seniculus* and *A. belzebul*. As mentioned before, *A. palliata* showed no genetic variation for all of the red cell enzymes that were studied.

TABLE 3. Indicators of genetic diversity for each *Alouatta* species.

Indicator	<i>A. palliata</i>	<i>A. seniculus</i>	<i>A. belzebul</i>
Mean observed no. alleles	1.00 ± 0.00	1.29 ± 0.47	1.29 ± 0.47
Mean expected no. alleles	1.00 ± 0.00	1.18 ± 0.34	1.14 ± 0.30
Expected heterozygosity	0.00 ± 0.00	0.11 ± 0.19	0.09 ± 0.17
Nei's gene diversity	0.00 ± 0.00	0.10 ± 0.18	0.08 ± 0.16
Shannon diversity index	0.00 ± 0.00	0.15 ± 0.27	0.13 ± 0.24

TABLE 4. Unbiased Nei's genetic identity (above the diagonal) and genetic distance (below the diagonal) for the three species of *Alouatta* in this study.

Species	<i>A. palliata</i>	<i>A. seniculus</i>	<i>A. belzebul</i>
<i>A. palliata</i>	*****	0.9746	0.9526
<i>A. seniculus</i>	0.0257	*****	0.9895
<i>A. belzebul</i>	0.0425	0.0106	*****

The estimated F_{st} value for the three species was 0.2478 (Weir & Cockerham 1984), indicating high levels of genetic differentiation among the three species. Genetic distance between both South American species was smaller than the distances between each of these species and *A. palliata* from Costa Rica. Table 4 shows Nei's unbiased estimates of genetic identity and genetic distance among these species.

DISCUSSION

The results presented here revealed no genetic variation in total plasma proteins and red cell isozymes among individuals or among sites for Costa Rican howler monkeys (*A. palliata*). All individuals examined showed the same banding patterns for total plasma proteins and all 14 loci of red cell isozymes analyzed.

Other studies have also found low levels of genetic variation for Central American howler monkeys. For example, Malmgren and Brush (1978) studied the levels of genetic variation among 132 individuals from the population of La Pacifica, Costa Rica, using two-dimensional electrophoresis. They found variation for 2 out of 15 loci, including MDH. Froelich and Thorington (1982) studied 80 individuals from the population on Barro Colorado Island, Panama. They reported variation for two serum proteins and one red cell enzyme, ADA. James *et al.* (1997) studied 41 black howlers (*A. pigra*) from Belize and found variation for 2 out of 36 loci, including GPI. Overall, our results

agree with findings for other Central American populations of howlers, although we found lower levels of genetic variation than those previously reported; all *A. palliata* individuals examined by us were monomorphic for total plasma proteins. In addition, all red cell isozymes were monomorphic, including MDH, ADA, and GPI, which were found to be variable in the studies previously cited.

More recent studies using eight microsatellite loci and including samples from Panama, Costa Rica, and Mexico, found that *A. palliata*, on average, has little genetic variation, and there is a northern decline in genetic diversity (Ellsworth & Hoelzer 1998, Ellsworth 2000). The population from Panama, in the southern range of the species distribution, showed the greatest genetic variation and the population from Mexico, in the northern range, showed the least.

Previous genetic studies of South American howler species led us to expect high levels of genetic variation. Lima *et al.* (1990) and Sampaio *et al.* (1996) found that *A. seniculus* and *A. belzebul* from various populations within Brazil showed variation for the same loci found to be variable by us. In addition, *A. belzebul* was polymorphic for EST, CA2, IDH, and LDH, and *A. seniculus* was polymorphic for EST, CA2, and MDH (Lima *et al.* 1990, Sampaio *et al.* 1996). Pope (1992) also found that *A. seniculus* from Venezuela was polymorphic for PGD, ADA, GPI, and two serum proteins (*i.e.*, Tf and an unidentified protein). Contrary to our results, she found that *A. seniculus* from Venezuela was monomorphic for SOD. Overall, the levels of isozyme variation that we found for *A. seniculus* and *A. belzebul* from Brazil concur with the results reported for these same groups, although we found fewer polymorphic loci (ADA, GPI, PGD, and SOD), but we also had smaller sample sizes.

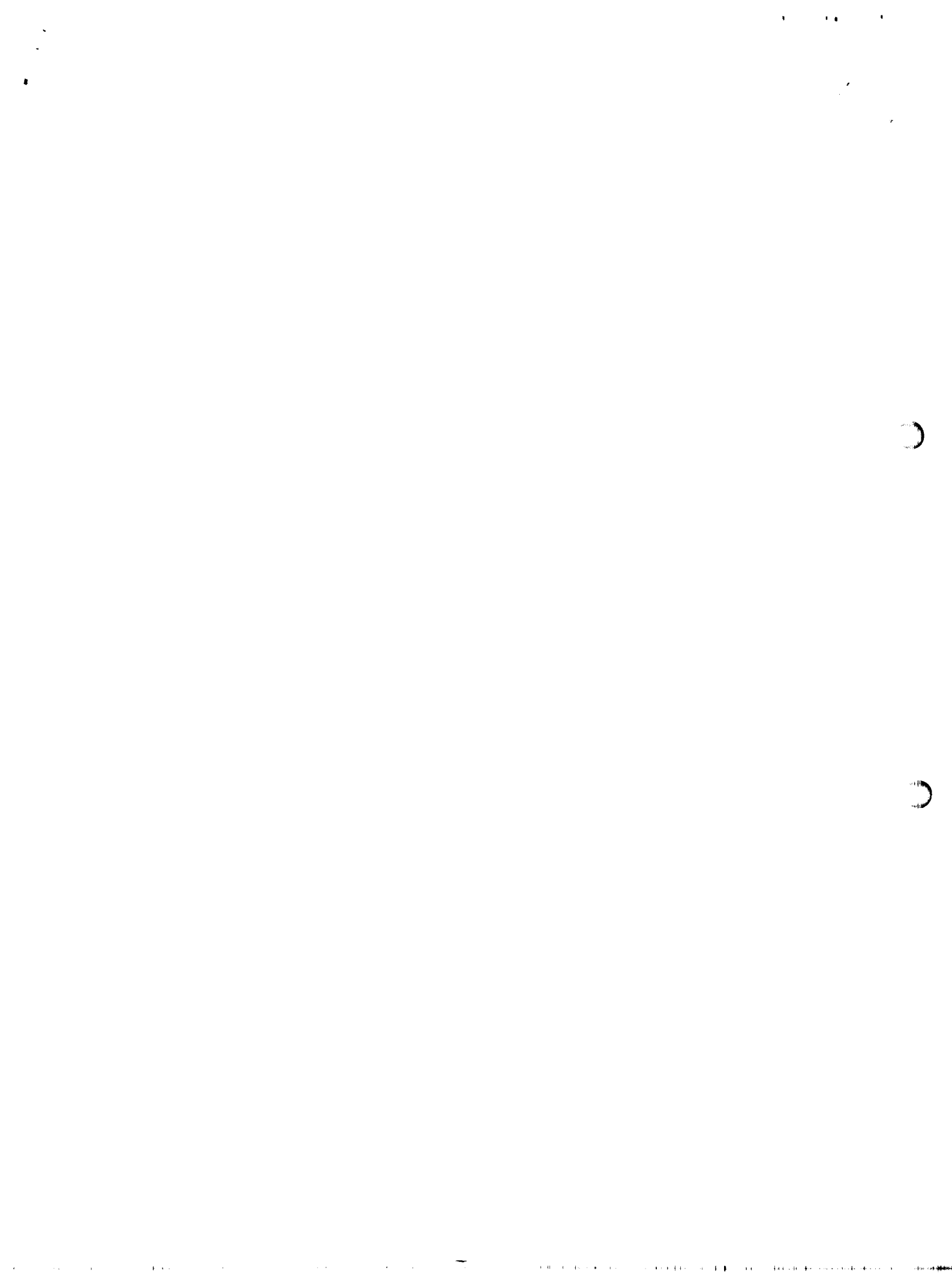
The lack of genetic variation in Costa Rican howlers contrasts greatly with the high diversity of their South American sister species. Our comparative approach enables us to state that Costa Rican howlers show significantly less isozyme variation than howlers from one of the populations studied by Sampaio *et al.* (1996) in Brazil. We should point out that the alleles present in Costa Rican howlers were also shared by their Brazilian sister species, but the latter had additional alleles not found in howler monkeys from Costa Rica. These findings match the results obtained by Ellsworth (2000) in a comparative study using microsatellite markers. Ellsworth (2000) found that Central American howlers exhibited lower genetic diversity than a small sam-

ple of *A. seniculus* from the site studied by Pope (1992) in Venezuela.

The lack of genetic variation in mantled howlers from Costa Rica also contrasts with the genetic diversity of other cebids from the same region. With the exception of mantled howlers (*A. palliata*), cebids from Costa Rica show a degree of genetic diversity comparable to that of their South American sister species. Elsewhere, we have recorded genetic diversity estimates for squirrel monkeys (*Saimiri oerstedii*), spider monkeys (*Ateles geoffroyi*), and capuchins (*Cebus capuchinus*, Zaldivar *et al.*, pers. obs.).

Our findings fail to support the hypothesis that the low genetic diversity is due to multiple population crashes resulting from the yellow fever epidemics or other catastrophic events within Costa Rica. First, we did not find variation between populations, as we would have expected based on this hypothesis. Perhaps comparisons on a broader geographical scale or larger sample sizes would be necessary to test this hypothesis. Nevertheless, using the same technique, we were able to detect genetic variation in smaller samples of *Alouatta* species from South America and in squirrel monkeys (*S. oerstedii*) and spider monkeys (*A. geoffroyi*) from Costa Rica (Zaldivar *et al.*, pers. obs.). Second, howlers are no more vulnerable to yellow fever than other Costa Rican primate species; major yellow fever epidemics would be expected to affect other primate species from the region as much as howlers (D. Leandro, Zoologico Nacional Simón Bolívar veterinarian, pers. comm.). Moreover, these epidemics also occurred in South America. Hurricanes and natural catastrophes, also proposed as another cause resulting in population crashes, are also equally likely to affect all four nonhuman primate species from Costa Rica.

We suggest that the low levels of genetic variation in Central American howlers result from a founder effect during colonization of the Central American isthmus, followed by a rapid population expansion within Central America. A rapidly expanding small founder population of howlers would retain low levels of genetic variation. Later migrants, outnumbered by the descendants of the initial founders, would not contribute much to the genetic pool of this species. A model similar to this was proposed by Hewitt (1996) to explain the genetic effects of Pleistocene ice ages in Europe and North America using the meadow grasshopper (*Chorthippus parallelus*) as a paradigm. The life history traits of mantled howlers, particularly their high fecundity and their flexible diet and social system, enable them



to rapidly colonize a wide variety of habitats and experience high rates of population growth. Recent research by Fedigan *et al.* (1998), Fedigan and Jack (2001), and Clarke *et al.* (2002), have shown that howlers are capable of very rapid rates of population growth following habitat disturbance or habitat regeneration. This explanation is consistent with that proposed by Ellsworth (2000), who concluded that her genetic data support the colonization of Central America by howlers from northern South America via a series of founder effects.

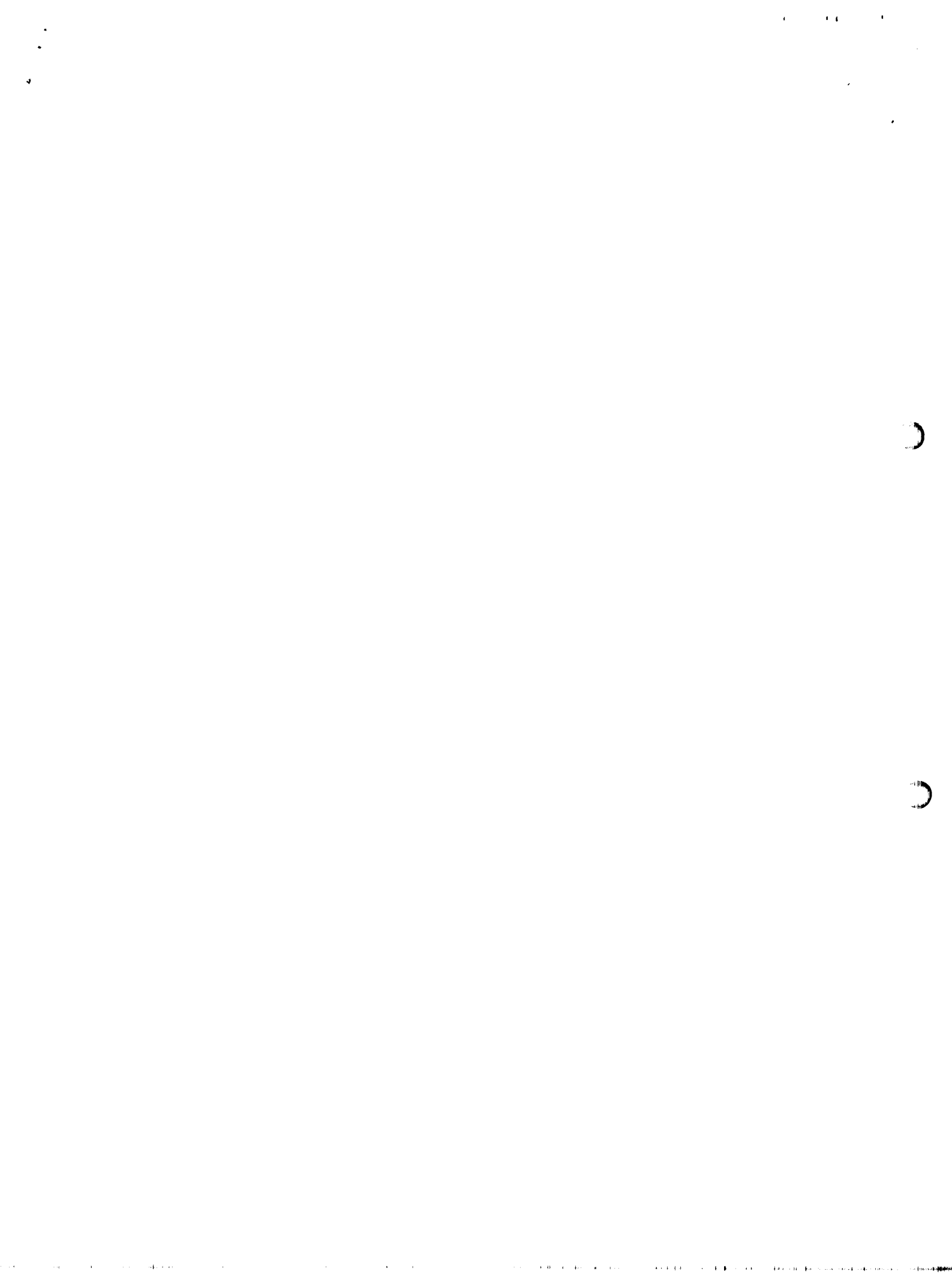
Summarizing, the paucity of genetic variation among Central American howlers differs not only from the extremely high genetic diversity exhibited by South American howlers, but also from the genetic diversity observed among other Costa Rican primates. We would like to paraphrase Froelich and Thorington (1982) and Pope (1996) by stating that the cause for this should be the howler monkeys' unique evolutionary history within the Central American isthmus.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank J. Azofeifa, M. Artavia, A. Araya, and two anonymous reviewers for providing useful comments in a previous version of this manuscript; L. Castro and A. Sequeira for assistance in the lab and I. Salas and many students volunteers for assistance in the field; students from the M.I.R.T. program at Duke University, North Carolina State University, and University of North Carolina, for assistance with both laboratory and fieldwork, and M. I. Sampaio, H. Schneider, and M. P. Schneider for providing blood samples from *A. seniculus* and *A. belzebul*. Special thanks to the owner and manager of Hacienda La Pacifica for allowing us to work on the ranch. This work was funded in part by NSF grants DBC-9118876 and SBR-9601766 to M. Teaford and KEG, the Universidad de Costa Rica Dean of Research Grant 111-93-316 to MEZ, and Third World Academy of Sciences Grant 95-364 RG/BIO/LA to M. E. Z. This research benefited greatly from a visit to Duke University by MEZ funded by the M.I.R.T. Program at this institution. The authors also thank the Office of International Affairs of the Universidad de Costa Rica for a fellowship to MEZ and OJR, which was instrumental in preparing this manuscript.

LITERATURE CITED

- CHAPMAN, C. 1987. Flexibility in diets of three species of Costa Rican primates. *Folia Primatol.* 49: 90-105.
- . 1990. Ecological constraints of group size in three species of Neotropical primates. *Folia Primatol.* 55: 1-9.
- CLARKE, M. R., D. A. COLLINS, AND E. L. ZUCKER. 2002. Responses to deforestation in a group of mantled howlers (*Alouatta palliata*) in Costa Rica. *Int. J. Primatol.* 23: 365-381.
- , C. M. CROCKETT, E. L. ZUCKER, AND M. ZALDIVAR. 2002. Mantled howler population of Hacienda La Pacifica, Costa Rica, between 1991 and 1998: Effects of deforestation. *Am. J. Primatol.* 56: 155-163.
- CROCKETT, C. M., AND J. F. EISENBERG. 1987. Howlers: Variation in group size and demography. In B. B. Smuts, D. L. Cheney, R. M. Seyfarth, R. W. Wrangham, and T. T. Struhsaker (Eds.), *Primate societies*, pp. 54-68. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- ELLSTRAND, N. C., AND D. R. ELAM. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24: 217-242.
- ELLSWORTH, J. A. 2000. Molecular evolution, social structure, and phylogeography of the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). Ph. D. Dissertation. University of Nevada, Reno, Nevada.
- , AND G. A. HOELZER. 1998. Characterization of microsatellite loci in a New World primate, the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). *Mol. Ecol.* 7: 657-666.
- FALCONER, D. S. 1989. Introduction to quantitative genetics. Longman Scientific and Technical, London, England.
- FEDIGAN, L. M., AND K. JACK. 2001. Neotropical primates in a regenerating Costa Rican dry forest: A comparison of howler and capuchin population patterns. *Int. J. Primatol.* 22: 689-713.
- , L. M. ROSE, AND R. A. MOREIRA. 1998. Growth of mantled howler groups in a regenerating Costa Rican dry forest. *Int. J. Primatol.* 19: 405-432.
- FORD, S. M., AND L. C. DAVIES. 1992. Systematics and body size: Implications for feeding adaptation in New World monkeys. *Am. J. Phys. Anthropol.* 88: 415-468.
- FROELICH, J. W., AND R. W. THORINGTON. 1982. The genetic structure and socioecology of howler monkeys (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island. In E. G. Leigh Jr., A. S. Rand, and D. M. Windsor (Eds.), *The ecology of a tropical forest: Seasonal rhythms and long-term changes*, pp. 291-305. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- FUTUYMA, D. J. 1989. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- GLANDER, K. E. 1978. Howling monkey feeding behavior and plant secondary compounds: A study of strategies. In G. G. Montgomery (Ed.), *The ecology of arboreal folivores*, pp. 561-574. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- . 1981. Feeding patterns in mantled howler monkeys. In A. C. Kamil and T. D. Sargent (Eds.), *Foraging behavior: Ecological, ethological, and psychological approaches*, pp. 231-257. Garland Press, New York, New York.
- , L. M. FEDIGAN, L. FEDIGAN, AND C. A. CHAPMAN. 1991. Field methods for capture and measurement of three monkey species in Costa Rica. *Folia Primatol.* 57: 70-82.
- HARRIS, H., AND D. A. HOPKINSON. 1978. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North Holland Publishing Co., Oxford, England.
- HEWITT, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.* 58: 247-276.
- HOLDRIDGE, L. R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center, San Jose, Costa Rica.
- JAMES, R. A., P. L. LEBERG, J. M. QUATTRO, AND R. VRIJENHOEK. 1997. Genetic diversity in black howler monkeys (*Alouatta pigra*) from Belize. *Am. J. Phys. Anthropol.* 102: 329-336.
- JANZEN, D. H. 1983. Costa Rican natural history. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- LIMA, M. M. C., M. I. C. SAMPAIO, M. P. C. SCHNEIDER, W. SCHEFFRAHN, H. SCHNEIDER, AND F. M. SALZANO. 1990. Chromosome and protein variation in red howler monkeys. *Rev. Bras. Genet.* 13: 789-802.
- MALMGREN, L. A., AND A. H. BRUSH. 1978. Isozymes and plasma proteins in eight troops of golden mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*). In D. J. Chivers and R. A. Joysey (Eds.), *Recent advances in primatology III. Evolution*, pp. 283-285. Academic Press, London, England.
- POPE, T. R. 1992. The influence of dispersal patterns and mating system on genetic differentiation within and between populations of the red howler monkey (*Alouatta seniculus*). *Evolution* 46: 1112-1128.
- . 1996. Socioecology, population fragmentation, and patterns of genetic loss in endangered primates. In J. C. Avise and J. L. Hamrick (Eds.), *Conservation Genetics. Case histories from nature*, pp. 119-159. Chapman and Hall, New York, New York.
- RICHARDSON, B. J., P. R. BAVERSTOCK, AND M. ADAMS. 1986. *Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press, San Diego, California.
- SAMPAIO, M. I., M. P. C. SCHNEIDER, AND H. SCHNEIDER. 1996. Taxonomy of the *Alouatta seniculus* group: Biochemical and chromosome data. *Primates* 37: 65-73.
- WEIR, B. S., AND C. C. COCKERHAM. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- WOLFFHEIM, J. H. 1983. *Primates of the world: Distribution, abundance, and conservation*. University of Washington Press, Seattle, Washington.
- YEH, F. C., R. YANG, AND T. BOYLE. 1999. Poppene version 1.31: Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, Canada.



COMUNICACIÓN

Presencia de Trypanosoma minasense (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Alouatta palliata (Primates: Cebidae) de Costa Rica

MISAEAL CHINCHILLA*,****, ADRIANA TROYO*, OLGA M. GUERRERO*,
GUSTAVO A. GUTIÉRREZ-ESPELETA** y RONALD SÁNCHEZ*

Trypanosoma minasense (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) IN *Alouatta palliata*
(PRIMATES: CEBIDAE) OF COSTA RICA

A Trypanosoma from the howler monkey Alouatta palliata was studied. Measures, as well as its biological characteristics (mice infection and failure to infect Triatominae) identify this parasite as Trypanosoma minasense. This organism is found for the first time in Costa Rica.

Key words: Trypanosomatidae, Trypanosoma minasense, Alouatta palliata, howler monkey.

INTRODUCCIÓN

Trypanosoma minasense fue reportado y descrito por primera vez por Carlos Chagas¹ parasitando un mono de la especie *Hapalle penicillata*, posteriormente clasificado como *Callithrix penicillata*, así como en otras especies de primates, a la par del *Trypanosoma cruzi* que luego estudió en detalle. Carlos Chagas menciona que *T. minasense* no produce patología importante para los animales mientras que *T. cruzi* produce la tripanosomiasis americana que hoy lleva su nombre.

La descripción original es sumamente simple pero ya se deduce que este tripanosomátido pertenece al subgénero *Megatrypanum*², que en

efecto no es patógeno para su hospedero.

Posteriormente, se informa el hallazgo de una infección del 19% en primates importados de Perú y Colombia pertenecientes al mismo género en el que se describió el parásito y a la especie *Saimiri sciureus*³. Más recientemente se hace una descripción morfológica un poco más detallada de la forma de tripomastigoto de este parásito⁴. Un estudio morfogenético de *T. minasense* fue realizado también comparándolo con otros tripanosomas similares⁵. Otros investigadores cultivan estos parásitos en medio NNN suplementado con 20% de suero fetal bovino, realizando estudios morfogénicos de las formas de cultivo⁶. En otro estudio sobre 165 monos ardilla (*S. sciureus* y *S. ustus*) se encontró

* Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología Universidad de Costa Rica.

** Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

*** Escuela de Biología, Centro Regional de Occidente, Universidad de Costa Rica.

**** Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas.

Dirección: Misael Chinchilla. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, América Central.

T. minasense en un 33,3% de esos animales. También se ha encontrado este parásito en monos de la Amazonia en Brasil⁸.

En Costa Rica, existen estudios sobre parásitos de *Alouatta palliata*⁹, pero este tripanosomátido no ha sido reportado. En esta comunicación informamos por primera vez de su presencia en un ejemplar de *A. palliata* capturado a raíz de un estudio integral y multidisciplinario que se hace en primates de Costa Rica y en el que participan diversos grupos de varias Universidades de Costa Rica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar este estudio, los animales fueron capturados anestesiándolos con Ketamina y Xilosina (0,2 mg/kilo de peso), fueron sangrados de la arteria femoral, recogiendo la sangre en tubos al vacío con anticoagulante y cultivando ésta en medio de Rugai para el aislamiento de los parásitos. Al mismo tiempo, se hicieron extensiones sanguíneas directas, las cuales fueron fijadas con alcohol metílico y teñidas por el método convencional de Giemsa. Los hemocultivos fueron revisados a los 3 días, en los que se observaron las primeras formas desplazándose activamente. Después de los 10 días, se observó un crecimiento abundante, por lo que se hicieron preparaciones para teñirlas posteriormente y realizar el estudio del caso. Parte del cultivo fue usado para inocular ratones C₃H vía intraperitoneal, los animales fueron revisados diariamente por examen directo y por concentración bajo el sistema de centrifugación para hematocrito.

RESULTADOS

Al estudiar las formas de epimastigoto del cultivo se observó que de acuerdo con su movimiento y sus características morfológicas eran similares a las de los subgéneros *Herpetosoma* y *Megatrypanum*. Después de 10 a 12 días de inoculados, los ratones presentaron pocas formas de tripomastigoto que al teñirlas y proceder a realizar las medidas de 30 ejemplares, indicaron los resultados que se indican en la Tabla 1 y cuya morfología se muestra en la Figura 1.

DISCUSIÓN

Las formas estudiadas resultaron ser similares



Figura 1. Formas del *Trypanosoma minasense* aisladas en ratón C₃H.

Tabla 1. Análisis comparativo de las medidas (μm) del *Trypanosoma* encontrado y las de *Trypanosoma diasi* y *Trypanosoma minasense**

Medidas (μm)	<i>Trypanosoma</i> sp. (en estudio) n = 30				<i>T. diasi</i> n = 4			<i>T. minasense</i> n = 39		
	Media**	s	Max	Min	Media	Max	Min	Media	Max	Min
L	35,02	1,19	37,28	32,36	35,2	36,2	33,5	30,6	39	23
PK	8,03	0,78	9,27	7,21	8,9	11,3	7,3	10,7	14	6,8
KN	9,24	0,74	10,3	7,21	7,2	7,5	6,7	8,7	13,6	5,6
NA	9,61	0,74	11,2	8,2	15,7	17,8	14	8,4	11,2	5,6
F	8,14	0,95	10,3	7,21	7,8	8,6	7	6,6	9	5,4

F: flagelo libre, KN: kinetoplasto a núcleo. L: largo total, NA: núcleo a extremo anterior PK: extremo posterior a kinetoplasto.

* Deane y Damasceno, 1961

** Max: Máximo, Min: mínimo, n: número de ejemplares, s: desviación estándar

a las informadas^{3,4,10} para *T. minasense* (Tabla 1, Figura 1). Con la única especie que se podría confundir morfológicamente este organismo es con *Trypanosoma diasi* pero este último infecta fácilmente diversas especies de la familia Reduviidae y no infecta ratones¹⁰. En el presente estudio, las inoculaciones en ratones fueron exitosas. Al realizar xenodiagnósticos de los roedores positivos por el tripanosomátido los triatomíneos no se infectaron.

Otro tripanosomátido encontrado en el mono aullador es el *T. lambrechtii*¹¹ pero las medidas de este parásito difieren mucho, ya que su tamaño es mayor a la especie descrita en este informe.

Se concluye entonces, con base en los estudios anteriormente mencionados, que el parásito encontrado en el mono congo (*A. palliata*) es *T. (Megatrypanum) minasense*, constituyendo éste el primer reporte en Costa Rica y probablemente en Centroamérica ya que no se han encontrado informes de este parásito en monos del género *Alouatta*. La referencia⁹ en que se menciona la presencia de *T. minasense* en *Alouatta belzebul*, es incorrecta pues en la cita original¹⁰ a la que se hace referencia, no se menciona tal infección.

Estudios detallados sobre la biología, inmunología y genética de este parásito están en progreso.

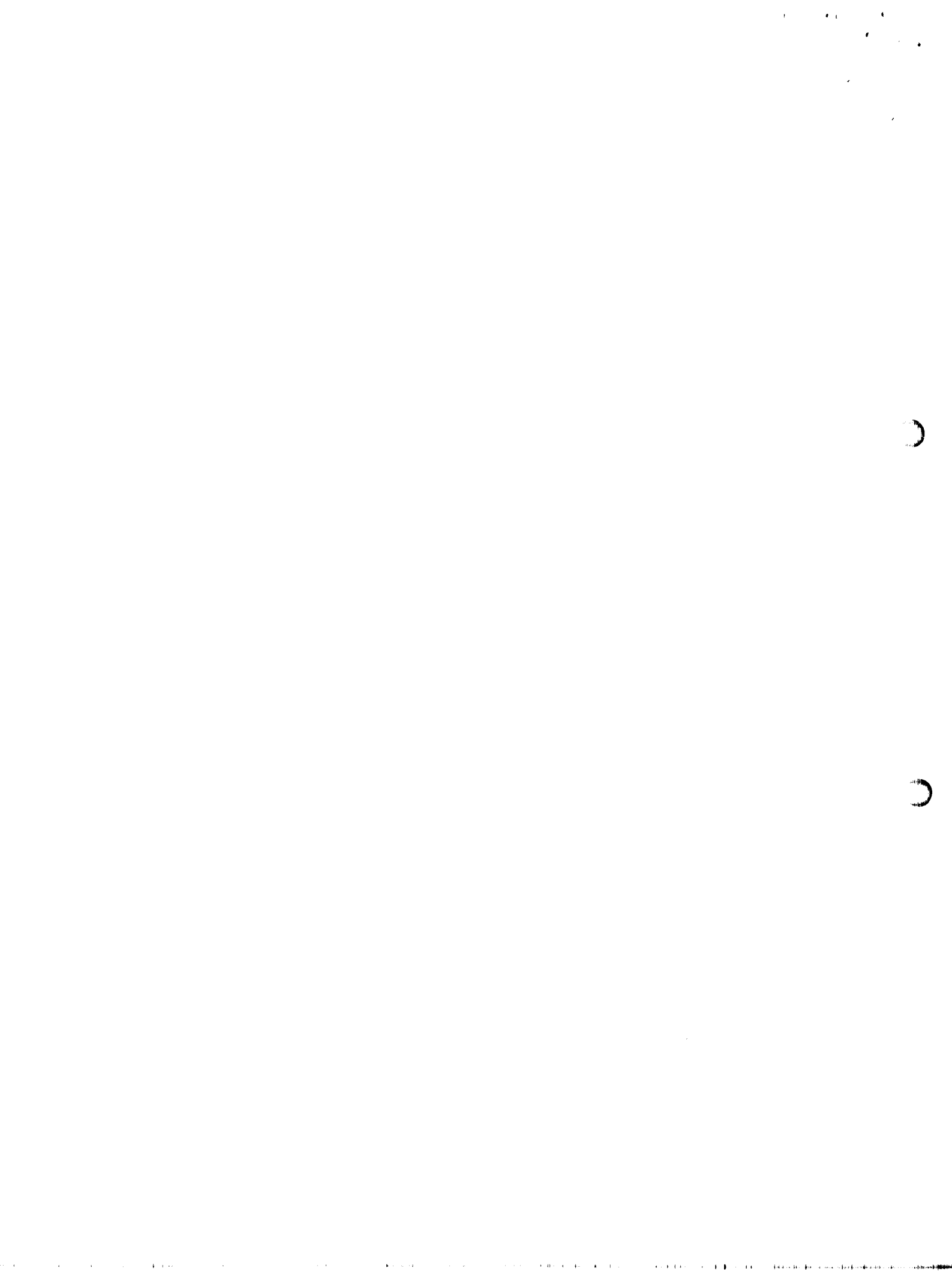
RESUMEN

Se informa de la presencia de un tripanosomátido del mono aullador *Alouatta palliata* cuyas medidas, su capacidad de infectar ratones blancos y C₃H, y la no infección de Triatomíneos, lo clasifican como *Trypanosoma minasense*. Esta es la primera vez que se describe este parásito en monos de Costa Rica.

REFERENCIAS

- 1.- CHAGAS C. *Trypanosoma minasense*: Nota preliminar. Brazil-Medico 1908; 22: 471.
- 2.- HOARE C A. The classification of mammalian trypanosomes. Ergebn. Mikrobiol 1966; 39: 43-57.
- 3.- DUNN F L, LAMBRECHT F L, DU PLESSIS R. Trypanosomes of South American monkeys and marmosets. Am J Trop Med Hyg 1963; 12: 524-34.
- 4.- GONZALO A, TANTALEÁN M. Parasitic protozoa in neotropical primates. Laboratory Primate Newsletter 1996; 35: 1-19.
- 5.- ZICCARDI M, LAOURENÇO-DE-OLIVEIRA R. Morphological features of trypanosomes from squirrel monkeys from Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998; 93: 45-55.
- 6.- ZICCARDI M, LOWENÇO-DE-OLIVEIRA R, NOGUEIRA R. The haemoculture of *Trypanosoma minasense* Chagas, 1908. Mem Inst Oswaldo Cruz 1996; 91: 501-5.
- 7.- ZICCARDI M, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R. The infection rates of trypanosomes in squirrel monkeys at two sites in the Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz 1997; 92: 465-70.
- 8.- ZICCARDI M, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R, LAINSON R, et al. Trypanosomes of non-human primates from the National Centre of Primates, Ananindeua, state of Para, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95: 157-9.
- 9.- STUART M D, PENDERGAST V, RUMFELT S. Parasites of wild howlers (*Alouatta* spp). Int J Primat 1998; 19: 493-512.
- 10.- DEANE L M, DAMASCENO R G. Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. II. Tripanosomas de macacos da Zona do Salgado, Estado do Pará. Rev Inst Med Trop São Paulo 1961; 3: 61-70.
- 11.- Deane L M, Batista D, Ferreira J A, de Souza H. Trypanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. V. *Trypanosoma lambrechtii* Marinbell, 1968, en macacos do estado do Amazonas. Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo 1970; 12: 1-7.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado en parte por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica a través de los proyectos VI-III-A1-015 y 803-A1-745 y el Departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas.



COMUNICACIÓN

Presencia de *Plasmodium brasilianum* (Apicomplexa, Plasmodidae) en el mono congo (*Alouatta palliata*, Primates: Cebidae) de Costa Rica. Importancia epidemiológica en relación con el ser humano

MISAEEL CHINCHILLA****, OLGA MARTA GUERRERO*,
GUSTAVO GUTIÉRREZ** y RONALD SÁNCHEZ****

Plasmodium brasilianum (APICOMPLEXA, PLASMODIDAE) IN THE CONGO MONKEY
Alouatta brasilianum (PRIMATE: CEBIDAE) OF COSTA RICA. EPIDEMIOLOGICAL
IMPORTANCE RELATED TO HUMAN

Plasmodium brasilianum, a malaria parasite of Primates, was found for the first time in Costa Rica in 6 of 104 howler monkeys (*Alouatta palliata*) studied. Animals were captured and anaesthetized with darts containing equal parts of tiletamine hydrochloride and Zolazepam (Zoletil®). To study blood parasites, smears were prepared, fixed in methyl alcohol and stained by Giemsa technique. Young and advanced trophozoites (band forms) as well as gametocytes and squizonts ("rosseta" forms) were found. Since this parasite is very similar to *P. malariae*, a human parasite that has been found in Costa Rica, the presence of *P. brasilianum* is discussed on the epidemiological point of view.

Key words: Apicomplexa, *Plasmodium brasilianum*, *Plasmodium malariae*, *Alouatta palliata*, howler monkey.

INTRODUCCIÓN

Dentro de las especies del género *Plasmodium*, parásitas de primates no humanos a saber: *P. brasilianum*, *P. coatneyi*, *P. cinomolgi*, *P. fieldi*, *P. fragile*, *P. hylobati*, *P. gonderi*, *P. inui*, *P. knowlesi*, *P. simium* y *P. reichenowi*¹, el primero ha sido confirmado también en el ser

humano² de ahí su importancia epidemiológica.

Después de que Gonder & Berenberg-Gossler (1908) encontraron este parásito en la sangre de un mono *Brachyurus calvus* importado de la región amazónica de Brasil, se ha conocido su presencia en Panamá, Brasil, Venezuela, Colombia, Perú y Guayana Francesa tal como lo cita Coatney et al³. Este parásito ha sido

* Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

** Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

*** Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).

**** Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

Dirección: Misael Chinchilla Carmona Ph.D. Departamento de de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, América Central. Email: chinchillacm@UCIMED.com

encontrado en primates de los géneros: *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles*, *Brachyurus*, *Callicebus*, *Cebus*, *Chiropotes*, *Lagothrix* y *Saimiri*^{3,4}, así como en los géneros *Saguinus* y *Pithecia*⁵ y *Aotus*⁴.

Este organismo, al igual que todas las especies del género *Plasmodium*, es diheteroxeno, llevando a cabo su ciclo de vida entre los primates en donde se desarrolla fundamentalmente la fase asexual y mosquitos del género *Anopheles*, en donde se realiza la fase sexual. Sus vectores conocidos son: *A. tarsimaculatus* (= *aguasalis*) y *A. albimanus*³, pero también se han considerado a las especies *A. mediopunctatus*, *A. nuneztovari*, *A. oswaldoi*, *A. triannulatus* y *A. shannoni* como los posibles vectores del parásito en el Amazonas brasileño⁶. Infecciones experimentales se han logrado en *A. aztecus*, *A. atroparvus*⁷ y también en *A. freeborni*, *A. dirus*, *A. maculatus* y *A. gambiae*³.

Al igual que en *P. knowlesi* y en *P. simium*, especies en que se han reportado infecciones naturales o experimentales en el ser humano, en *P. brasilianum* también se ha observado lo mismo⁸⁻¹⁰. En realidad esta especie ha sido relacionada estrechamente con *P. malariae*, parásito humano, tanto que algunos lo consideran a ambos, desde el punto de vista genético, inmunológico y epidemiológico, como una sola especie^{5,11-13}.

Este trabajo pretende, no sólo informar de la presencia de este parásito por primera vez en primates de la especie *Alouatta palliata* en Costa Rica, sino también realizar una breve revisión sobre los aspectos más relevantes del mismo, especialmente en cuanto a su relación con *P. malariae* y la posibilidad de futuras infecciones para el ser humano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dado que este trabajo es parte de un gran proyecto integral en que se estudian muchos aspectos relacionados con la biología de los primates en Costa Rica, existen ya varias publicaciones en que se describen los métodos generales^{14,15}. Brevemente, 104 ejemplares de monos congo (*A. palliata*) provenientes de varias zonas del país (San Ramón de Alajuela; Chomes, Parque Manuel Antonio, Isla Chira y Quepos (La Merced, La Uvita) de Puntarenas; Parque Palo Verde, Gran Nicoya, Playa Potrero de

Guanacaste; Cahuita de Limón. Los animales fueron capturados con dardos conteniendo compuestos anestésicos aplicados mediante técnicas conocidas^{16,17}. El anestésico usado fue el hidrocloreto de tiletamina, un análogo de ketamina, combinado con zolazepam (una pirazolodiazepina) conocido como Zoletil®, en una combinación 1:1. Los primates fueron recibidos al caer en redes sostenidas por 4 personas. Se practicaron varios exámenes pero específicamente en cuanto a la obtención de la muestra de los animales para el estudio de parásitos sanguíneos, la sangre no sólo se extrajo en tubos con anticoagulante para la preparación de cultivos, sino que se prepararon extendidos en portaobjetos para luego fijarlos en alcohol metílico y teñirlos con el colorante de Giemsa. Estos extendidos fueron estudiados en el laboratorio para determinar morfológicamente los diferentes estados evolutivos del protozoo a saber: trofozoitos, gametocitos y esquizontes en diferentes estados de desarrollo del ciclo evolutivo del género *Plasmodium*.

Para documentar el informe se midieron esos estados evolutivos y se tomaron las correspondientes fotografías, realizando un análisis morfológico comparativo especialmente entre *P. brasilianum*, *P. malariae* y *P. knowlesi* que son las tres especies más similares.

RESULTADOS

De los 104 animales estudiados se encontraron 3 ejemplares provenientes de Cahuita, Limón que presentaban formas muy inmaduras del parásito. Además en la zona de Quepos (La Uvita), 3 de los primates ahí estudiados resultaron positivos con una regular cantidad de formas de trofozoitos, gametocitos y esquizontes fácilmente identificables y apropiados para realizar la clasificación correspondiente. La Figura 1 presenta una composición de los diversos estados evolutivos del protozoo encontrado en la sangre de nuestros monos congo o aulladores, comenzando con el trofozoito joven (Figura 1 a). Obsérvese también las formas típicas en banda de los trofozoitos más avanzados (Figuras 1 b, c), así como los esquizontes con la disposición característica de 8 o menos merozoitos alrededor del cuerpo residual, por lo que se les ha designado con el nombre de forma en margarita o "rosseta" en italiano (Figuras 1 d, e). Nótese además las

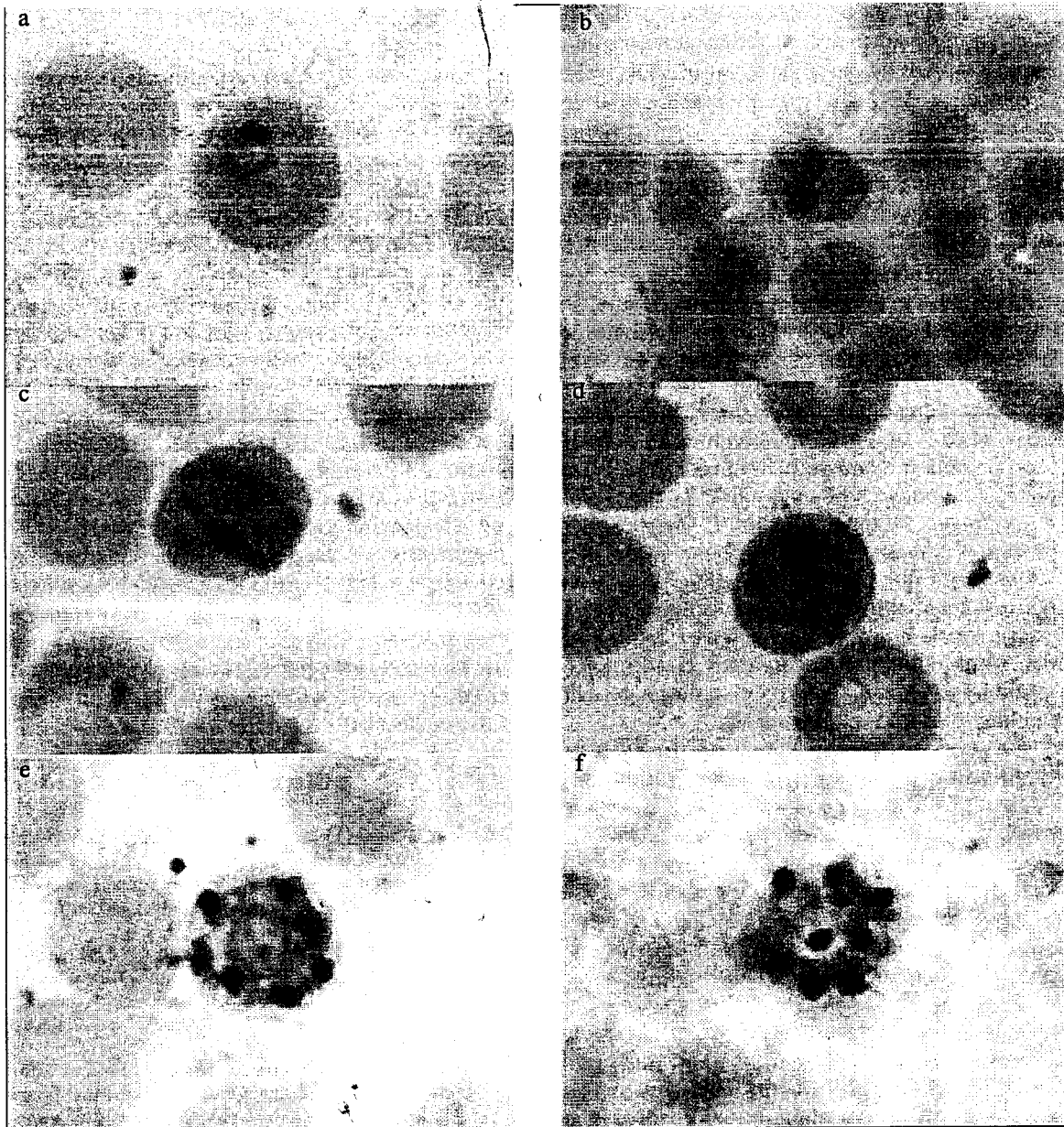


Figura 1. Estados evolutivos de *Plasmodium brasilianum* encontrados en sangre periférica de primates de la especie *Alouatta palliata*. a. Trofozoito joven, b. Trofozoito joven en banda, c. Trofozoito avanzado en banda, d. Gametocito, e. Esquizonte, f. Esquizonte.

formas redondeadas de los gametocitos (Figura 1 f).

DISCUSIÓN

La ratificación de que el parásito encontrado es *P. brasilianum* se basa en las características

morfológicas de los estados evolutivos encontrados en la sangre de los monos, especialmente de las llamadas formas en banda características de los trofozoitos avanzados (Figuras 1 b, c). También tiene carácter diagnóstico la morfología de los esquizontes en

cuanto a la disposición periférica de los merozoitos (Figuras 1 d, e). Estas características sirven para diferenciarlo de las otras especies de *Plasmodium* presentes en monos del género *Alouatta*.

El hecho de que *P. brasilianum* es prácticamente indistinguible morfológicamente de *P. malariae*⁵, un parásito causante de la llamada fiebre cuartana en el hombre, nos inclina a pensar, de acuerdo con nuestros hallazgos, que en cierto modo los monos aulladores de nuestro país pueden considerarse como verdaderos reservorios de agentes de la malaria de seres humanos. Llama la atención que los casos humanos bien documentados por *P. malariae* en Costa Rica¹⁸ son pocos. En efecto es *P. vivax* la especie predominante siguiéndole las infecciones por *P. falciparum*. Sin embargo el hecho de que *P. malariae*, al igual que el *P. brasilianum*, parasitan únicamente los glóbulos rojos más viejos, hace que la sintomatología causada por estos parásitos sea bastante benigna, lo cual podría ser la causa de que se haya confundido con otras entidades nosológicas con síntomas tan comunes como la fiebre y el malestar general, también presentes en la malaria.

De todas maneras, resulta interesante establecer que en nuestro país, los monos de las dos zonas costeras son potenciales reservorios de al menos una especie productora de malaria, la cual eventualmente podría desarrollarse o haber venido infectando silenciosamente al ser humano. Esta idea se apoya precisamente en la similitud extraordinaria entre *P. malariae* y *P. brasilianum* mencionada y demostrada en varios estudios^{5,11-13}.

Queda por determinar la presencia de los transmisores de este parásito en las áreas estudiadas, lo cual es muy probable que ocurra, dada la cantidad de mosquitos ahí presentes, dentro de los que el género *Anopheles*, transmisor por excelencia de los agentes etiológicos de la malaria, es relativamente frecuente.

Con este hallazgo se agrega a los parásitos intestinales previamente comunicados¹⁴ y al informe de la presencia de *Trypanosoma minasense*¹⁵, el nombre de un parásito más lo que enriquece el conocimiento de la fauna parasitológica de los monos de la especie *A. palliata* estudiados prácticamente en todo el país.

RESUMEN

La especie productora de malaria en primates, *Plasmodium brasilianum*, fue encontrada por primera vez en Costa Rica en 6 de 104 ejemplares de monos congo o aulladores (*Alouatta palliata*). Los animales fueron capturados y anestesiados por medio de dardos que contenían hidrocloreto de tiletamina y zolazepam (Zoletil®) combinados en partes iguales. Para estudiar estos animales por parásitos sanguíneos, se prepararon frotis sanguíneos que luego se tificaron y se estudiaron en el laboratorio, encontrándose las formas de trofozoitos jóvenes o avanzados así como gametocitos y esquizontes. La morfología característica de algunos estados evolutivos, como por ejemplo, las formas en banda de trofozoitos avanzados y los esquizontes en forma de margarita o "roseta" permitieron el diagnóstico de la especie. Puesto que se han encontrado casos humanos infectados con este organismo y éste es casi indistinguible de *Plasmodium malariae*, una especie parásita del ser humano, se discute el hallazgo de este parásito desde un punto de vista epidemiológico en el área de la salud.

REFERENCIAS

- 1.- LECLERC M C, HUGOT J P, DURAND P, RENAUD F. Evolutionary relationships between 15 *Plasmodium* species from New and Old World primates (including humans): a 18S rDNA cladistic analysis. *Parasitology* 2004; 129: 1-8.
- 2.- LOURENCO-DE-OLIVEIRA R, DEANE L M. Simian malaria at sites in the Brazilian Amazon. I-The infection rates of *Plasmodium brasilianum* in non-human primates. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 1995; 90: 331-9.
- 3.- CD-ROOM. The primate malarial (Original book published 1971). Coatney G R, Collins M E, Warren M, Contacos P G. Division of Parasitic Disease, producers. Versión 1.0. Atlanta, GA: CDC; 2003.
- 4.- COGSWELL F B. Malaria and piroplasms of non-human primates. Companion and Exotic Animal Parasitology, Browman D.D (Ed.). International Veterinary Information Service 2000; (www.ivis.org).
- 5.- FANDEUR T, VOLNEY B, PENEAU C, DE THOISY B. Monkeys of the rainforest in French Guiana are natural reservoirs *P. brasilianum*/*P. malariae* malaria. *Parasitology* 2000; 120: 11-21.
- 6.- LOURENCO-DE-OLIVEIRA R, LUZ L B. Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon II. Vertical distribution and frequency of anopheline species inside and outside the forest. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 1996; 91: 687-94.
- 7.- GARNHAM P C C, BAKER J R, NESBITT P E.

- Transmission of *Plasmodium brasilianum* by sporozoites and the discovery of an exoerythrocytic schizont in the monkey liver. *Parasitologia* 1963; 5: 5-9.
- 8.- DEANE L M, DEANE M P, FERREIRA NETO J. Studies on transmission of simian malaria and on a natural infection of man with *Plasmodium simium* in Brazil. *Bull World Health Organ* 1966; 35: 805-8.
 - 9.- JONGWUTIWES S, PUTAPORN TIP C, IWASAKI T, SATA T, KANBARA H. Naturally acquired *Plasmodium knowlesi* malaria in human, Thailand. *Emerg Inf Dis* 2004; 10: 2211-3.
 - 10.- COLLINS W E. CDC Program Reactivates Archived Parasites. Newsletter of the Malaria Research and Reference Reagent Resource Center 2003; [www.malaria.mr4.org malaria@atcc.org](http://www.malaria.mr4.org/malaria/atcc.org)
 - 11.- CHIZZOLINI C, SULZER A J, OLSEN-RASMUSSEN M A, COLLINS W E. Epstein-Barr Virus transformation of *Saimiri sciureus* (squirrel monkey) B cells and generation of a *Plasmodium brasilianum* specific monoclonal antibody in *P. brasilianum*-infected monkeys. *Infect. Immun* 1991; 59: 2285-9.
 - 12.- GALLAND G G. Role of the squirrel monkey in biomedical and behavioral Research. *ILAR Journal* The squirrel monkey in biomedical and behavioral research 2000; 41: 1-10.
 - 13.- CURADO I, DUARTE A M, LAL A A, OLIVEIRA S G, KLOETZEL J K. Antibodies anti Bloodstream and Circumsporozoite Antigens (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae/P. brasilianum*) in Areas of Very Low Malaria Endemicity in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92: 235-43.
 - 14.- CHINCHILLA M, GUERRERO O. M, GUTIÉRREZ G, SÁNCHEZ R, RODRÍGUEZ B. Parásitos intestinales en monos congo *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2005; 53: 437-45.
 - 15.- CHINCHILLA M, TROYO A, GUTIÉRREZ G, SÁNCHEZ R. Presencia de *Trypanosoma minasense* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Parasitol Latinoam* 2005; 60: 90-92.
 - 16.- GLANDER K E, FEDIGAN L M, FEDIGAN L, CHAPMAN C. Field Methods for Capture and Measurement of three monkey species in Costa Rica. *Folia Primatologica* 1991; 57: 70-82.
 - 17.- SWAM G E. A summary of the practical aspects of drugs commonly used for the restraint of wild animals. *Capture and Care Manual* online 1992; http://www.wildlifedecisionsupport.com/captureandcare/sectiona/drugs/01_swan.htm
 - 18.- VARGAS M. Diagnóstico situacional de la malaria y el uso de DDT en Costa Rica. *Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS)* 2001; 217 p.
- Agradecimientos:** Este trabajo fue financiado en parte por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica a través de los proyectos VI-III-A1-015 y 803-A1-745 y el Departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas.

Genetic Variability in Four *Alouatta* Species Measured by Means of Nine DNA Microsatellite Markers: Genetic Structure and Recent Bottlenecks

M. Ruiz-García^a P. Escobar-Armel^a D. Alvarez^a M. Mudry^b
M. Ascunce^b G. Gutierrez-Espeleta^c J.M. Shostell^d

^aUnidad de Genética (grupo de Genética de Poblaciones-Biología Evolutiva), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia; ^bGIBE, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina;

^cEscuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica;

^dDepartment of Biology, Penn State University, Uniontown, Pa., USA

© S. Karger AG, Basel

PROOF Copy for personal use only

ANY DISTRIBUTION OF THIS ARTICLE WITHOUT WRITTEN CONSENT FROM S. KARGER AG, BASEL IS A VIOLATION OF THE COPYRIGHT.

Key Words

Alouatta · DNA microsatellites · Bottlenecks, genetic structure

Abstract

We used microsatellite DNA to study the population genetics of 4 *Alouatta* species from Central and South America. Our main findings include the following: (1) *A. seniculus* had the highest level of microsatellite variability while *A. caraya* and *A. palliata* had the lowest mean number of alleles per locus and the lowest expected heterozygosity, respectively; (2) the samples of *A. seniculus* and *A. palliata* came from different regions and were not in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) which may indicate a Wahlund effect and differentiated gene pools – in contrast, *A. macconnelli* and *A. caraya* were in HWE; (3) the microsatellite genetic heterogeneity of the 4 *Alouatta* species was similar to the karyotype divergence found among these *Alouatta* species; the species pair with the lowest level of heterogeneity (genetic differentiation) was *A. seniculus/A. caraya*, while the Central American species, *A. palliata*, was highly differentiated from the other 3 South American species; (4) we recommend the establishment of a conservation plan to help protect *A. caraya* because the Cornuet and Luikart procedure demonstrated a recent bottleneck for this species.

Copyright © 2006 S. Karger AG, Basel

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2006 S. Karger AG, Basel
0015-5713/06/0000-0000\$23.50/0

Accessible online at:
www.karger.com/fpr

Prof. Manuel Ruiz-García, PhD
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana
Cra 7A No 43-82, Bogotá DC (Colombia)
Tel. ■■■■, Fax ■■■■, E-Mail mruiz@javeriana.edu.co

Introduction

Alouatta (howler monkeys) is the unique living genus within the subfamily Alouattinae (or Mycetinae) [Rylands et al., 2000; Groves, 2001] and is one of the 15 Neotropical primate genera currently living in Latin America. Howler monkeys are among the largest Neotropical primates, being similar in size to individuals within the *Ateles*, *Brachyteles* and *Lagothrix* genera. In the current work, we analyze the genetics of 4 *Alouatta* species.

The distribution of *Alouatta palliata* (mantled howler), which may include 3 subspecies (*A. palliata mexicana*, *A. palliata palliata* and *A. palliata aequatorialis*), extends from southern Mexico throughout all of Central America to the Pacific west coast of Colombia and Ecuador. *A. seniculus* (red howler) is distributed in northern South America, north of the Amazon River, in the east and south into Bolivia in the west. The distribution of *A. macconnelli* includes Surinam, French Guiana and the Amazonian area of Brazil. Many authors have classified *A. macconnelli* within *A. seniculus* even though they have extensive chromosome differences [Lima and Seuánez, 1991; Groves, 2001] and should be considered as completely isolated species. *A. caraya* (black howler) is distributed in southern Brazil, eastern Bolivia, Paraguay and northern Argentina.

Karyotypic analyses of this widely distributed genus have demonstrated that the chromosome complement is extremely diverse among its species [Bonvicino et al., 2001]. These analyses have led to frequent reviews of the number of species in each geographic region and to an increase in the number of identified species. It would be helpful to identify other methods that would facilitate the discrimination between previously defined *Alouatta* species. One potentially helpful method is via an analysis of DNA microsatellites.

Distribution patterns are impacted by a number of factors, which in some cases may result in bottlenecks and reduced gene diversity. The analyses of some *Alouatta* species have provided evidence of recent bottlenecks [James et al., 1997] which have in turn led to the establishment of conservation measures to protect the identified species and its habitat. Unfortunately, many *Alouatta* species have not been similarly examined from a molecular population genetics point of view, including the ones in our study.

Recent developments of molecular procedures based on polymerase chain reaction (PCR) methodology has helped population geneticists to analyze and determine the genetic structure and the levels of genetic variability of many wild species by using only small fragments of hair, fecal material or various body tissues such as bone. Among the most remarkable molecular markers used in these analyses are STRPs (short tandem repeat polymorphisms, microsatellites) which are composed of tandem, repetitive units of 2–6 base pairs in length [Weber and May, 1989]. STRPs are randomly distributed, highly polymorphic and frequently found inside eukaryotic genomes. The small amount of DNA needed for these molecular analyses has helped the investigator to use noninvasive procedures when sampling wild animals which has in turn led to a strong incorporation of molecular techniques in the study of population biology dynamics [Bruford and Wayne, 1993]. These molecular advances have not been rigorously applied to the study of many wild species, including those of the genus *Alouatta*.



Fig. 1. Map with the geographical areas where *Alouatta* species were sampled. Numbers of samples are indicated on the map. In Colombia, departments where samples were obtained are indicated.

The main goals of this study include the following: (1) to determine the microsatellite gene diversity in the 4 species of *Alouatta* stated above; (2) to determine if there is evidence of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) at the STRPs studied in the 4 species and to search the possible relationship with subdivision events throughout the distribution of these species (Wahlund effect); (3) to determine the levels of molecular microsatellite genetic heterogeneity between *Alouatta* species and to evaluate the discrimination power of the microsatellites employed; (4) to determine the existence of some recent bottlenecks on the gene pools of the *Alouatta* species studied.

Material and Methods

Samples and Molecular Procedures

A total of 159 *Alouatta* from 4 different species ($n = 84$ *A. seniculus*; $n = 48$ *A. palliata*; $n = 20$ *A. caraya*; $n = 7$ *A. macconnelli*) were sampled (fig. 1, table 1). All samples were obtained directly from live or dead field specimens. The dead animals were hunted by Native Indian

Table 1. Sample sizes, morphological subspecies, countries, specific geographic origins, type of samples and sources of the 159 *Alouatta* samples from the 4 different species (*A. seniculus*, *A. palliata*, *A. caraya* and *A. macconnelli*) studied herein

Species	n	Subspecies and origin	Geographic origin, type of samples and sources
<i>Alouatta seniculus</i>	84	<i>A. s. seniculus</i> Colombia	La Guajira (20 samples, all blood drops), Meta (7 samples, blood, hair and teeth), Antioquia (16 samples, all blood) Chocó (7 samples, blood and teeth), Amazonas (17 samples, blood, hair, teeth and bones), Vichada (3 samples, teeth), Putumayo (3 samples, teeth and bones), Magdalena (2 samples, teeth), Atlántico (2 samples, teeth), Caquetá (2 samples, hair and teeth), Arauca (1 sample, teeth), Bolivar (4 samples teeth and bones); M.R.G., P.E.A., D.A., Indian tribes across all Colombia, F. Nassar, J. Gardeazábal, L.M. Borrero, D.M. Ramírez, Instituto von Humboldt (4 skin samples)
<i>Alouatta palliata</i>	48	<i>A. p. palliata</i> Costa Rica <i>A. p. mexicana</i> Mexico <i>A. p. aequatorialis</i> Colombia	Across all Costa Rica (43 samples, blood and hairs); G.G.E., M.R.G., D.A., P.E.A. Costuxtla (1 sample, DNA), Tabasco (1 sample, DNA); L. Cortés-Ortiz Chocó (3 samples, teeth and bones); M.R.G.
<i>Alouatta caraya</i>	20	<i>A. caraya</i> Argentina <i>A. caraya</i> Bolivia	Isla Brasilera and 3 other geographical points, Argentinian Chaco (14 samples, blood drops); M.M., M.A. Santa Cruz Department and diverse localities at the Mamoré River (6 samples, hairs); M.R.G., D.A.
<i>Alouatta macconnelli</i>	7	<i>A. macconnelli</i> French Guiana	Carnopi River (4 samples of muscle tissue and 3 samples of hairs from 3 localities); F. Catzeflis, M.R.G.

communities. The *A. seniculus* samples were collected from the Colombian regions of La Guajira, Meta, Antioquia, Chocó, Amazonas, Vichada, Putumayo, Magdalena and Atlántico. Additionally, 4 skin samples of *A. seniculus* were obtained from the Mammalian museum in the Instituto von Humboldt at Villa de Leyva (Colombia). A total of 3 subspecies of *A. palliata* were collected from Mexico ($n = 2$ *A. palliata mexicana*, States of Costuxtla and Tabasco), Colombia ($n = 3$ *A. palliata aequatorialis*, Chocó) and throughout Costa Rica ($n = 43$ *A. palliata palliata*). The samples of *A. caraya* were collected from the island of Brasilera and 3 other locations in the Argentinian Chaco ($n = 14$) and in 3 different geographical areas in Bolivia ($n = 6$), while the samples of *A. macconnelli* were collected from 3 different geographical locations in French Guiana at the Carnopi River.

DNA was extracted from samples of blood, skin, bone and teeth via the phenol-chloroform method [Sambrook et al., 1989] and from hair using the Chelex 10% method [Walsh et al., 1991].

Nine microsatellite markers (AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51 and D17S804) were used in the current study. Most but not all of the markers amplified in all the *Alouatta* species. The AP40, AP68 and AP74 markers were designed for *A. palliata* while the remaining markers were designed for humans. Several studies have demonstrated that these human microsatellites have clearly amplified for Neotropical primates [Rogers et al., 1995; Ellesworth and Hoelzer, 1998; Witte and Rogers, 1999]. Therefore, the human markers that they used successfully in diverse Neotropical primates were also used in our study.

The final PCR volume and reagent concentrations for the DNA extraction from blood, skin, bone and teeth were 25 μ l, with 3 μ l of MgCl₂ 3 mM, 2.5 μ l of buffer 10 \times , 1 μ l of dNTPs 0.04 mM, 1 μ l of each primer (forward and reverse; 4 pmol), 13.5 μ l of H₂O, 2 μ l of DNA and 1 Taq polymerase unit per reaction (1 μ l). For the PCR reactions with hairs, the overall volume was 50 μ l, with 20 μ l of DNA and twofold amounts of MgCl₂, buffer, dNTPs, primers and Taq polymerase.

All PCR reactions were carried out in a Perkin Elmer Geneamp PCR System 9,600 thermocycler for 5 min at 95°C, 30 one-min cycles at 95°C, 1 min at the most accurate annealing temperature (57°C for AP40, 50°C for AP68 and 52°C for the remaining markers), 1 min at 72°C and 5 min at 72°C. The amplification products were kept at 4°C until they were used. The PCR amplification products were run in denatured 6% polyacrylamide gels in a Hoefer SQ3 sequencer vertical chamber. Depending on the size of the markers analyzed and the presence of 35 W as a constant, the gels were stained with AgNO₃ (silver nitrate) after 2–3 h of migration. The molecular weight markers used were ϕ 174 (cut with *Hind*III) and *Hinf*.

The PCR reactions were repeated 3 times for DNA extracted from hairs, teeth and bones in order to confirm the genotypes obtained from these tissues. Therefore, allelic dropout was highly improbable. The existence of null alleles cannot be totally excluded, which could increase the number of false homozygous genotypes. Nevertheless, it is improbable that all loci were affected in the same way, and that this was the cause of systematic deviations from HWE.

Population Genetics Analyses

The mean number of alleles per locus and the expected heterozygosity *H* [Nei, 1973] were calculated for the 4 *Alouatta* species studied and differences among estimates were statistically analyzed with a Student *t* test. The heterozygosity data were arcsine transformed prior to analysis, as proposed by Archie [1985]. A re-calculation of the allele number estimates was carried out normalizing for the different sample sizes, which were different for the animals surveyed in each different *Alouatta* species, by using bootstrapping and jackknifing approaches. For the bootstrap procedure, a number from each sample equal to the smallest sample size with replacement was taken, while the jackknife takes an equal number to the smallest sample size without replacement. The AGARst program was employed for this task.

The HWE was estimated using the *F* statistic of Weir and Cockerham [1984]. This procedure was used to calculate the degree of excess of homo- and heterozygous genotypes within each *Alouatta* species, and the Markov chain method (with 2,000 dememorization, 100 batches at 2,000 iterations per batch) [Raymond and Rousset, 1995] was used to measure the probabilities. The Fisher method was used to analyze the global HWE estimates (by loci and by species).

Two strategies were used to calculate genetic heterogeneity among species pairs. First, the gene frequencies of the 9 microsatellites were tested with Markov chains (2,000 dememorizations, 40 batches at 2,000 iterations per batch). Second, Wright's *F* statistics [1951], with the procedure of Michalakis and Excoffier [1996], were applied. The standard deviations of the *F* statistics and the confidence intervals (95 and 99%) were calculated with jackknifing and bootstrapping over loci, respectively. The significance of *F*_{st} (genetic heterogeneity, subpopulation with regard to total) was calculated with the *G* test (10,000 allele randomizations, random mating not assumed) and with the log-likelihood *G* test (10,000 genotype randomizations, random mating not assumed) for among species values [Goudet et al., 1996]. The significances of *F*_{is} and *F*_{it} were similarly calculated (10,000 randomizations of alleles within and overall for the species analyzed). Nei's [1973] gene diversity analysis was also used to measure the gene heterogeneity between species as well as the repeat number of allele (*R*_{st}) statistic [Slatkin, 1995; Rousset, 1997;

Goodman, 1997]. These analyses are useful to determine the STRPs that most clearly discriminate among the 4 *Alouatta* species studied and to determine the degree of gene variability of each of these species relative to their genus.

The last genetics population analysis [Cornuet and Luikart, 1996; Luikart et al., 1998] was used to detect recent bottleneck events. Those species which experience recent bottlenecks have a decreased number of alleles and decreased expected levels of heterozygosity. However, the allele number is reduced faster than the expected heterozygosity and therefore the value of the expected heterozygosity calculated through the allele number with a coalescence method is lower than the expected heterozygosity obtained from the allele frequencies. For neutral markers, in a population in mutation-gene drift equilibrium, there is an equal probability that a given locus has a slight excess or deficit of expected heterozygosity from allele frequencies in regard to the heterozygosity calculated from the number of alleles. On the contrary, in a bottlenecked population, a large fraction of the loci analyzed will exhibit a significant excess of the expected heterozygosity from allele frequencies. Four tests (sign, standardized differences, Wilcoxon's signed rank tests and a graphical method [Luikart et al., 1998]) were used to calculate the probability of a recent bottleneck in the 4 *Alouatta* species studied. Populations which did not suffer a recent bottleneck event will yield an L shape distribution (a large proportion of alleles at low frequency), whereas recently bottlenecked populations will show a mode shift distribution, with fewer alleles at a low frequency.

Results

A. caraya had the lowest mean number of alleles per locus for the loci studied (3.14 ± 2.91 SE), while *A. seniculus* had the highest (5.25 ± 1.49 SE; table 2). The other 2 *Alouatta* species studied showed intermediate values. *A. caraya/A. seniculus* was the only significantly different comparison pair ($t = 2.867$, 10 d.f., $p < 0.02$). The bootstrap and jackknife procedures for small and variable sample sizes again showed that *A. seniculus* was the species with the highest mean allele number (4.42–4.84), while *A. caraya* was the species with the lowest (2.10–2.70). Therefore, these extreme mean allele numbers were not the result of different sample sizes analyzed for these *Alouatta* species.

A. seniculus had the highest expected heterozygosity (0.638 ± 0.264 SE), and *A. palliata* had the lowest (0.452 ± 0.327 SE; table 2). There was no significantly different comparison pair of heterozygosity among the 4 *Alouatta* species studied. In addition, the sample size of each species did not significantly affect the levels of microsatellite gene diversity (mean allele number and heterozygosity; regression, $p > 0.05$).

By locus, the microsatellites which introduced more genetic variability per species were D17S804 and D8S165 for *A. caraya*, AP74 and AP68 for *A. palliata*, D5S117 and D8S165 for *A. seniculus* and D5S111 and AP68 for *A. macconnelli*. Therefore, each howler species has specific microsatellites that provide large contributions to genetic diversity.

The results of the HWE analyses were as follows: there was a significant excess of homozygosity by locus in *A. palliata* (AP68: $F = 0.303$, $p = 0.036$; D5S111: $F = 0.819$, $p = 0.0000$; D5S117: $F = 0.316$, $p = 0.0438$), *A. seniculus* (AP74: $F = 0.451$, $p = 0.0036$; AP40: $F = 1$, $p = 0.0000$; D5S111: $F = 0.91$, $p = 0.0000$; D5S117: $F = 0.686$, $p = 0.0000$; D8S165: $F = 0.243$, $p = 0.0186$; D17S804: $F = 0.528$, $p = 0.0137$), *A. caraya* (D8S165: $F = 0.127$, $p = 0.0462$), but not in *A. macconnelli*. Therefore *A. macconnelli* and *A. caraya* (with the exception of D8S165) did not show evidence of deviation from

Table 2. Average number of alleles per locus (M_{an}) for 7 different DNA microsatellites and average expected heterozygosity for the 4 *Alouatta* species studied

Species	Average number of alleles per locus		Average expected heterozygosity
<i>Alouatta palliata</i>	Dc M_{an} (7)	4.666 ± 2.160	0.452 ± 0.327
	Bo	2.166	
	Jac	3.617	
<i>Alouatta seniculus</i>	M_{an} (7)	5.250 ± 1.488	0.638 ± 0.264
	Bo	4.420	
	Jac	4.840	
<i>Alouatta macconnelli</i>	M_{an} (7)	3.571 ± 2.070	0.567 ± 0.289
	Bo	3.206	
	Jac	3.418	
<i>Alouatta caraya</i>	M_{an} (7)	3.142 ± 2.911	0.549 ± 0.383
	Bo	2.100	
	Jac	2.700	

Dc = Direct count; Bo = bootstrap M_{an} estimation; Jac = Jackknife M_{an} estimation.

the HWE. In contrast, *A. palliata* and *A. seniculus* had homozygous excess deviations in 43% (3 out of 7) and 75% (6 out of 8) of the loci studied, respectively. Both *A. macconnelli* (especially at AP68, $F = -0.212$, and D17S804, $F = -0.412$) and *A. caraya* (D5S117, $F = -0.313$) had an excess of heterozygous genotypes for several loci. Taking all species together by locus, the microsatellites showing significant homozygous genotype excess were AP74 ($p = 0.0229$), AP40 ($p = 0.0000$), D5S111 ($p = 0.0000$), D5S117 ($p = 0.0000$) and D8S165 ($p = 0.0069$). In regard to the HWE, it is interesting to note the situation when all of the loci were studied together by species. In these instances, only *A. palliata* and *A. seniculus* showed an overall significant HWE deviation in favor of homozygous genotype excess ($\chi^2 = \text{infinity}$, 10 d.f., $p = 0.000000$ and $\chi^2 = \text{infinity}$, 16 d.f., $p = 0.000000$, respectively), while *A. caraya* and *A. macconnelli* did not. The significant excess of homozygous genotypes in combination with their large geographical distributions (Mexico, Costa Rica and Colombia for *A. palliata*, and all Colombia for *A. seniculus*) could be evidence of a Wahlund effect, that is the existence of diverse gene pools inside the distributions of these species.

The genetic heterogeneity among the 4 *Alouatta* species analyzed by locus was significant for 7 (AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D14S51 and D17S804, $p = 0$, SE = 0.00000; table 3) out of the 9 microsatellites used and therefore these markers have sufficient discriminative power to at least differentiate the howler monkey species in this study. On the other hand, the markers AP40 and D8S165 did not discriminate among the 4 species. Collectively, the set of 9 microsatellites yielded a considerable capacity to discriminate among the 4 species analyzed (Fisher's test,

Table 3. Genetic heterogeneity for all *Alouatta* species taken together

Loci	p value \pm SE
AP40	0,5787 \pm 0.0057
AP68	0.0000 \pm 0.0000*
AP74	0.0000 \pm 0.0000*
D5S111	0.0000 \pm 0.0000*
D5S117	0.0000 \pm 0.0000*
D6S260	0.0000 \pm 0.0000*
D8S165	0.0827 \pm 0.0031
D14S51	0.0000 \pm 0.0000*
D17S804	0.0000 \pm 0.0000*

Test combination (Fisher's method); $\chi^2 = \infty$, 16 d.f., $p = 0.0000$. Asterisks indicate significant differences.

$\chi^2 = \infty$, 16 d.f., $p = 0.000000$). Twenty-seven (75%) of the 36 *Alouatta* species pairs analyzed presented significant genetic heterogeneity. All pair comparisons were significant at AP68 and at D17S804, and most (83%) were significant at AP74 (except for *A. palliata/A. macconnelli*, $p = 0.2925$), D5S111 (except for *A. caraya/A. seniculus*, $p = 0.0752$) and D5S117 (except for *A. caraya/A. seniculus*, $p = 0.0711$). There was no significant heterogeneity in the pairs of *A. caraya/A. seniculus* (at D8S165 and D14S51) and *A. seniculus/A. macconnelli* (at D14S51) either. Microsatellite AP40 did not show any significant heterogeneity in comparison pairs and was consequently ineffective in the determination of differences among the *Alouatta* species studied.

Nei's diversity analysis is presented in table 4. The overall expected heterozygosity (H_t) for *Alouatta* is relatively high (0.727–0.796) compared with other Neotropical primate genera studied before for the same microsatellites [Ruiz-Garcia, 2005]. The G_{st} and G_{st}' statistics revealed considerable genetic heterogeneity among the *Alouatta* taxa studied (0.189–0.259), which supports that these taxa are indeed different species. The F statistics analysis of Michalakis and Excoffier [1996] showed a considerable excess of homozygous genotypes at global genus level and within the species. The genetic heterogeneity, such as it was estimated for relative genetic differentiation between subpopulations, was considerable (0.24–0.26; table 5).

The values of genetic heterogeneity among the species were greater when the R_{st} statistic was used. Microsatellites such as AP68, AP74, D5S111 and D14S51 presented extremely high values of heterogeneity among the species studied. The mean R_{st} values calculated with the Rousset [1997] and the Goodman [1997] procedures were 0.696 and 0.545, respectively. Thus, these values were between 2.5 and 3 times higher than those obtained with the F_{st} statistic.

The heterogeneity among species pairs by means of all microsatellites taken together supported that the Central American *A. palliata* was significantly different

Table 4. Nei's [1973] gene diversity analysis of the *Alouatta* genus studied herein

Loci	H _o	H _s	H _t	D _{st}	D _{st'}	H _{t'}	G _{st}	G _{st'}	G _{is}
AP68	0.744	0.774	0.904	0.130	0.195	0.969	0.144	0.201	0.039
AP74	0.540	0.699	0.856	0.157	0.209	0.908	0.183	0.230	0.228
AP40	0.000	0.280	0.217	-0.063	-0.095	0.186	-0.290	-0.509	1.000
D5S111	0.285	0.677	0.882	0.205	0.273	0.950	0.232	0.288	0.580
D5S117	0.543	0.694	0.846	0.152	0.202	0.896	0.180	0.226	0.217
D8S165	0.700	0.855	0.862	0.008	0.015	0.870	0.009	0.018	0.181
D14S51	0.071	0.083	0.414	0.330	0.440	0.524	0.798	0.841	0.144
D17S804	0.427	0.653	0.835	0.182	0.243	0.896	0.219	0.272	0.345
Overall	0.414	0.589	0.727	0.138	0.206	0.796	0.189	0.259	0.298

H_o = Observed heterozygosity; H_s = average expected heterozygosity in the subpopulations; H_t = expected heterozygosity in the overall population; D_{st} = absolute genetic differentiation between the subpopulations of the overall population; D_{st'} = the same as the statistic previously mentioned but corrected for sample size; H_{t'} = the same but corrected by sample size; G_{st} = relative genetic differentiation between subpopulations in regard to the gene diversity found in the total population; G_{st'} = the same but corrected by sample size; G_{is} = analogous statistic to the Wright [1965] F_{is} statistic to measure the degree of average subpopulation deviation with regard to the genotype frequencies in HWE.

Table 5. Hierarchical Wright's F statistics calculated by means of the procedure of Michalakis and Excoffier [1996] for all the *Alouatta* species studied herein

Loci	F _{it}	F _{st}	F _{is}	R
AP40	1.000*	-0.128	1.000*	
AP68	0.305*	0.221*	0.107	
AP74	0.508*	0.217*	0.372*	
D5S111	0.823*	0.341*	0.731*	
D5S117	0.419*	0.167*	0.302*	
D6S260	0.377*	0.216*	0.146*	
D8S165	0.207*	0.018	0.193*	
D14S51	0.828*	0.825*	0.014	
D17S804	0.483*	0.271*	0.290*	
Jackknifing over loci	0.515 ± 0.088	0.255 ± 0.073	0.348 ± 0.089	0.339 ± 0.086
Bootstrapping over loci				
95% CI	0.373 - 0.691	0.129 - 0.413	0.214 - 0.546	0.179 - 0.508
99% CI	0.336 - 0.742	0.096 - 0.474	0.182 - 0.613	0.135 - 0.580

R = Relationship coefficient; CI = confidence intervals. Asterisks indicate significant probabilities of F statistics with 10,000 randomizations; average F values obtained by jackknifing and bootstrapping.

from other South American *Alouatta* species (*A. seniculus*, $p = 0.0001$; *A. macconnelli*, $p = 0.0001$; *A. caraya*, $p = 0.045$). There were no significant differences in heterogeneity among *A. seniculus/A. caraya* ($p = 0.996$), *A. caraya/A. macconnelli* ($p = 0.946$) and *A. seniculus/A. macconnelli* ($p = 0.619$), which emphasizes that the Central American species is the most divergent of the 4 *Alouatta* species studied, and the genetic relatedness among the 3 South American species is more pronounced.

Only 1 of the 4 *Alouatta* species studied, *A. caraya*, supported recent bottleneck evidence: for the infinite allele mutation model, the standardized differences test offered a positive significant bottleneck event ($T_2 = 1.467$, $p = 0.041$) for this species. The Wilcoxon test also showed significant bottleneck results for an infinite allele mutation model ($p = 0.039$) as well as for a stepwise mutation model ($p = 0.0481$). Moreover, the graphical analysis offered a shifted mode in the allele frequency distribution, typical of a bottlenecked population for *A. caraya*. In contrast, for the other *Alouatta* species no evidence of a recent bottleneck was detected. Even for *A. palliata* ($T_2 = -2.813$, $p = 0.00245$) and *A. seniculus* ($T_2 = -1.732$, $p = 0.041$), the standardized difference test, for the stepwise mutation model, showed significant evidences of gene flow or population expansion, that is evolutionary events contrary to a recent bottleneck. Although we detected no bottleneck evidence in *A. macconnelli*, its allele frequency distribution had a shifted mode, which may indicate a spurious result reflective of a small sample size.

Discussion

The DNA microsatellite results support that *A. seniculus* had the highest genetic diversity, measured as mean allele number per locus and expected heterozygosity, of the 4 *Alouatta* species studied. *A. seniculus* also had the largest distribution range. On the other hand, the 2 most peripheral populations studied, *A. caraya* and *A. palliata*, showed the lowest mean allele number per locus and the lowest expected heterozygosity, respectively. The mean allele number per locus seemed to be more sensitive in the detection of significant differences among *Alouatta* species pairs than the expected heterozygosity. These reported differences were not significantly affected by sample size.

The gene diversity levels detected in *Alouatta* are higher than those detected with the same microsatellites and other markers, with regard to other Neotropical primates. For example, Ruiz-García et al. [2006] determined, for *Ateles* ($H_t = 0.67$) and for *Cebus* ($H_t = 0.61$), overall gene diversity levels lower than those detected for *Alouatta* ($H_t = 0.73-0.80$). Ruiz-García [2005] estimated the gene diversity levels of 7 different Neotropical primate species with the same microsatellites applied in *Alouatta*. These values were as follows: *Cebus albifrons*, $H = 0.452$, *Cebus apella*, $H = 0.378$, *Cebus capucinus*, $H = 0.239$, *Saimiri sciureus*, $H = 0.521$, *Aotus nancy-mae*, $H = 0.275$, *Ateles fusciceps*, $H = 0.415$, and *Lagothrix lagotricha*, $H = 0.538$. The value obtained for *A. seniculus* ($H = 0.638$) was significantly higher than all these values with the exception of that of *L. lagotricha*. Even the lowest heterozygosity value found, that of *A. palliata* ($H = 0.452$), is higher than the values obtained for 2 species of *Cebus* and 1 species of *Aotus*. Other authors with different genetic markers have also identified high values of heterozygosity in diverse *Alouatta* species. Melo et al. [1992] reported a value of 0.061 to analyze 50 individuals of *Alouatta belzebul*

belzebul using 18 isoenzymes and plasma proteins, which is a high value for a primate with this kind of markers. Furthermore, isoenzyme results at the carbonic anhydrase II locus showed considerable heterozygosity levels in *A. belzebul* ($H = 0.058$) and in *A. seniculus* ($H = 0.116$) [Sampaio et al., 1991]. The mean heterozygosity values within *Alouatta seniculus* troops, surveyed in Venezuela, ranged from 0.057 to 0.135, whereas the mean heterozygosity in woodland populations was 0.106 and in gallery populations reached 0.089 based on 29 biochemical loci [Pope, 1992], which are very high values for a mammal with this type of markers as well as it was the average heterozygosity ($H = 0.1$) found by Sampaio et al. [1996] for Brazilian populations of *A. seniculus* by means of protein electrophoresis. Therefore, the high levels previously found with isoenzyme markers were validated using DNA microsatellites in *Alouatta*. Contrary to these results, Figueiredo et al. [1998] showed that the mitochondrial cytochrome oxidase II nucleotide sequences in *A. seniculus* have a very low variation although only 2 samples were identical. Of the 620 base pairs studied at the cytochrome oxidase II gene, 18 base pairs were variable sites, although 13 were apomorphic mutations, leaving only 5 informative sites. The genetic distances among the haplotypes determined by Figueiredo et al. [1998] in *A. seniculus* were very low (0–1.15%). The nuclear diversity seems very high for these South American *Alouatta* species (isoenzymes and microsatellites), while their mitochondrial cytochrome oxidase II gene diversity is more restricted. This may indicate constrictive natural selection affecting this mitochondrial gene in *A. seniculus*.

It is remarkable that the *Alouatta* species studied with the lowest heterozygosity was *A. palliata* (Central American species) as it was previously determined with isoenzyme markers. Malgrem [1979] and Malgrem and Brush [1978] used 20 biochemical loci in 170 individuals captured in Costa Rica and calculated a heterozygosity value of only 0.01. Another Central American *Alouatta* species (*A. pigra* in Belize), also showed a low heterozygosity value (0.021) [James et al., 1997]. In this study, 36 allozyme loci were used and only 5.6% of these loci were polymorphic. The same authors also reported extremely low mtDNA gene diversity levels in this Central American *Alouatta* species. These results agree quite well with 4 historical population crashes in recent times (devastating hurricanes and yellow fever epidemic). The lowest heterozygosity level detected in *A. palliata* could be motivated by these facts. However, the differences in heterozygosity between Central and South American *Alouatta* species were smaller when microsatellites, instead of isoenzymes (and blood groups), were used. Furthermore, microsatellite loci are conspicuously more polymorphic than the traditional biochemical loci. Therefore, they could be the targets of population genetic studies on primate species, and their use could help reveal evolutionary events that modulate the genetic structure of neotropical primate species. The lower heterozygosity level that we report for *A. palliata* supports the findings of Rylands et al. [1997] that this species is seriously threatened due to its limited distribution, forest destruction, hurricanes and epizootic epidemics. *A. seniculus* and *A. caraya* were among the few primates to receive a 'safe' (no longer threatened) status by Wolfheim [1983]. Our microsatellite gene diversity results for *A. seniculus* could support the quoted status, but they completely disagree in the case of *A. caraya*. We reported that *A. caraya* presented the lowest mean number of alleles per locus and there is also some evidence of a recent bottleneck. Our results agree with the low genetic distance estimates between the *A. caraya* cytochrome b haplotypes reported by Nascimento et al. [2005], which means that no abundant genetic hetero-

genity was presented in this species. Now that we have identified *A. caraya* as having low genetic diversity, the appropriate conservation methods should be applied in order to protect and improve its status.

The analysis of the HWE revealed that 2 of the 4 species studied were not in equilibrium, but were homozygous genotype excess. These species were *A. palliata* and *A. seniculus* (43 and 75%, respectively, of the markers not in HWE). Several possible explanations for the heterozygous deficiencies [Rooney et al., 1999; Spong et al., 2000] are: population subdivision (Wahlund effect), strong genetic drift and endogamy, hitchhiking, null alleles, synteny or natural selection in favor of homozygous genotypes. The most plausible explanation for our case is population subdivision. Strong gene drift and elevated consanguinity can be discarded since the genetic diversity levels and the average number of alleles per locus were considerable. If gene drift was important, we would expect lower levels of gene diversity than those obtained herein. Hitchhiking and synteny were discarded since the loci studied were deliberately distributed in different chromosomes, and the possibility of all loci being affected is remote. The same explanation could be used to discard natural selection in favor of homozygosity. Null alleles also seem unlikely to produce high and similar levels of homozygous excess, simultaneously for all the loci studied. Perhaps an individual locus could be affected, but it is highly improbable that all the loci analyzed (9 microsatellites) present the same phenomenon simultaneously with similar magnitude in some species and not in others. Allelic dropout was highly improbable because the PCR reactions were repeated 3 times for DNA extracted from hairs, teeth and bones to ratify the genotypes obtained from these tissues. Therefore, these deviations may suggest the existence of a Wahlund effect within these species. This seems probable in the case of *A. palliata*, because we analyzed several animals from previous morphological and geographic subspecies assigned (*A. p. palliata*, *A. p. mexicana*, *A. p. aequatorialis*), which emphasizes the existence of real molecular differences among these *A. palliata* populations. In contrast, the samples of *A. seniculus* studied were all from Colombia, where only the subspecies *A. seniculus seniculus* has been defined [Hernández-Camacho and Cooper, 1976]. We can affirm that there are highly diverse molecular gene pools of *A. seniculus* in Colombia, which are not recognized at the morphological level. This suggests that a new systematic revision of this species is required at the Colombian level. On the contrary, in the cases of *A. caraya* and *A. macconnelli* no significant deviations in favor of homozygous excess were detected. For the first species, we combined samples from Argentina and Bolivia, but this did not introduce homozygous excess by the Wahlund effect. This revealed microsatellite allele frequencies that were similar among populations of this species in different South American countries and were in contradiction to the findings of Nascimento et al. [2005].

The majority of the markers analyzed yielded significant heterogeneity between the 4 *Alouatta* species studied. The following microsatellites, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D14S51 and D17S804, significantly discriminated among these species. It is remarkable that the species pair *A. seniculus/A. caraya* presented the lowest significant differences and that *A. palliata* presented the highest significant difference relative to the 3 South American species, which agrees quite well with the findings of Cortés-Ortiz et al. [2003] using 3 mitochondrial genes.

The overall gene heterogeneity among the 4 species studied was significantly higher ($G_{st} = 0.189-0.259$) than that determined for different species of *Cebus* ($G_{st} =$

0.08–0.11) and different species of *Ateles* ($G_{st} = 0.105\text{--}0.123$) with the same microsatellite set. The R_{st} results (0.545–0.696) were extremely high for *Alouatta* compared with *Cebus* (0.256–0.331) and *Ateles* (0.251). Therefore, the microsatellite molecular evolution seems to be more rapid in *Alouatta* than in other Neotropical primates, such as *Cebus* and *Ateles*. Note that the use of differences in the variance of the repeat numbers of the alleles (R_{st}) is more relevant in describing differences between the *Alouatta* species than the allele frequencies (F_{st}).

A recent bottleneck was only significantly detected in *A. caraya*. This result is relevant because traditionally this species has not been considered to be in a dangerous conservation position as was mentioned before. Another striking result was that a recent bottleneck was not detected in *A. palliata* although this species had the lowest level of gene diversity. In contrast, other authors have shown recent bottlenecks in several Central American howler species [Malgrem, 1979; James et al., 1997]. It is possible that we did not detect a recent bottleneck in this species because the DNA markers employed were extremely polymorphic prior to the demographic reduction. Another explanation is probably the best to understand the nondetection of a bottleneck for *A. palliata*, because as it was previously mentioned individuals of *A. p. palliata* (from Costa Rica), *A. p. mexicana* (from Mexico) and *A. p. aequatorialis* (from Colombia) were introduced in the analysis. Therefore, the *A. palliata* samples reflect a set which contains differentiated gene pools and whose presence is antagonistic to the detection of recent bottlenecks with the procedure of Cornuet and Luikart [1996].

The analysis of the molecular microsatellite genetic structure within the *Alouatta* genus is a powerful and straightforward method that is helpful in determining the evolution of these species and for presenting new insights into their genetic conservation. Our laboratory is currently conducting similar studies with other Neotropical primate genera including *Ateles*, *Lagothrix*, *Cebus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Callicebus* and *Saguinus*.

Acknowledgments

The first author (M.R.G.) thanks the Dean of the Faculty of Sciences and the Academic Viceroy of the Pontificia Universidad Javeriana of Bogota, Colombia, for their financial support. Thanks also go to the Instituto von Humboldt at Villa de Leyva for the use of their facilities and for providing the opportunity to remove skin samples from its howler monkey pelt collection for the extraction of DNA. Special thanks go to the ex-curator of the mammalogy collection, Miss. Yaneth Muñoz-Sabas, and the directors of the Instituto von Humboldt, Dr. Christian Samper and Dr. Fernando Gast. M.R.G. is indebted to many people throughout all Colombia, who provided hair or tissue samples (teeth, bone, skin) from howler monkeys maintained in captivity or that had been hunted. Indeed, many thanks go to Luz Mercedes Borrero and Marcela Ramirez for providing samples of red howler monkeys from the Antioquia region, to Fernando Nassar for providing samples of red howler monkeys from La Guajira and to Dr. François Catzeflis, who provided 4 of the 7 DNA samples used of *A. macconnelli* from French Guiana. Similarly, many thanks go to Dr. Liliana Cortés-Ortiz (Xalapa, Mexico), who provided 2 DNA samples of *A. palliata mexicana*. This work is dedicated to the memory of Prof. José Ignacio 'El Mono' Hernández-Camacho, the real pioneer of primatology in Colombia, who died in 2001. May he rest in peace.

- Ruiz-García M (2005). The use of several microsatellite loci applied to 13 Neotropical primates revealed a strong recent bottleneck event in the woolly monkey (*Lagothrix lagotricha*) in Colombia. *Primate Report* 71: 27–55.
- Ruiz-García M, Parra A, Romero-Alean N, Escobar-Armel P, Shostell J (2006). Genetic characterization and phylogenetic relationships between *Ateles* species (Atelidae, Primates) by means of DNA microsatellite markers and craniometric data. *Primate Report*, in press.
- Rylands AB, Rodríguez-Luna E, Cortés-Ortiz L (1997). Neotropical primate conservation – The species and the IUCN/SSC primate specialist group network. *Primate Conservation* 17: 46–69.
- Rylands AB, Schneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodríguez-Luna E (2000). An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical Primates* 8: 61–93.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sampaio MIC, Schneider MPC, Barroso CMI, Silva BTF, Schneider H, Encarnación F, Montoya E, Salzano FM (1991). Carbonic anhydrase II in New World monkeys. *International Journal of Primatology* 12: 389–402.
- Sampaio I, Schneider MPC, Schneider H (1996). The taxonomy of the *Alouatta seniculus* group: biochemical and chromosome data. *Primates* 37: 67–75.
- Slatkin M (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457–462.
- Spong G, Johansson M, Björklund M (2000). High genetic variation in leopards indicates large and long-term stable population size. *Molecular Ecology* 9: 1773–1782.
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506–513.
- Weber JL, May PE (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *The American Journal of Human Genetics* 44: 388–396.
- Weir BS, Cockerham CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358–1370.
- Witte SM, Rogers J (1999). Microsatellite polymorphisms in Bolivian squirrel monkeys. *American Journal of Primatology* 47: 75–84.
- Wolfheim JH (1983). *Primates of the New World: Distribution, Abundance and Conservation*. Seattle, University of Washington Press.
- Wright S (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323–354.

COMUNICACIONES

*Parásitos en monos carablanca Cebus capucinus
(Primates: Cebidae) de Costa Rica*

MISAEAL CHINCHILLA*^{***}, OLGA M. GUERRERO*, GUSTAVO A. GUTIÉRREZ-ESPELETA**,
RONALD SÁNCHEZ**** y IDALIA VALERIO CAMPOS***

PARASITES OF WHITE FACE MONKEYS (*Cebus capucinus*)
(PRIMATES: CEBIDAE) OF COSTA RICA

Fecal samples of 53 white face monkeys (Cebus capucinus) from some sites of Costa Rica were studied for blood and intestinal parasites. Animals were anesthetized with darts containing Telazol, blood and fecal samples were collected and all the material was studied in the laboratory. For blood parasites, Giemsa stain and Knott concentration was performed. Intestinal parasites were studied by direct examination in 0,85% saline solution and a Iodine solution. Haematoxylin stain was used for better protozoa identification. Strongyloides sp, hookworms, acanthocephalid eggs and other nematodes, as well as Tritrichomonas sp (more frequent) and other protozoa were found. The presence of at least one parasites was observed in 33.3% to 100% of the fecal samples with an average of 73.6%. There was not any correlation between sex and infection rate, but the presence of parasite was higher in heavier (older) animals. Microfilarias were the only blood organism detected. The reasons for these high infection rates could be explained for feed diversity, contaminated soil and water contact and sociability of these animals, among other factors.

Key words. Cebus capucinus, Parásitos de Monos, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

Se considera que la especie *Cebus capucinus* es la que presenta el mayor número de ejemplares en Costa Rica; sin embargo, dada la deforestación y elevado crecimiento habitacional, ésta, como las otras especies de primates no humanos de Costa Rica, están en serio peligro de extinción^{1,2}. La falta de refugio para los animales así como la eliminación paulatina de árboles cuyas hojas, flores y frutos constituyen el alimento natural de estos monos son otras causas de riesgo de una

constante baja de la población³. Además, las infecciones parasitarias constituyen un factor negativo, sobre las poblaciones de primates especialmente cuando éstos se agrupan por falta del hábitat normal haciéndose más proclives a la transmisión⁴. Por estas razones, simultáneamente con un estudio genético en primates de Costa Rica, que se ha desarrollado en los últimos años con las especies de monos de Costa Rica: mono congo o aullador (*Alouatta palliata* Gray, 1849), tití o ardilla (*Saimiri oerstedii*, Reinhardt, 1872), colorado o araña (*Ateles geoffroyi*, Kuhl, 1820)

* Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

** Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

*** Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).

**** Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

y carablanca (*C. capucinus*, Linnaeus, 1758), se realizó un estudio parasitológico de varios ejemplares de esta última especie. Para *A. palliata* ya se han publicado los datos obtenidos sobre parásitos intestinales⁵ y sobre la presencia de hemoparásitos se han informado por primera vez en Costa Rica de: el *Plasmodium brasilianum*⁶ y el *Trypanosoma minasense*⁷. También se ha informado de la presencia de un cuterébrido en *A. palliata*⁸. El presente trabajo enfoca el análisis de los endoparásitos encontrados en otra de las especies estudiadas, el mono carablanca.

En cuanto a ectoparásitos en *C. capucinus* se ha descrito por primera vez en Costa Rica, una nueva especie de ácaros⁹. Aunque no existen bastantes referencias en relación con los parásitos de las especies del género *Cebus*, incluyendo *C. capucinus* se tiene lo siguiente. Los parásitos sanguíneos o tisulares encontrados son *Trypanosoma mycetae*, *T. cruzi*, *T. minasense*, *Toxoplasma gondii*¹⁰, *P. brasilianum*¹¹, *Dipetalonema gracile*¹², *D. marmosetae*, *D. obtusa*¹³. En cuanto a parásitos intestinales se cita la presencia de *Strongyloides* sp, *Trichomonas* sp, Acaridios, *Entamoeba* sp, *Endolimax* sp¹³⁻¹⁷.

El objetivo de este trabajo es entonces contribuir al conocimiento de los parásitos intestinales y sanguíneos de *C. capucinus*, comunicando los resultados obtenidos en varios de estos animales estudiados en diferentes zonas de Costa Rica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 53 ejemplares de la especie *C. capucinus* provenientes de diferentes lugares de Costa Rica: 9 del Pacífico Norte (Parque Nacional Palo Verde, Finca el Encanto en Guanacaste), 35 del Pacífico Central (Parque Manuel Antonio, Parque Nacional Reserva Curú Puntarenas; Higuito de San Mateo Alajuela), 3 del Pacífico Sur (Parque Nacional Corcovado, Puntarenas) y 6 del Caribe (Tirimbina y Sendero el Pavo, Sarapiquí).

El método de captura de los animales ha sido descrito previamente⁵. En resumen, los monos fueron anestesiados con tiletamina colocada en los correspondientes dardos según las recomendaciones de Swan¹⁸; al caer, los animales eran recibidos en una red sostenida por 4 personas.

Se procedió a realizarles un examen físico, además de tomarle muestras de heces usualmente

expulsadas en forma espontánea y de ser necesario en algunos casos, se les estimuló para que defecaran. Las heces fueron colectadas en recipientes plásticos y transportadas al laboratorio para su análisis. Para el estudio de hematozoarios se extrajo sangre venosa en tubos con anticoagulante (EDTA) y se prepararon extensiones en portaobjetos para su estudio posterior.

Después de obtenidas éstas y otras muestras biológicas, al animal ya casi despierto se le daban pequeñas cantidades de agua para despertarlas por completo. Cuando ya se le notaba con capacidad de asirse a los objetos, se le dejaba ir colocándolo en un árbol para que se alejara a su hábitat normal.

En el laboratorio las heces fueron revisadas directamente en solución salina al 0,85% y en una solución de lugol D' Antoni para observar y clasificar los trofozoitos y quistes de los protozoarios así como los huevecillos, larvas y adultos de helmintos intestinales. En algunos casos los protozoos fueron teñidos con hematoxilina férrica de Heidenhain que tiñe muy bien las organelas de esos organismos facilitando su clasificación definitiva.

En el caso de los hematozoarios (únicamente microfilarias en este caso) los extendidos sanguíneos fueron teñidos por la técnica de Giemsa y a una parte de la sangre colectada se le realizó una concentración de Knott^{19,20}.

Se estableció una relación entre las especies y el número de parásitos encontrados, con la zona geográfica estudiada, el sexo y el peso de los animales. Para el peso de los animales se establecieron 3 categorías: de 0,5 a 1,5 kg, 1,51 a 2,5 kg y 2,51 a 3,7 kg.

RESULTADOS

De acuerdo con las zonas que se indican en el cuadro 1, las infecciones por parásitos intestinales en las muestras estudiadas estuvieron entre 0 y el 100%, resaltando Palo Verde y el Encanto, ambas del Pacífico Norte en que el porcentaje de monos infectados fue mayor (100 y 75% respectivamente).

Las infecciones intestinales por helmintos fueron más elevadas que por protozoos. En cuanto a los animales en que se encontraron microfilarias en la sangre se observó que los de Higuito de San Mateo (Pacífico Central y Tirimbina) mostraban, una mayor infección (Tabla 1). La positividad

Tabla 1. Parásitos en *Cebus capucinus* silvestres de Costa Rica de acuerdo con la zona geográfica estudiada

Geográfica	N° de Muestras		Nemátodos				Protozoos				Total positivos (Al menos 1 parásito)			
	N°	% *	Estrongilídeos		Filarias		Otros		<i>Tritrichomonas</i>		Otros			
	N°	% **	N°	% **	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
Manuel Antonio	20	37,7	4	20	2	10	6	30	3	15	1	5	15	75
Higuito-Sn Mateo	9	17	N.E.	N.E.	7	77,8	N.E.	—	N.E.	—	N.E.	—	7	77,8
Reserva Curú	6	11,3	1	16,7	1	16,7	0	0	0	0	0	0	2	33,3
Palo Verde	5	9,4	0	0	0	0	5	100	0	0	0	0	5	100
El Encanto	4	7,5	1	25	0	0	3	75	0	0	0	0	4	100
Corcovado	3	5,7	0	0	1	33,3	1	33,3	0	0	1	33,3	2	66,7
Sendero El Pavo	3	5,7	1	33,3	0	0	1	33,3	0	0	0	0	2	66,7
Tirimina-Sarapiquí	3	5,7	0	0	2	66,7	0	0	0	0	0	0	2	66,7
Total	53	100	7	13	13	24,5	16	30,2	3	5,7	2	3,8	39	73,6

*: % del total de monos estudiados

** : % del total de monos en cada zona

N.E: No estudiados en heces

general (al menos un parásito encontrado) fue bastante considerable, entre 33,3% en los animales de la Reserva Curú (Pacífico Central) y el 100% en las zonas del Pacífico Norte para un promedio general del 73,6% de infección.

Los porcentajes de infección en monos hembras o machos fueron muy similares tanto para los parásitos intestinales (alrededor del 50%) como para las filarias (cerca del 20%) y a la positividad total que fue alrededor del 65% (Tabla 2).

Los machos presentaron una infección mayor (91,7%) siendo los de menor peso los más parasitados (66,7%) mientras que en las hembras el más alto grado de infección estuvo en los ejemplares de peso intermedio, 1,5 a 2,5 kg (100%). Sin embargo, no hubo diferencias sustanciales en los machos puesto que los porcentajes de infección fueron altos en los monos de los 3 ámbitos de peso establecidos (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Existen relativamente pocos estudios sobre las infecciones parasitarias en primates del género *Cebus* y más específicamente en *C. capucinus*^{14-16,18,21}. Sin embargo, los datos conocidos indican que esta especie presenta mayor grado de infección parasitaria que otras especies. En efecto, Stuart et al¹³, encontró que el 91% de las muestras de heces de monos tenían algún parásito, mientras que sólo el 49% de las muestras de

Alouatta palliata y el 51% de las de *Ateles geoffroyi* presentaban parásitos. En un estudio previo de *A. palliata* realizado en Costa Rica, igualmente se encontraron parásitos únicamente en el 44,1% de 102 muestras de heces estudiadas¹. Nuestros datos concuerdan con lo anteriormente indicado ya que los índices de infección encontrados en 53 ejemplares de *C. capucinus* oscilaron entre 66,7% a 100% independientemente del área de colecta del país. Sólo en el caso de la Reserva Curú la infección fue baja (33,3%) pero aún así la positividad promedio general fue del 73,6%. Esta mayor infección se relaciona con el comportamiento de estos animales y la variedad de su dieta alimentaria. En efecto esta especie se alimenta de gran variedad de frutas e insectos^{17,21,22}. Además únicamente estos monos carablanca beben agua almacenada en huecos en el suelo de donde también ingieren alimento usualmente más contaminado^{23,21}. En Costa Rica otro factor importante es el contacto que tienen estos animales con el ser humano, pues por ejemplo en el parque Manuel Antonio se ha observado que reciben alimento de los turistas visitantes. Como ha sido demostrado^{17,24} esto aumenta la posibilidad de transmisión de parásitos. Por su carácter sociable, las hembras, machos y juveniles permanecen juntos^{21,22} lo que facilita los procesos de transmisión entre ellos. Por lo tanto, no es de extrañar que en nuestro estudio la infección en hembras y machos fuera prácticamente igual (Tabla 2); si bien es cierto se estudiaron mayor

Tabla 2. Parásitos en *Cebus capucinus* silvestres de Costa Rica de acuerdo con el sexo de los animales

SEXO	Nº de Muestras		Positividad				Total positivos	
			Paras. intest		Filarias		(Al menos 1 parásito)	
	Nº	%*	Nº	%**	Nº	%	Nº	%
Hembras	14	26,4	7	50	3	21	9	64,3
Machos	39	73,6	19	48,7	8	20,5	26	66,7
Total	53	100	26	49,1	11	20,8	35	66,0

*: % del total de monos estudiados
 **: % del total de monos de cada sexo

número de machos que hembras, la diferencia en los datos porcentuales no es importante.

La infección por nemátodos intestinales es mayor a la producida por protozoos y dentro de los primeros los más frecuentes son los strongilídeos (Tabla 1). En este sentido en los pocos trabajos que existen, es *Strongyloides* sp el más frecuente^{13,16,17} lo cual fue igual en nuestro trabajo. El hecho de que las formas infectantes de los nemátodos sean más resistentes que las de amebas y flagelados, explica los resultados obtenidos. Otros parásitos encontrados en estos primates, son los acantocéfalos que necesitan un insecto para completar su ciclo de vida²⁵, siendo la transmisión favorecida por los hábitos alimentarios de estos monos donde los insectos son parte fundamental de la dieta^{21,26}.

En cuanto a parásitos sanguíneos sólo se encontraron microfilarias que podrían pertenecer al género *Filariopsis*¹⁴ o *Dipetalonema* reportado previamente¹⁰. En esos estudios se informa de la presencia de microfilarias de esos posibles géneros en porcentajes cercanos a 25%, dato muy cercano al obtenido en este trabajo pues el promedio de muestras con microfilarias fue de 24,5% (Tabla 1). No se encontraron tripanosomas en las muestras estudiadas lo cual podría deberse a que en general los porcentajes de infección por *T. cruzi* reportados por otros son muy bajos: 3,8% en *Cebus apella*²⁷ y 5% en *C. capucinus*¹⁰.

Otros tripanosomas del sub género *Herpetosoma* tales como *T. rangeli* y *T. minasense* se han encontrado en el 12,5% y 10% respectivamente de los *C. capucinus* estudiados¹⁰.

Aunque como parte del estudio global al que pertenece este estudio ya se ha informado de la presencia de *P. brasili-*

litanum en *A. palliata*, no ha sido así en *C. capucinus*. Probablemente la razón es que de nuevo el porcentaje de infección por malaria conocido para este último primate es muy bajo, 2,2%, mientras que para *A. palliata* el porcentaje informado es de 14,3%²⁸.

En cuanto a la relación del peso, con el índice de infección se encontró que conforme aumenta el peso, las infecciones generalmente son mayores (Tabla 3), observación que concuerda con otros estudios^{29,30}, quienes establecen una relación directa entre el tamaño del animal y el número y variedad de especies de parásitos encontrados en ellos.

Aparte de esta relación biológica, existen otras causas que tiene estrecha relación con las infecciones parasitarias de primates en general y dentro de ellos los monos carablanca. En efecto en estudios cuidadosamente realizados se ha determinado que el tipo de alimentación, la sociabilidad de estos animales, la densidad de las poblaciones o el recorrido de las tropas, tiene una marcada influencia para que se produzca una mayor o menor infección por parásitos^{29,31}.

El estudio de los parásitos en primates es importante desde el punto de vista de la

Tabla 3. Positividad (%) de parásitos en relación con el peso y sexo de 54 *Cebus capucinus* estudiados

SEXO	Ámbitos de peso (Kg)						Total positivos		
	0.5 a 1.5		1.51 a 2.5		2.51 a 3.7				
	Total	Pos	% *	Total	Pos	%	Total	Pos	%
Hembras	1	0	0	11	11	100	2	1	50,0
Machos	6	4	66,7	21	12	57	12	11	91,7
Total	7	4	57,1	32	23	71,9	14	12	85,7

*: % del total de monos estudiados
 **: % del total de monos de cada sexo

conservación de la biodiversidad costarricense. Altizer et al⁴, han realizado estudios que indican el riesgo que significa para los primates las infecciones parasitarias. Si bien es cierto éste no es el único factor involucrado en la extinción de estos animales, coadyuva en el proceso de extinción en conjunto con otros factores en donde la fragmentación boscosa quizá es la más importante por el gran impacto que produce³¹. La infección por parásitos podría contribuir a apresurar el proceso ya que al no poderse desplazar los animales, se aumenta la posibilidad de la transmisión de los parásitos.

Estudios en proceso en la UCIMED tratan de encontrar árboles cuyas hojas, flores y frutos tengan efecto antiparasitario, como ya se ha sugerido en otros estudios¹⁷, con el objetivo de encontrar algún método natural de protección de éstos y las otras especies de primates presentes en nuestro país. Si se encuentran plantas con este efecto, éstas podrían ser recomendadas para su cultivo pues tendrían el doble propósito de protección contra los agentes infecciosos, además de constituir una dieta más natural de los monos. Todos estos estudios tienen el propósito de colaborar en los procesos y programas de conservación de la biodiversidad costarricense.

RESUMEN

Se capturaron y anestesiaron un total de 53 primates de la especie *Cebus capucinus* por medio de dardos con tiletamina de diferentes zonas de Costa Rica. Todos los animales fueron estudiados por la presencia de parásitos sanguíneos e intestinales. En la sangre sólo se encontraron microfilarias (24,5%) las cuales fueron diagnosticadas usando la concentración de Knott y la tinción de Giemsa. Los parásitos intestinales fueron observados en forma directa y algunos de los protozoos también fueron teñidos con hematoxilina de Heidenhain. Los parásitos encontrados fueron *Strongyloides* sp, uncinarias, acantocéfalos y otros nemátodos no identificados, en porcentajes que variaron según las zonas de captura. Los índices de infección determinados

por la presencia de al menos un parásito fluctuaron entre 33,3% y el 100% con una media general del 73,6%, no existiendo diferencias de infección en cuanto al sexo de los animales. En general se notó un mayor grado de infección en los animales de más peso (más edad) tal y como se ha observado en otros países. Se considera que las infecciones parasitarias son más elevadas en esta especie, posiblemente por tener una alimentación más variada, un mayor contacto con el suelo y aguas contaminadas, así como la gran sociabilidad de estos monos. La presencia de estos parásitos podría ser una de las causas, entre otras para acelerar el riesgo de extinción de los primates en Costa Rica y en América.

REFERENCIAS

1. VILLALOBOS F, VALERIO A A, RETANA A P. Aphylogeny of howler monkeys (Cebidae: *Alouatta*) base don mitochondrial, chromosomal and morphological data. *Rev Biol Trop* 2004; 52: 665-77.
2. ZALDIVAR M E, ROCHA O, GLADER K E, et al. Distribution, ecology, life history, genetic variation, and risk of extinction of nonhuman primates from Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2004; 52: 679-93.
3. GILBERT F F, D G DODDS. The philosophy and practice of wildlife management. Robert E. Krieger Publishing, Malabar, Florida. 1978.
4. ALTIZER S, NUNN C L, THRALL P H, et al. Social Organization and Parasite Risk in Mammals: Integrating Theory and Empirical Studies. *Ann Rev Ecol Evol Syst* 2003; 34: 517-47.
5. CHINCHILLA M, GUERRERO O, GUTIERREZ G A, et al. Parásitos intestinales en monos congo *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Rev Bio Trop* 2005; 53: 437-45.
6. CHINCHILLA M, GUERRERO O M, GUTIÉRREZ G, SÁNCHEZ R. Presencia de *Plasmodium brasilianum* (Apicomplexa, Plasmodiidae) en el mono congo (*Alouatta palliata*, Primates: Cebidae) de Costa Rica. Importancia epidemiológica en relación con el ser humano. *Parasitol Latinoam* 2006; 61: 192-6.
7. CHINCHILLA M, TROYO A, GUERRERO O, et al. Presencia de *Trypanosoma minasense* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Parasitol Latinoam* 2005; 60: 90-2.
8. CALDERON O, TROYO A, SOLANO M E, et al. Infección por larvas de *Alouattamyia baeri* (Diptera: Cuterebridae) en monos aulladores, *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de la Costa Caribe de Costa Rica.

Correspondencia a:
Misael Chinchilla Carmona Ph.D.
Departamento de Investigación, Escuela Autónoma de Ciencias Médicas, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).
San José, Costa Rica, América Central.
Email: chinchillacm@UCIMED.com

- Neotropical Primates 2004; 12: 21-4.
- 9.- TROYO A, SOLANO M E, CALDERÓN O. Two new species of *Listrocarpus* Fain (Acari: Atopomelidae) from *Cebus capucinus* Linnaeus and *Saimiri oerstedii* Reinhardt (Primates: Cebidae) in Costa Rica. System. Appl. Acarol. Special Publications 2004; 18: 1-8.
 - 10.- SOUSA O E, ROSSAN R N, BAERG D C. The prevalence of tripanosomes and microfilariae in Panamanian monkeys. Am J Trop Med Hyg 1974; 23: 862-8.
 - 11.- GARNHAM P C. Malaria parasites and other Haemosporidia. Black-well Scientific Publications, Oxford, England. 1966.
 - 12.- WEBBER W A. *Dirofilaria aethiops*, a filarial parasite of monkeys. I. The morphology of the adult worms and microfilariae. Parasitol 1955; 45: 369-77.
 - 13.- STUART M D, PENDERGAST V, RUMFELT S, et al. Parasites of wild howlers (*Alouatta* spp.). Int J Primatology 1998; 19: 493-512.
 - 14.- SANTA CRUZ A M, BORDA J T, GÓMEZ L, ROTT M I O. Pulmonary *Filaropsis arator* in capuchin monkeys (*Cebus paella*). Lab Primate Newsl 1998; 37: 15-6.
 - 15.- SANTA CRUZ A M, BORDA J T, ROTT M I O, GÓMEZ L. Endoparasitosis in captive *Cebus apella*. Lab Primate Newsl 2000; 39: 10-2.
 - 16.- PHILLIPS K A, HAAS M E, GRAFTON B W, YRIVARREN M. Survey of the gastrointestinal parasites of the primate community at Tambopata National Reserve, Perú. J Zool Lond 2004; 264: 149-51.
 - 17.- STONER K E, GONZÁLEZ A M, MALDONADO S. Infecciones de parásitos intestinales de primates: Implicaciones para la conservación. Universidad y Ciencia 2005; 2: 61-72.
 - 18.- SWAM G E. 1992. A summary of the practical aspects of drugs commonly used for the restraint of wild animals. Capture and Care Manual online; http://www.wildlifedecisionsupport.com/captureandcare/sectiona/drugs/01_swam.htm
 - 19.- KNOTT J. 1939. A method for making microfilarial surveys on day blood. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992; 33: 191-6.
 - 20.- CASTRO A, GUERRERO O M. Técnicas de diagnóstico parasitológico. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José Costa Rica 2004; Pág. 74.
 - 21.- FRAGASZY D, VISALBERGHI E, FEDIGAN L. The complete capuchin. Cambridge University Press. Gran Bretaña 2004; 339 pp.
 - 22.- GIACALONE J, MITCHELL B J. White - Throated capuchin (*Cebus capucinus*). Great Ideas in Science Mammal Directory: White - Throated Capuchin. 1777.
 - 23.- DUNN F L. The parasites of *Saimiri* in the context of platyrrhine parasitism. In The Squirrel Monkey ed. L.A. Rosenblum and R. W. Cooper, New York: Acad Press. 1968; 31-68.
 - 24.- STUART M D, STRIER K B. Parasites and primates: a case for a multidisciplinary approach. Int J Primatology 1995; 6: 577-92.
 - 25.- SCHMIDT G D, ROBERTES L S. Foundations of Parasitology. Mc Graw-Hill Co. New York. USA. 2005; Págs. 500-3.
 - 26.- JANSON C H, BOINSKY S. Morphological and behavioral adaptations for foraging in generalist primates: the case of the Cebines. Am J Phys Anthropol 1992; 88: 483-98.
 - 27.- BAR M E, ÁLVAREZ B M, OSCHEROV E B, et al. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la Provincia de Corrientes, Argentina. Rev Soc Bras Med Trop 1999; 32: 297-276.
 - 28.- NUNN C L, HEYMANN E W. Malaria infection and host behavior: a comparative study of Neotropical primates. Behav Ecol Sociobiol 2005; 00: 1-8.
 - 29.- VITONE N D, ALTIZER S, NUNN C L. Body size, diet and sociality influence the species richness of parasitic worms in anthropoid primates. Evol Ecol Res 2004; 6: 183-99.
 - 30.- EZENWA V O, PRICE S A, ALTIZER S, et al. Host traits and parasite species richness in even and odd-toed hoofed mammals, Artiodactyla and Perissodactyla. 2006; OIKOS 0:00-00.
 - 31.- NUNN C L, ALTIZER S, JONES K E, SECHREST W. Comparative tests of parasite species richness in primates. The American Naturalist 2003; págs 597-614.
 - 32.- PEDERSEN A B, ALTIZER S, POSS M, et al. Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. Int J Parasitol 2005; 35: 647-57.
 - 33.- NUNN C L, TAE-WON A. Ranging patterns and parasitism in primates. Biol Lett 2006; 2: 351-4.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado en parte con el proyecto No. 111-A1-015 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y por el Departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). Los autores agradecen profundamente a los estudiantes de grado y posgrado de Biología y Microbiología de la Universidad de Costa Rica, Universidad Nacional e Instituto Tecnológico por su apoyo en la captura y manejo de los animales.

- Ministério do Meio Ambiente. 2003. *Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção*. Website: <http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna>.
- Norconk, M. A. 1996. Seasonal variation in the diets of white-faced and bearded saki (*Pithecia pithecia* and *Chiropotes satanas*) in Guri Lake, Venezuela. In: *Adaptive Radiations of Neotropical Primates*, M. A. Norconk, A. L. Rosenberger and P. A. Garber (eds.), pp. 403-425. Plenum Press, New York.
- Norconk, M. A., Grafton, B. D. and Conklin-Brittain, N. L. 1998. Seed dispersal by Neotropical seed predators. *Am. J. Primatol.* 45: 103-126.
- Oren, D. C. 1988. Uma Reserva Biológica para o Maranhão. *Ciência Hoje* 8: 36-45.
- Peetz, A. 2001. Ecology and social organization of the bearded saki *Chiropotes satanas chiropotes* (Primates: Pitheciinae) in Venezuela. *Ecotrop. Monog.* 1: 1-170.
- Pereira, A. P. C. P. 2002. Ecologia alimentar do cuxiú-preto (*Chiropotes satanas satanas*) na Fazenda Amanda, Pará. Master's thesis, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém.
- Port-Carvalho, M. and Ferrari, S. F. 2002. Estimativas da abundância de cuxiú-preto (*Chiropotes satanas satanas*) e outros mamíferos não-voadores em fragmentos antrópicos de floresta na região Tocantina, Amazônia Oriental. *Resumos do XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia*, Itajaí, SC, pp.531-532.
- Rylands, A. B. and Keuroghlian, A. 1988. Primate populations in continuous forest fragments in central Amazonia. *Acta Amazonica* 18: 291-307.
- Rylands, A. B., Mittermeier, R. A. and Rodríguez-Luna, E. 1996. A species list for the New World primates (Platyrrhini): Distribution by country, endemism, and conservation status according to the Mace-Lande system. *Neotrop. Primates* 3: 113-160.
- Santos, R. R. 2002. Ecologia de cuxiús (*Chiropotes satanas*) na Amazônia oriental: Perspectivas para a conservação de populações fragmentadas. Master's thesis, Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) / Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém.
- da Silva, S. S. B. 2003. Comportamento alimentar de cuxiú-preto (*Chiropotes satanas*) na área de influência do reservatório da usina hidrelétrica de Tucuruí-PA. Master's thesis, Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) / Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém.
- Silva Jr., J. S. and Figueiredo, W. M. B. 2002. Revisão sistemática dos cuxiús, gênero *Chiropotes* Lesson, 1840 (Primates, Pitheciidae). *Livro de Resumos do X Congresso Brasileiro de Primatologia*, Belém, Pará, p.21.
- Van Roosmalen, M. G. M., Mittermeier, R. A. and Milton, K. 1981. The bearded sakis, genus *Chiropotes*. In: *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*, Vol. 1, A. F. Coimbra-Filho and R. A. Mittermeier (eds.), pp.419-441. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Van Roosmalen, M. G. M., Mittermeier, R. A. and Fleagle, J. G. 1988. Diet of the northern bearded saki (*Chiropotes satanas chiropotes*): A Neotropical seed predator. *Am. J. Primatol.* 14: 11-35.

INFECCIÓN POR LARVAS DE *ALOUATTAMYIA BAERI* (DIPTERA: CUTEREBRIDAE) EN MONOS AULLADORES, *ALOUATTA PALLIATA* (PRIMATES: CEBIDAE) DE LA COSTA CARIBE DE COSTA RICA

Olger Calderón-Arguedas, Adriana Troyo
Mayra E. Solano, Ronald Sánchez
Misael Chinchilla, Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta

Introducción

Alouattamyia baeri es una especie de cuterebrido cuya larva se asocia con el parasitismo en primates del Nuevo Mundo (Catts, 1982). La descripción de la morfología fue realizada por Shannon y Greene (1926) con ejemplares procedentes de la Guayana Inglesa y de la Región del Darién en Panamá. Zeledón y colaboradores (1957) describieron el caso de una miasis furuncular en un mono aullador procedente de La Hacienda Lombardía en Tilarán (Guanacaste, Costa Rica) en la que el agente etiológico identificado correspondió a *Cuterebra* (= *Alouattamyia*) *baeri*. Este fue el primer informe acerca de la presencia de este díptero en el territorio nacional.

A pesar de que el parasitismo por esta mosca se ha informado en primates como *Aotus trivirgatus* (Guimarães, 1971) y el ser humano (Guimarães y Coimbra, 1982; Fraiha et al., 1984), se ha observado que las relaciones parasitarias más frecuentes se establecen con monos del género *Alouatta* (*A. palliata* y *A. belzebul*) (Catts, 1982), por lo que podrían constituir un importante agente patogénico para estas especies.

En el presente trabajo se analizaron las características de la infestación que presenta este díptero en una muestra de monos aulladores procedentes de la Costa Caribe de Costa Rica.

Métodos

Se estudió la presencia de *A. baeri* en monos aulladores procedentes de la Costa Caribe de Costa Rica. El manejo de los mismos se hizo de acuerdo con los protocolos descritos por Troyo y colaboradores (2002). Brevemente, los animales fueron anestesiados con dardos que contenían los sedantes Telazol o una mezcla de ketamina y xylosin (aproximadamente 0.2 mg/kg). El primate fue capturado en una red y una vez en el suelo, se realizó su inspección física, ubicando la presencia o ausencia de lesiones miásicas. Esta evaluación se realizó en el marco de una investigación multidisciplinaria en la cual se estudian diferentes aspectos de las poblaciones de primates de Costa Rica.

El diagnóstico del agente etiológico fue realizado mediante análisis de las larvas que fueron extraídas mecánicamente de las lesiones. Estas fueron colocadas en alcohol al 70% para su fijación y transporte al laboratorio. Dichas larvas fueron observadas macroscópicamente y posteriormente se aclararon en lactofenol por un período de 20 días, luego del cual

se realizó la disección y montaje de las estructuras diagnósticas (esqueleto cefalofaríngeo, espiráculos posteriores y piel larval). Estas fueron montadas entre porta y cubreobjetos en medio Hoyer para su posterior análisis microscópico y comparadas con las observaciones descritas por Shannon y Greene (1926) y Zeledón y colaboradores (1957).

Las características de la infestación fueron expresadas de acuerdo con las definiciones propuestas por Margolis y colaboradores (1982). Los valores correspondientes a prevalencia y densidad relativa en monos machos y hembras fueron evaluados mediante pruebas de hipótesis para la comparación de proporciones, en tanto que los valores concernientes a la intensidad promedio se analizaron mediante pruebas de *t*-student para comparación de medias (Daniel, 1988).

Resultados

Se capturaron 28 monos aulladores correspondientes a la especie *Alouatta palliata*, en cinco localidades ubicadas en la Costa Caribe de Costa Rica. Ocho de los monos, procedentes de tres localidades diferentes, mostraron lesiones miásicas (Tabla 1), cuyas larvas presentaron las características típicas de *A. baeri* (Figura 1). Las lesiones observadas fueron de tipo furuncular (Figura 2) y se localizaron en las partes superiores del cuerpo, principalmente a nivel de cuello (Figura 2, Tabla 2).

Las diferencias en las características de la infección en monos macho y hembra fueron estadísticamente significativas en lo referente a prevalencia y densidad relativa, en tanto que la intensidad promedio fue similar entre los animales de ambos sexos (Tabla 3).

Discusión

La presencia de *A. baeri* en primates del territorio costarricense fue informado por primera vez durante la década de los años 50 cuando, casi como una curiosidad, se presentó el caso de un mono de la especie *Alouatta palliata palliata* que sufría una miasis en la cual el agente causal fue *A. baeri*. Este mono procedía de la provincia de Guanacaste, ubicada en el Pacífico Seco de Costa Rica (Zeledón *et al.*, 1957). En la presente investigación se evidencia la presencia de *A. baeri* en la Costa Caribe del país (Tabla 1). Al igual que en estudios previos (Shannon y Greene, 1926; Zeledón *et al.*, 1957; Milton, 1996), el tipo de miasis observado fue furuncular, con una localización de preferencia en la periferia del cuello del animal (Figura 2, Tabla 2). La presencia de lesiones en hombro, flanco derecho, pecho y axila fue también evidente (Tabla 2). Estas lesiones podrían obedecer a migraciones endógenas erráticas por parte de las larvas, las cuales han podido completar su ciclo larval exponiéndose a nivel dérmico en sitios anómalos.

La prevalencia total de la infección fue del 28.6%, siendo significativamente mayor en machos que en hembras (Tabla 3). Las diferencias asociadas al sexo del hospedador podrían estar relacionadas con los bajos porcentajes de infección por

Tabla 1. Infestación por larvas de *Alouattomyia baeri* en los primates estudiados. Se presenta el número de monos infectados seguido de diagonal y el número de monos capturados.

Procedencia	Hembras	Machos	Total
Puerto Vargas	2/2	2/2	4/4
Bambú	0/6	0/1	0/7
Albi Lodge	1/6	2/3	3/9
Río Juárez	0/4	1/3	1/7
Cacaotal	0/0	0/1	0/1
Total	3/18	5/10	8/28

Figura 1. Vista macroscópica de larvas de *Alouattomyia baeri* obtenidas en la Costa Caribe de Costa Rica.

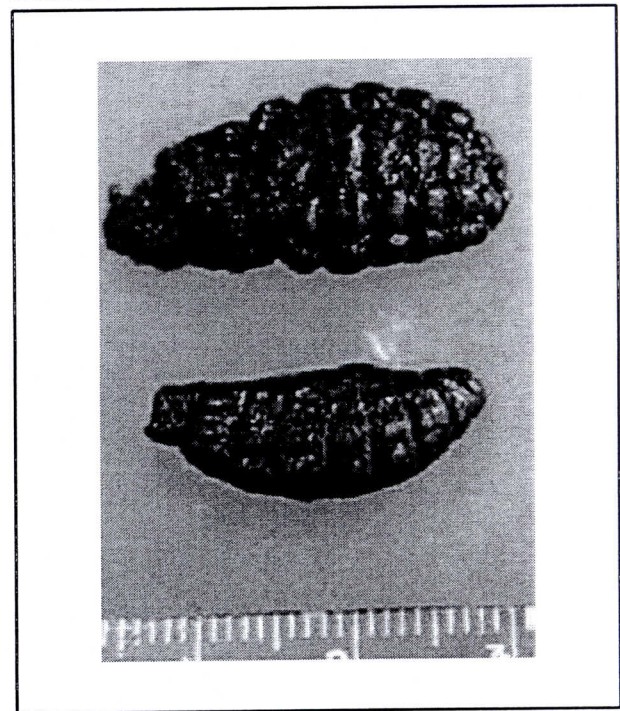


Tabla 2. Carga parasitaria y localización de las lesiones en los monos infectados por larvas de *Alouattomyia baeri*.

Ejemplar N°	Sexo*	Localización	Carga parasitaria	Topografía de la lesión
1	M	Puerto Vargas	1	Hombro izquierdo
2	H	Puerto Vargas	3	Cuello/flanco derecho
3	M	Puerto Vargas	3	Cuello/pecho/abdomen
4	H	Puerto Vargas	1	Cuello
5	M	Albi Lodge	3	Cuello/hombro/flanco derecho
6	M	Albi Lodge	3	Hombro/axila derecha
7	H	Albi Lodge	7	Cuello
8	M	Río Juárez	1	Cuello
Total			22	

M = macho, H = hembra

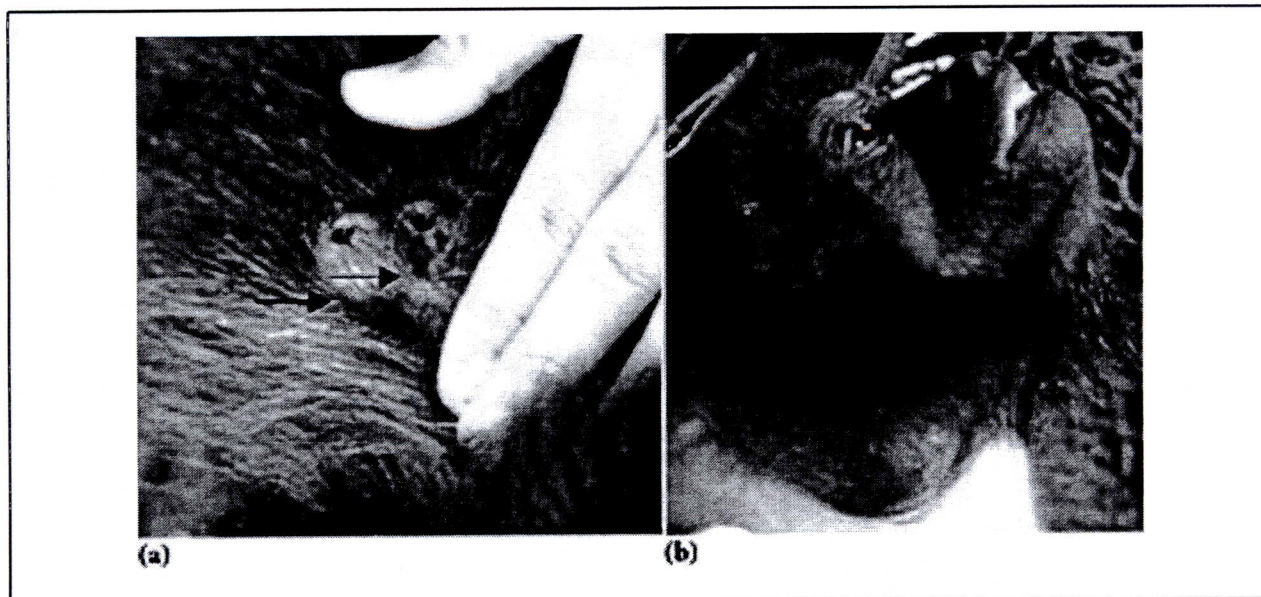


Figura 2. Lesiones furunculares por *Alouattamyia baeri* en monos aulladores de la Costa Caribe de Costa Rica: a. Detalle de la lesión furuncular; b. Ubicación típica del furúnculo; → = sitio de la lesión.

parte de *A. palliata* en los monos estudiados. En otros estudios, como los realizados por Milton (1996) y Baron y colaboradores (1996) en la Isla de Barro Colorado (Panamá), se observaron prevalencias totales mayores a las evidenciadas en el presente estudio (60.0 y 83.0% respectivamente) y no se observaron diferencias en la prevalencia entre machos y hembras. En el primero de estos estudios (Milton, 1996) se demostró que la incidencia de la parasitosis muestra una clara estacionalidad con picos de incidencia en la mitad y finales de la estación lluviosa. En Costa Rica, la Zona Caribe, no tiene una estacionalidad marcada, por lo que se esperaría que la prevalencia fuera más o menos la misma durante todo el año.

En el presente estudio se pudo evidenciar una distribución asimétrica de la infección observada en las localidades estudiadas cuyas características biológicas y ambientales prácticamente son iguales (Tabla 1), lo que plantea la posibilidad de que la capacidad de dispersión de *A. baeri* sea realmente limitada. Tal y como lo demostraron Colwell y Milton (1998), la tasa de oviposición de las hembras es de alrededor de 262 ± 149.4 huevos, con una oviposición total de 1.399 ± 243 huevos, lo que permitiría suponer la

ocurrencia de más o menos cinco oviposiciones a lo largo de la vida del díptero. Si las densidades de moscas no son muy altas, el evento de infección ocurriría de una manera eventual en las poblaciones de monos, afectando solamente a pequeñas fracciones de las tropas. A pesar de lo anterior, se puede observar que la intensidad promedio de la infección (Tabla 3) fue similar en los monos infectados, sin que hubiese diferencia entre machos y hembras. El valor de Intensidad Promedio Total observado en este estudio (2.75) fue similar a los descritos por Milton (1996) en la Isla de Barro Colorado. Lo anterior podría reflejar el ingreso de una carga infectante similar en el momento de la infección. Este comportamiento es compatible con la hipótesis de que los sitios de oviposición podrían estar dados por las hojas de las plantas que sirven de alimento a los monos, por lo que la infección tendría lugar por vía oral. En relación con lo anterior Colwell y Milton (1998), en un modelo animal con conejos, demostraron que la infección por vía dérmica prácticamente no se da, en tanto que la penetración vía mucosas es mucho más permisiva. La intensidad promedio podría ser regulada también por medio de mecanismos inmunes. En este sentido se ha podido evidenciar que en los monos aulladores existe una respuesta tipo IgG específica, dirigida primordialmente contra larvas de primer y tercer estadio de *A. baeri* (Baron *et al.*, 1996).

Tabla 3. Caracterización de la infestación por *Alouattamyia baeri* en los monos estudiados.

Parámetro	Hembras	Machos	Total
Prevalencia ^{1,t}	16.6	50.0	28.6
Intensidad promedio ²	3.6 ± 3.05	2.2 ± 1.09	2.75 ± 1.98
Densidad relativa ^{3,t}	0.61	1.1	0.78

¹Monos infectados por sexo/Total de monos analizados (infectados y no infectados) por sexo

²No. de larvas/No. de monos infectados por sexo

³No. de larvas/No. total de monos analizados por sexo

Diferencias estadísticamente significativas ¹($p < 0.1$), ^t($p < 0.05$)

El impacto de la infección por *A. baeri* en las poblaciones de monos aulladores puede verse reflejado en la mortalidad de los miembros de las tropas. En este sentido Milton (1996) demostró una correlación entre incidencia de infección y mortalidad. Dicha mortalidad puede estar relacionada con cuadros sépticos secundarios o infestación con otras larvas de dípteros como *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). El papel que juega el parasitismo errático, donde se da el compromiso de órganos y tejidos vitales, debe ser evaluado posteriormente.

La profundización en el conocimiento biológico sobre *A. baeri* se plantea como una necesidad para el desarrollo de alternativas de control contra este díptero, el cual podría constituir un agente causal de miasis frecuente en las poblaciones de monos aulladores de países tropicales.

Agradecimientos: Los autores desean agradecer a la Vicerrectoría de Investigación por el soporte económico al proyecto VI 111-A1-015.

Olger Calderón-Arguedas, Adriana Troyo, Mayra E. Solano, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica (UCR), San José, Costa Rica, **Ronald Sánchez,** Departamento de Biología, Sede de Occidente, UCR, Alajuela, Costa Rica, **Misael Chinchilla,** CIET, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología (UCR) y Laboratorio de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Andrés Vesalio Guzmán", San José, Costa Rica y **Gustavo A. Gutiérrez-Espeleta,** Escuela de Biología, UCR, San José, Costa Rica. E-mail: <olgerc@cariari.ucr.ac.cr>

Referencias

- Baron, R., Colwell, D. y Milton, K. 1996. Antibody immunoglobulin (IgG) response to *Alouattamyia baeri* (Diptera: Cuterebridae) parasitism of howler monkeys, *Alouatta palliata*, in Panama. *J. Med. Entomol.* 33: 946-951.
- Catts, E. P. 1982. Biology of New World bot flies: Cuterebridae. *Ann. Rev. Entomol.* 27: 313-338.
- Colwell, D. y Milton, K. 1998. Development of *Alouattamyia baeri* (Diptera: Oestridae) from howler monkeys (Primates: Cebidae) on Barro Colorado Island, Panama. *J. Med. Entomol.* 35: 674-680.
- Daniel, W. 1988. Pruebas de hipótesis. En: *Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud*, pp. 221-282. Editorial Limusa, México, DF.
- Fraiha, H., Chaves, L., Borges, I. y de Freitas, R. 1984. Miasis humanas da Amazonia. III. Miasa pulmonar por *Alouattamyia baeri* (Shannon & Greene, 1926) (Diptera, Cuterebridae). *Sep. Rev. Fund. Sesp.* 29: 63-68.
- Guimarães, J. 1971. Notes on the hosts of Neotropical Cuterebrini (Diptera, Cuterebridae), with new records from Brazil. *Pap. Avulsos Zool.* 25: 89-94.
- Guimarães, J. y Coimbra, C. 1982. Miasa humana por *Alouattamyia baeri* (Shannon & Greene) (Diptera, Cuterebridae). *Rev. Bras. Zool.* 1: 35-39.
- Margolis, L., Esch, W., Holmes, J., Kuris, A. y Shad, G. 1982. The use of ecological terms in parasitology. *J. Parasitol.* 68: 131-133.
- Milton, K. 1996. Effects of bot fly (*Alouattamyia baeri*) parasitism on a free-ranging howler monkey (*Alouatta palliata*) population in Panamá. *J. Zool., Lond.* 239: 39-63.
- Shannon, R. y Greene, C. 1926. A bot-fly parasitic in monkeys. *Zoopathologica* 1: 285-290.
- Troyo, A., Solano, M., Calderón-Arguedas, O., Chinchilla, M., Sánchez, R. y Gutiérrez-Espeleta, G. A. 2002. Fur mite, *Listrocarpus alouattae* Fain (Acari: Atopomelidae), from *Alouatta palliata* Gray (Primates: Cebidae) in Costa Rica. *Int. J. Acarol.* 28: 251-255.
- Zeledón, R., Jiménez, R. y Brenes, R. 1957. *Cuterebra baeri* Shannon y Greene, 1926, en el mono aullador de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 5: 129-134.

FLORA BACTERIAL ORAL Y SU PERFIL DE SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS EN MONOS DE COSTA RICA (*ALOUATTA PALLIATA* Y *ATELES GEOFFROYI*)

*María del Mar Gamboa-Coronado
Evelyn Rodríguez-Cavallini, Galia Rojas-Contreras
Ronald Sánchez-Porras, Gustavo Gutiérrez-Espeleta*

Introducción

Costa Rica es considerada como la región de mayor diversidad biológica en Centro América; en 51 000 km² tiene al menos de 500 000 diferentes especies (Reid *et al.*, 1994) y entre los mamíferos presentes, se identifican cuatro especies de monos distribuidas por todo el país, dos de las cuales son *Alouatta palliata*, conocido como congo, y *Ateles geoffroyi*, o mono colorado. Los *A. palliata* se encuentran distribuidos en todo el país; son arborícolas, aunque en ocasiones se ven obligados a cruzar áreas abiertas sobre suelo para alimentarse de árboles aislados y ocasionalmente, cuando el recurso alimenticio es escaso, migran del parche boscoso hacia los cafetales (Sánchez, 1991). En Costa Rica, *A. geoffroyi* es considerada en peligro de extinción, debido a la deforestación y a la caza para aprovechar su carne. Los individuos de esta especie se encuentran en todo el país y se les conoce por su especialización extrema a la forma de vida arbórea; son principalmente frugívoros, alimentándose muy selectivamente en el bosque maduro, en alturas de moderadas a extremas (Elizondo, 1999).

Con el tiempo los monos han aumentado su contacto con los humanos, ya sea por la siembra de café dentro de zonas boscosas o por la eliminación de árboles (Sánchez, 1991), lo que ha afectado su comportamiento y hábitos alimenticios (Vergeest, 1992) y por ende, posiblemente su flora bacteriana normal. En el ser humano, las bacterias aerobias y anaerobias constituyen los componentes principales de la microflora que coloniza las superficies mucosas y la piel; las bacterias anaerobias superan en número a las bacterias aerobias, pudiéndose encontrar una relación de 10:1 en la cavidad oral (Engelkirk y Duben-Engelkirk, 2000). Se conoce poco acerca de la flora bacteriana normal de los monos, incluyendo la oral, ya que la mayoría de estudios se enfocan principalmente en su biología, comportamiento, hábitat y alimentación. En este trabajo se pretende describir la flora bacteriana (aerobia y anaerobia) de la cavidad oral de monos de las especies *A. palliata* y *A. geoffroyi* y determinar su patrón de sensibilidad a los antibióticos. Esto con el propósito de evaluar el riesgo potencial de contraer alguna enfermedad por la cercanía humana con los monos y tratar de establecer si la interacción del hombre en ambientes pro-

prios de estos animales ha influenciado dicho patrón de sensibilidad antimicrobiana.

Métodos

Se estudiaron 27 muestras de la cavidad oral de monos de las especies *A. palliata* y *A. geoffroyi* en las regiones de Costa Rica de: Chomes (10° 02' 35" N, 84° 54' 50" O), Limón (09° 59' 34" N, 83° 01' 51" O), San Ramón (10° 05' 05" N, 84° 28' 48" O), Cahuita (09° 44' 06" N, 82° 48' 39" O) y Palo Verde (10° 20' 47" N, 85° 20' 44" O); sólo estas dos últimas constituyen hábitat continuo, a partir de los cuales se analizaron 13 muestras.

Con una torunda estéril, se raspó los dientes y la cavidad de la boca del mono (previamente sedado) y se resuspendió en un tubo con 2 ml de solución salina (SS) estéril. Con jeringa y a través del tapón de hule, se inoculó 0.5 ml de la suspensión en un tubo con medio de carne cocida (CC) prerreducido, que se mantuvo a temperatura ambiente antes de ser procesado en el laboratorio; los tubos con el resto de la suspensión en SS se mantuvieron en frío. A cada una de las suspensiones, se les agregó 2 ml de caldo tripticasa soya (CTS) y se incubaron a 35°C por 24 hr; los tubos con medio de CC prerreducidos se incubaron a 35°C por 48 hr. A partir de cada tubo de CTS, se rayaron placas de agar sangre (AS), chocolate, MacConkey y manitol sal, que se incubaron a 35°C por 24 hr para el aislamiento de bacterias aerobias. A partir de cada tubo con medio de CC prerreducido, para el aislamiento de bacterias anaerobias, se rayó una placa de AS que se incubó en anaerobiosis a 35°C por 48 hr. Se seleccionaron los diferentes morfotipos coloniales en cada placa, anotando sus características, se les hizo tinción de Gram y se rayaron en AS para obtener cultivos puros. Se determinó la tolerancia al oxígeno de cada morfotipo colonial (incubación en atmósfera incrementada de CO₂ y en jarra de anaerobiosis) y se seleccionaron como bacterias anaerobias aquellas cuyo crecimiento fue exclusivo o mejor bajo condiciones anaerobias.

A las bacterias aerobias se les realizaron pruebas de Gram, oxidasa y catalasa y con base en ello, se escogió la correspondiente galería miniaturizada de pruebas bioquímicas (API®); las bacterias anaerobias se inocularon en Rapid ID 32A o API 20A. Todas las galerías se incubaron y se leyeron de acuerdo con las recomendaciones de la casa fabricante y se identificaron utilizando el programa API-Plus®. Se realizaron pruebas adicionales, según el caso, cuando la identificación no fue precisa. Para determinar la sensibilidad a los antibióticos se utilizaron galerías comerciales (ATB®), de acuerdo con el tipo de bacteria aerobia: ATB G-5, ATB-Staph y ATB-Strep; para bacterias anaerobias se usó ATB-ANA y se siguieron las recomendaciones de la casa fabricante.

Resultados

A partir de las 27 muestras de la cavidad oral de los monos, se aislaron 109 cepas de bacterias (promedio de cuatro cepas por muestra); 56 eran de monos de hábitat continuo y

53 de monos en fragmentos de bosque, cerca de poblaciones humanas. No se encontraron diferencias en las especies bacterianas aisladas en ambos hábitats ni en los patrones de resistencia antimicrobiana. De las 109 cepas, 70 correspondieron a bacterias aerobias (64%) y 39 a bacterias anaerobias (36%), lo que equivale a 2.6 aerobios y 1.4 anaerobios por muestra. Respecto a las bacterias aerobias, predominaron los bacilos Gram negativos (49 de las 70 cepas), siendo *Enterobacter* el género más frecuente, ya que se aisló en el 67% de las muestras (Cuadro 1) e incluyó las especies de *E. agglomerans*, *E. cloacae* y *E. amnigenus*. Fue posible aislar otros 10 géneros de bacilos Gram negativos aerobios, cuya frecuencia en las muestras varió del 26% (*Escherichia*) al 4% (*Achromobacter* y *Chryseomonas*, Cuadro 1). Se aislaron 21 cepas de cocos Gram positivos aerobios, siendo *Staphylococcus* el género más frecuente (en 67% de las muestras) e incluyó las especies de *S. aureus*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. sciuri* y *S. simulans*; otros géneros aislados fueron *Streptococcus*, *Aerococcus* y *Leuconostoc* con una frecuencia de 4% cada uno.

Referente a las bacterias anaerobias, se aislaron 39 cepas: 17 bacilos Gram positivos, 12 bacilos Gram negativos, 6 cocos Gram negativos y 4 cocos Gram positivos. *Clostridium*, el género más frecuente, se encontró en el 48% de las muestras (Cuadro 2), correspondiendo a las especies de *C. beijerinckii*, *C. bif fermentans*, *C. cadaveris*, *C. clostridioforme*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. sordellii* y *C. sporogenes*. Otros siete géneros de bacterias anaerobias también estuvieron presentes, con una frecuencia que varió desde un 26% (*Bacteroides*) al 4% (*Actinomyces* y *Peptostreptococcus*, Cuadro 2).

Con respecto a las pruebas de sensibilidad a los antibióticos, el 71% de los bacilos Gram negativos aerobios fue resistente a la amoxicilina y el 45% a la amoxicilina más ácido clavulánico. El 63% fue resistente a cefalotina, cefalosporina de primera generación, pero sólo el 8, 4 y 4% a cefotaxime, ceftriaxone y ceftazidime (8-16 mg/L), respectivamente, cefalosporinas de tercera generación (Figura 1); hubo resistencia moderada a otros antibióticos como ticarcilina, ceftazidime (1 mg/L), cotrimoxazol y aztreonam (Figura 1). Ocho de los 18 antibióticos (44%) evaluados fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (piperacilina, piperacilina + tazobactam, imipenem, tobramicina, amikacina, gentamicina, netilmicina y ciprofloxacina). Las cepas de *Staphylococcus* mostraron una menor resistencia, pues 10 de los 15 antibióticos probados (67%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (cefalotina, gentamicina, netilmicina, clindamicina, ciprofloxacina, tetraciclina, nitrofurantoina, rifampicina, vancomicina y teicoplanina). Sin embargo, el 89% de los aislamientos fue resistente a penicilina G y el 28% a ampicilina más sulbactam, 11% a eritromicina y 6% a cotrimoxazol y a pefloxacina. Las únicas cepas de *Streptococcus* y *Aerococcus* aisladas fueron resistentes, entre otros, a ciprofloxacina, quinolona de amplio espectro y de uso relativamente reciente.

En cuanto a las cepas anaerobias, la resistencia a varios antibióticos también fue manifiesta, siendo el mayor porcentaje

Cuadro 1. Bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Género	Total de cepas n=49	Frecuencia (%) n=27
<i>Enterobacter</i>	18	67
<i>Escherichia</i>	7	26
<i>Klebsiella</i>	5	19
<i>Acinetobacter</i>	5	19
<i>Serratia</i>	3	11
<i>Pseudomonas</i>	3	11
<i>Citrobacter</i>	2	7
<i>Chromobacterium</i>	2	7
<i>Aeromonas</i>	2	7
<i>Achromobacter</i>	1	4
<i>Chryseomonas</i>	1	4

Cuadro 2. Bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

Género	Total de cepas n=39	Frecuencia (%) n=27
<i>Clostridium</i>	13	48
<i>Bacteroides</i>	7	26
<i>Veillonella</i>	6	22
<i>Prevotella</i>	5	19
<i>Gemella</i>	3	11
<i>Eubacterium</i>	3	11
<i>Actinomyces</i>	1	4
<i>Peptostreptococcus</i>	1	4

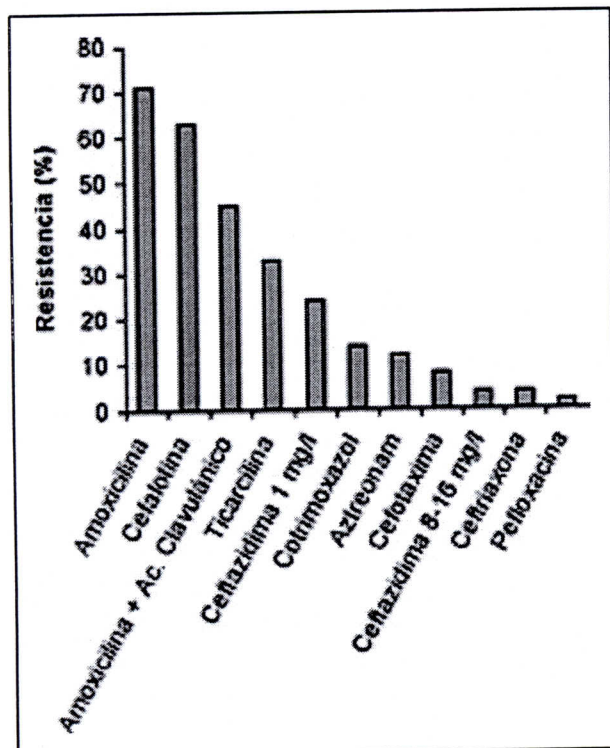


Figura 1. Resistencia a los antimicrobianos de 49 bacilos Gram negativos aerobios aislados de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

de resistencia hacia el metronidazole, de un 49 a 44% según su concentración, seguido por la penicilina, la clindamicina y cloranfenicol (31, 28 y 26%, respectivamente); hubo un bajo porcentaje de resistencia a antibióticos como amoxicilina, cefotetan, imipenem y ticarcilina (Figura 2). Cinco de los 15 antibióticos evaluados (33%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas (amoxicilina + ácido clavulánico, piperacilina, piperacilina + tazobactam, ceftioxina, ticarcilina + ácido clavulánico).

La presencia de cepas multirresistentes (resistencia a dos o más antimicrobianos) se dio tanto en las bacterias aerobias como en las anaerobias. De las bacterias aerobias, el 80% de las cepas mostró resistencia múltiple, desde resistencia a dos (25%) hasta resistencia a nueve antibióticos (4%), aunque la mayoría (41%) fue resistente a tres o cuatro antibióticos y un 10% a cinco o seis. La resistencia múltiple en las cepas de *Staphylococcus* fue menor, pues sólo un bajo porcentaje (6%) fue resistente a tres antibióticos y 33% a dos; la mayoría (61%) mostró resistencia solamente a uno o a ninguno de los antibióticos evaluados. En las cepas anaerobias la resistencia múltiple fue moderada, el 49% mostró multirresistencia: 20% a dos antimicrobianos, 11% a tres o cuatro y 18% a cinco o seis.

Discusión

El conocimiento actual sobre la flora bacteriana oral de monos es muy escaso y este estudio permite señalar resultados interesantes que revelan semejanzas y diferencias con la flora bacteriana humana. Aunque se logró el aislamiento de cuatro cepas diferentes por muestra de cavidad oral de monos, se encontró mayor cantidad de bacterias aerobias (2.6 por muestra) que de anaerobias (1.4 por muestra),

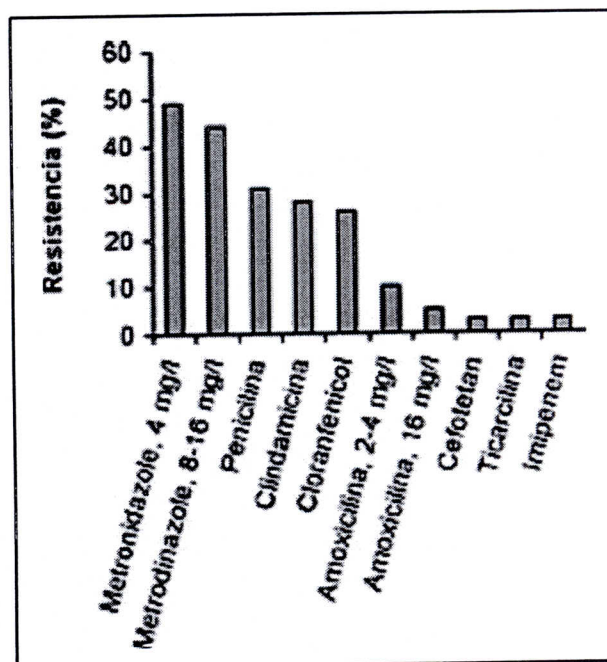


Figura 2. Resistencia a los antimicrobianos de 39 bacterias anaerobias aisladas de la cavidad oral de 27 monos (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*).

contrario a lo que es de esperar en la cavidad oral humana. Esto pudo ser el resultado de varios aspectos, desde problemas metodológicos inevitables a la hora de tomar la muestra para anaerobios en el campo, hasta dificultades para su transporte al laboratorio. En este sentido, para recoger el material, optamos por utilizar una torunda que se resuspendió rápidamente en solución salina y se inoculó con aguja, en un tubo con atmósfera libre de oxígeno; aquellos anaerobios muy sensibles al oxígeno podrían haber muerto antes de ser inoculados en el medio prerreducido. Dado que el muestreo se realizó en zonas alejadas al laboratorio, debió transcurrir entre 24 y 48 hr antes de que las muestras fueran procesadas en el laboratorio. Como la solubilidad del oxígeno aumenta en refrigeración, los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente, temperatura que puede haber favorecido sólo a unas pocas especies, perjudicando aquellas cuyo ámbito de temperatura óptima de crecimiento fuera más estrecho y muy cercano a los 37° C. Estos inconvenientes no se presentan con las bacterias aerobias, que se conservaron en la solución salina mantenida en hielo hasta su procesamiento en el laboratorio.

No fue posible demostrar la influencia de poblaciones humanas adyacentes a las áreas de muestreo, dado que los géneros bacterianos que se aislaron de monos provenientes de hábitat continuos y de fragmentos de bosque fueron similares. Lo mismo se observó con los patrones de resistencia y multirresistencia antimicrobiana. Sin embargo, esta observación debería corroborarse ampliando el número de animales estudiados, pues 13 de una zona y 14 de la otra podrían ser insuficientes.

Los géneros de *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* están descritos entre los más frecuentes de la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato, 1995) y fueron las bacterias aerobias Gram negativas predominantes en este estudio (Cuadro 1). Los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* son los Gram positivos más frecuentes en la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato, 1995); en este estudio se encontró un predominio de *Staphylococcus*, quizá debido a condiciones metodológicas que pueden haber permitido su sobrecrecimiento, ya que es un género nutricional y fisiológicamente menos exigente que *Streptococcus*.

Se encontraron algunas especies aerobias que no están descritas como habitantes normales de la flora oral humana, como *Acinetobacter*, quinto género en frecuencia entre los aerobios, y *Serratia*, presente en el 11% de las muestras; sin embargo, están descritos como frecuentes en suelos y aguas (Grimont y Grimont, 1984; Juni, 1984), por lo que fácilmente se explica su aislamiento de la cavidad oral de los monos. El género *Pseudomonas*, también presente en el 11% de las muestras, incluye muchas especies ubicuas, que se han aislado de aguas de ríos, suelos y plantas, entre otros, así como de animales (Palleroni, 1984).

Otros géneros menos frecuentes en este estudio y no descritos como pertenecientes a la cavidad oral humana fueron *Citrobacter*, *Chromobacterium* y *Aeromonas* (7% cada uno)

y *Achromobacter* y *Leuconostoc* (4% cada uno). Estos se encuentran presentes en suelos, aguas, plantas, alimentos e incluso algunos se mencionan como habitantes comunes del ambiente en países tropicales (Popoff, 1984; Sakazaki, 1984; Sneath, 1984; Garvie, 1986). La literatura científica no refiere el hábitat natural de *Chryseomonas* y *Aerococcus*, pero señala algunos casos de importancia clínica veterinaria y humana (Evans, 1986; Hall, 2000); su hallazgo en los monos parece indicar que es parte de la flora normal o que se encuentra en suelos, aguas o plantas, tal y como los otros géneros. Debido a que *Aerococcus* requiere de varios factores de crecimiento para su óptimo desarrollo (ácido pantoténico, ácido nicotínico, biotina, purinas y algunos aminoácidos; Evans, 1986) podría ser que su frecuencia en la cavidad oral de los monos fuera mayor que la encontrada en este estudio (4%).

Por otra parte, dentro del grupo de los aerobios, no se aislaron los géneros *Corynebacterium* y *Lactobacillus*, descritos como habitantes de la cavidad oral humana (Isenberg y D'Amato, 1995). Podría ser que estén ausentes en la cavidad oral de monos o bien, que no se hayan aislado por la exigencia nutricional de ambos géneros, ya que requieren aminoácidos específicos, purinas y pirimidinas, vitaminas, entre otros (Collin y Cummins, 1986; Kandler y Weiss, 1986). Aunque *Moraxella* también es habitante usual de la boca de humanos (Isenberg y D'Amato, 1995), desconocemos las razones por las cuales no se aisló en este estudio; sin embargo, en animales sólo se han aislado unas pocas especies (Bovre, 1984).

Los géneros de bacterias anaerobias usuales en la cavidad oral humana incluyen *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella* y bacilos Gram positivos no esporulados: *Actinomyces* y *Eubacterium* (Isenberg y D'Amato, 1995; Engelkirk y Duben-Engelkirk, 2000). De ellos, en este estudio se aislaron con mayor frecuencia *Bacteroides*, *Veillonella* y *Prevotella* y en menor grado *Eubacterium*, *Actinomyces* y *Peptostreptococcus* (Cuadro 2). Respecto a *Gemella*, que se aisló en un 11% de las muestras, no está claro su hábitat natural, pero algunos estudios sugieren que se encuentra en la cavidad orofaríngea humana (Engelkirk y Duben-Engelkirk, 2000); el hallazgo en la boca de los monos parece apoyar esta posibilidad. Otro habitante de la cavidad oral humana, *Fusobacterium*, no se aisló en este estudio, aunque es sabido que sólo unas pocas especies (*F. necrophorum* y *F. naviforme*; Moore *et al.*, 1984) se han aislado con frecuencia.

Por otro lado, el género de anaerobios más frecuente en esta investigación fue *Clostridium*, presente en el 48% de las muestras (Cuadro 2). Aunque este género no está descrito como habitante usual de la boca del hombre (Engelkirk y Duben-Engelkirk, 2000), es fácil explicar que una bacteria frecuente en suelos, como lo es *Clostridium*, pueda llegar hasta la boca de los monos, a través de la ingestión de plantas o aguas contaminadas con las esporas de estas bacterias. Todas las especies que se encontraron – *C. beijerinckii*, *C. bifermentans*, *C. cadaveris*, *C. clostridioforme*,

C. histolyticum, *C. septicum*, *C. sordellii* y *C. sporogenes* – han sido aisladas de suelos costarricenses en una frecuencia que varió desde un 50 hasta un 5% (Rodríguez *et al.*, 1993; Gamboa *et al.*, en prep.).

Muchas de las cepas bacterianas aisladas de los monos presentaron resistencia antimicrobiana y algunos de estos resultados podrían ser alarmantes, principalmente para los bacilos Gram negativos aerobios: 71% de las cepas resistentes a amoxicilina y 63% a cefalotina (Figura 1). Ya ha sido descrito que bacilos Gram negativos aislados de animales salvajes presentan resistencia a antibióticos, a pesar de que no estén en contacto con humanos. Routman *et al.* (1985) encontraron que un 10.7% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de mandriles africanos no asociados con humanos eran resistentes al menos a un antibiótico. Por otra parte, Rolland *et al.* (1985) encontraron que el 47.5% y el 36% de los coliformes aislados de dos poblaciones de mandriles sin contacto frecuente con humanos presentaban resistencia antimicrobiana, mientras que cuando había contacto con el hombre, el 94.1% de las cepas de esos animales eran resistentes. Estudios con roedores silvestres no expuestos a antibióticos han demostrado que la mayoría de los coliformes eran resistentes a varios antibióticos (Gilliver *et al.*, 1999).

Los cocos Gram positivos, que en su mayoría fueron del género *Staphylococcus*, mostraron una menor resistencia, pues 10 de los 15 antibióticos probados (67%) fueron efectivos contra todas las cepas aisladas. Sin embargo, el 89% fue resistente a la penicilina G y el 28% a la ampicilina más sulbactam. El amplio uso de penicilina en el tratamiento de infecciones humanas, además del uso en elevadas concentraciones en ganadería y agricultura, pudo contribuir a generar esta alta resistencia, debida no sólo a la producción de beta lactamasas, sino a otros mecanismos, pues el 28% de las cepas aún continúan comportándose como resistentes con el empleo de sulbactam, inhibidor de dicha enzima.

Numerosos estudios han demostrado que la resistencia antibacteriana en los anaerobios ocurre en diversos géneros (Engelkirk y Duben-Engelkirk, 2000), no sólo por mutación sino además por transmisión horizontal entre microorganismos de suelos y aguas (Shoemaker *et al.*, 2001). En este estudio, las cepas anaerobias también mostraron resistencia hacia varios de los antibióticos probados, siendo mayor hacia el metronidazole (49%, Figura 1), medicamento anti-protozoario que además ha demostrado ser efectivo contra infecciones por bacterias anaerobias. Sin embargo, debido a su amplio uso, han surgido cepas resistentes tanto de animales como de humanos (Diniz *et al.*, 2000). Un 44% de las bacterias Gram negativas y un 43% de las Gram positivas fueron resistentes, acorde con el patrón que se ha venido observando, pero contrario a Boyanova y colaboradores (2000) quienes encontraron sólo un 3% de cepas Gram negativas resistentes a este agente. En general, la resistencia de todas las cepas anaerobias hacia la penicilina fue de 31% (Figura 2), aunque ésta fue mayor en Gram negativas (39%) que en Gram positivas (24%), lo que es esperable de

acuerdo con su mecanismo de acción y su amplio uso. La resistencia a la penicilina en algunos grupos de anaerobios ha ido aumentando, así el 16-26% de *Clostridium* (Engelkirk *et al.*, 1992), el 50% de *Prevotella* (Hecht, 1999) y el 65% de *Bacteroides* (Engelkirk *et al.*, 1992) son resistentes a este antibiótico, especialmente por la producción de beta lactamasas. Otros grupos, como bacilos Gram positivos no esporulados y *Peptostreptococcus*, continúan siendo altamente sensibles (Hecht, 1999).

El 28% de las cepas aisladas fueron resistentes hacia la clindamicina (Figura 2), lo cual es preocupante dado que este antibiótico es ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones clínicas por anaerobios. Aunque Boyanova y colaboradores (2000) informan que ninguna bacteria Gram negativa anaerobia es resistente a clindamicina, Engelkirk y colaboradores (1992) informan que menos del 10% de los Gram negativos y el 19.6% de los Gram positivos son resistentes. Otros estudios confirman esta observación: un 6% de bacilos Gram positivos no esporulados y un 16% de *Peptostreptococcus* son resistentes a la clindamicina (Rodloff *et al.*, 1999). En nuestro estudio tres de los bacilos Gram negativos fueron resistentes a este antibiótico, lo que acentúa aún más la preocupación de que cepas difíciles de tratar provenientes de animales silvestres, puedan llegar a causar infecciones clínicas en humanos.

Al analizar los datos de resistencia múltiple, se observó que cepas de todos los grupos bacterianos la presentaron; aún así la mayoría de las bacterias fueron resistentes sólo a dos, tres o cuatro antibióticos y pocas a más de cuatro. Con respecto a los Gram negativos aerobios se pudo notar que el 80% de las cepas mostró resistencia múltiple, que incluyó desde resistencia sólo a dos antibióticos hasta nueve; la mayoría de las cepas (41%) fue resistente sólo a tres o cuatro. Por el contrario, sólo el 39% de los estafilococos mostró resistencia múltiple y además las cepas fueron resistentes a un máximo de tres antibióticos. La multiresistencia en bacterias anaerobias fue intermedia entre estos dos grupos, pues el 49% de las cepas de bacterias anaerobias mostró multiresistencia, encontrándose cepas resistentes hasta seis drogas. Estos resultados son alarmantes, pues tradicionalmente se ha creído que la resistencia múltiple no es un problema común en bacterias anaerobias.

El uso indiscriminado de antibióticos no sólo en medicina humana, sino también en la agricultura y ganadería, facilita el desarrollo de resistencia a los antibióticos (Sosa, 2000; Thompson y Kla, 2000); los aerosoles pueden desplazarse grandes distancias y alcanzar árboles o plantas que sirven de alimento a animales silvestres como los monos. Son bien conocidas las limitaciones de los entes reguladores en América Latina y el Caribe respecto al uso de medicamentos (Fefer, 2000); Costa Rica no es la excepción y no cuenta con legislación que controle el uso no médico de los antibióticos, por lo que suponemos que en nuestro medio las cepas bacterianas de los animales están sometidos a una presión de selección que favorece el desarrollo y persistencia de resistencia. El agua también puede ser un vehículo facilitador de

la resistencia, pues se han encontrado genes bacterianos de resistencia en aguas subterráneas cercanas a sitios donde se usan antibióticos en la crianza de cerdos como promotores de crecimiento. Algunos de los sitios de muestreo de este estudio estuvieron cerca de criaderos de cerdos de este tipo, lo que contribuye a explicar el frecuente aislamiento de cepas resistentes. Además, actualmente en Costa Rica ninguno de los hospitales del sector público cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales, las cuales son vertidas directamente en el alcantarillado sanitario o en cuerpos de aguas superficiales; en ambos casos, estas aguas llegarán a afluentes mayores sin ningún tratamiento (Tzoc, 2002). Aunque regularmente los monos no bajan a tomar agua a los ríos, otros animales que conviven con ellos sí lo hacen, lo que puede contribuir a extender el fenómeno de la resistencia antimicrobiana; los resultados de esta investigación apoyan esta hipótesis.

Este estudio constituye el primer informe sobre la flora bacteriana oral de monos en Costa Rica y es una contribución importante para el conocimiento y preservación de estos animales. Además, es una evidencia de que el uso indiscriminado de antimicrobianos y el desarrollo de resistencia no se limita a la clínica humana, sino que compromete todo su entorno.

Agradecimientos. Agradecemos a Pablo Vargas y Martín Quesada por su valiosa ayuda técnica y a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el apoyo económico.

María del Mar Gamboa-Coronado, Evelyn Rodríguez-Cavallini, Galia Rojas-Contreras, Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, **Ronald Sánchez-Porras,** Programa de Investigaciones del Bosque Premontano (PIBP), Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica y **Gustavo Gutiérrez-Espeleta,** Escuela de Biología e Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica. **Correspondencia:** Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, Centro América.

Referencias

- Bovre, K. 1984. Genus II. *Moraxella*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.296-303. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Boyanova, L., Petrov, D., Osmanliev, D., Mitov, I., Usunova, I., Minchev, T., Goranov, E., Plochev, M. y Dimitrov, J. 2000. Anaerobic bacteriology in 75 cases of thoracic empyema in Sofia, Bulgaria. *Anaerobe* 6: 81-85.
- Collin, M. D. y Cummins, C. S. 1986. Genus *Corynebacterium*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, P. H. A. Sneath (ed.), pp.1266-1276. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Diniz, C. G., Santos, S. G., Pestana, C. N., Farias, L. M. y Carvalho, M. A. 2000. Chromosomal breakage in the *Bacteroides fragilis* group induced by metronidazole treatment. *Anaerobe* 6: 149-53.
- Elizondo, L. 1999. "*Ateles geoffroyi*". En: Unidades básicas de infomación del INBio (<<http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/>>).
- Engelkirk, P. G. y Duben-Engelkirk, J. 2000. Anaerobes of clinical importance. En: *Diagnostic Microbiology*, 2^{da} edición, C. R. Mahon y G. Manuselis (eds.), pp.565-622. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- Engelkirk, P. G., Engelkirk, J. D. y Dowell, V. R. 1992. *Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology, Susceptibility Testing*. Star Publishing Co., Belmont.
- Evans, J. B. 1986. Genus *Aerococcus*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, P. H. A. Sneath (ed.), p. 1080. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Fefer, E. 2000. Uso racional de medicamentos: Políticas, reglamentación y normas regionales. En: *Resistencia Antimicrobiana en las Américas: Magnitud del Problema y su Contención*, R. Salvatierra-González y Y. Benguigui, (eds.), pp.211-219. Organización Pan-Americano del Salud, Washington, DC.
- Garvie, E. I. 1986. Genus *Leuconostoc*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, P. H. Sneath (ed.), pp.1071-1075. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Gilliver, M. A., Bennett, M., Begon, M., Hazel, S. M. y Hart, C. A. 1999. Antibiotic resistance found in wild rodents. *Nature, Lond.* 401: 233.
- Grimont, P. A. y Grimont, F. 1984. Genus VIII. *Serratia*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.477-486. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Hall, G. S. 2000. Nonfermenting Gram-negative bacilli and miscellaneous Gram-negative rods. En: *Diagnostic Microbiology* 2^{da} edición, C. R. Mahon y G. Manuselis (eds.), pp.539-563. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- Hecht, D. W. 1999. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. En: *Manual of Clinical Microbiology*, 7^a edición, P. R. Murray (ed.), pp.1555-1562. ASM Press, Washington DC.
- Isenberg, H. D. y D'Amato, R. F. 1995. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. En: *Manual of Clinical Microbiology*, 6^a edición, P. R. Murray (ed.), pp.5-18. ASM Press, Washington, DC.
- Juni, E. 1984. Genus III. *Acinetobacter*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.303-307. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Kandler, O. y Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2., P. H. Sneath (ed.), pp.1209-1234. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Moore, W. E., Holdeman, L. V. y Kelley, R. W. 1984. Genus II. *Fusobacterium*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.631-637. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Palleroni, N. J. 1984. Genus I. *Pseudomonas*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.141-199. Williams & Wilkins, Baltimore.

- Popoff, M. 1984. Genus III. *Aeromonas*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.545-548. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Reid, W., Laird, S., Meyer, C., Gámez, R., Sittenfeld, A., Janzen, D., Gollin, M. y Juma, C. 1994. *La Prospección de la Biodiversidad*. Editorial INBio, San José.
- Rodloff, A. C., Hillier, S. L. y Moncla, B. J. 1999. *Peptostreptococcus, Propionibacterium, Lactobacillus, Actinomyces* and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria. En: *Manual of Clinical Microbiology*, 7ª edición, P. R. Murray (ed.), pp.672-689. ASM Press, Washington, DC.
- Rodríguez, E., Gamboa, M. M. y Fernández, B. 1993. Clostridios mesófilos en suelos de la Meseta Central de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41: 365-369.
- Rolland, R. M., Hausfater, G., Marshall, B. y Levy, S. B. 1985. Antibiotic-resistant bacteria in wild primates: Increased prevalence in baboons feeding on human refuse. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 791-794.
- Routman, E., Miller, R. D., Phillips-Conroy, J. y Hartl, D. L. 1985. Antibiotic resistance and population structure in *Escherichia coli* from free-ranging African yellow baboons. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 749-754.
- Sakazaki, R. 1984. Genus IV. *Citrobacter*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.458-461. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Sánchez, R. 1991. Utilización del hábitat, comportamiento y dieta del mono congo (*Alouatta palliata*) en un bosque premontano húmedo. Tesis de maestría, Universidad Nacional, Costa Rica.
- Shoemaker, N. B., Vlamakis, H., Hayes, K. y Salyers, A. A. 2001. Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 561-568.
- Sneath, P. H. A. 1984. Genus *Chromobacterium*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N. R. Krieg y J. G. Holt (eds.), pp.580-582. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Sosa, A. 2000. La Alianza para el uso prudente de los antibióticos. Resistencia a los antibióticos en América Latina. En: *Resistencia Antimicrobiana en las Américas: Magnitud del Problema y su Contención*, R. Salvatierra-González y Y. Benguigui (eds.), pp.258-260. Organización Pan-Americano del Salud, Washington, DC.
- Thompson, S. R. y Kla, J. M. 2000. Uso veterinario de antimicrobianos en la producción pecuaria en América del Norte, América Latina y el Caribe. En: *Resistencia Antimicrobiana en las Américas: Magnitud del Problema y su Contención*, R. Salvatierra-González y Y. Benguigui (eds.), pp.261-267. Organización Pan-Americano del Salud, Washington, DC.
- Tzoc, E. 2002. Influencia de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. en el cuerpo receptor. Tesis de maestría, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- Vergeest, F. 1992. The influence of tourism on the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*) in Cabo Blanco, Costa Rica. Report 3031, Wageningen Agricultural University, Wageningen.

NEWS

ADDITIONAL RECORDS OF PRIMATES IN THE SERRA DOS ÓRGÃOS NATIONAL PARK

In early 2003, I reported on the primates of the Serra dos Órgãos National Park (Cunha, 2003). Here I record some further observations I have made in the park on muriquis (*Brachyteles arachnoides*), capuchin monkeys (*Cebus nigritus*), and the buffy-tufted-ear marmoset (*Callithrix aurita*).

At 07:30 on 19 September, 2003, I saw a group of at least 16 adults and subadults of *Brachyteles arachnoides* (not including infants carried by females) crossing the same valley where I observed three individuals in August 2003 (Cunha, 2003). The valley ranges from 1600 m to 1800 m a.s.l., and is thus the highest altitude recorded for the species (see Grelle, 2000). Garcia and Andrade Filho (2002) saw muriquis walking along a rocky outcrop in the park, and indicated that it was in the high-altitude grassland (*campos de altitude*) above 2000 m, although they were unable to be precise. Rocky outcrops as they described are common from 700 m to above 2200 m, and they may have been mistaken. The group I observed would appear to be what Garcia and Andrade Filho (2002) reported as two separate groups of 6 and 9 individuals. When their field team made its survey, the group may have been temporarily divided; it is the only one recorded to date in the park. Researchers from the IPÊ – Instituto de Pesquisas Ecológicas (<<http://www.ipe.org.br>>) are studying this group. According to local residents, another group of muriquis may exist in the region of Vargem Grande, in or near the recently created Três Picos State Park (see Table 1 in Cunha, 2003). Every effort should be made to locate this group and establish if they are connected with the Serra dos Órgãos group. I suspect they are not, due to the BR-116 highway which runs between these two almost contiguous protected areas.

At 10:20 on 8 February, 2004, I observed a group of at least five *Callithrix aurita*, including one juvenile, around a small cultivated plot near the park's administrative headquarters (22°27'04" S, 42°59'03" W; 950 m a.s.l.). The marmosets had a reddish-chestnut coloration on their backs, as described by Auricchio (1995). I noted the pre-auricular white tufts in only one individual. *C. aurita* is naturally rare throughout its range, as noted even by Schirch (1931) more than 70 years ago. Its occurrence in the park is significant, and implies that it may occur in other protected areas in the Serra dos Órgãos. *C. penicillata* has been seen in the park (Cunha, 2003), and *C. jacchus* also occurs in the region. Given their potential to hybridize (see Coimbra-Filho *et al.*, 1993), more detailed studies should be conducted to know if and how the buffy-tufted-ear marmosets, which are listed as Vulnerable (Bergallo *et al.*, 2000; Rylands and Chiarello, 2003) are ecologically and/or genetically threatened by their introduced congeners.

Two new species of *Listrocarpus* Fain (Acari: Atopomelidae) from *Cebus capucinus* Linnaeus and *Saimiri oerstedii* Reinhardt (Primates: Cebidae) in Costa Rica

ADRIANA TROYO, MAYRA E. SOLANO & OLGER CALDERÓN-ARGUEDAS

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, email: atroyo@cariari.ucr.ac.cr

Abstract

Two new species of *Listrocarpus* Fain, 1967 (Acari: Atopomelidae): *L. capucinus* sp. nov. and *L. costaricensis* sp. nov., are described from the hair of white faced capuchin (*Cebus capucinus* Linnaeus, 1758) and squirrel (*Saimiri oerstedii* Reinhardt, 1872) monkeys in the Central Pacific coast of Costa Rica.

Resumen. Se describen dos especies nuevas del género *Listrocarpus* Fain, 1967 (Acari: Atopomelidae): *L. capucinus* sp. nov. y *L. costaricensis* sp. nov., presentes en el pelo de monos capuchinos (*Cebus capucinus* Linnaeus, 1758) y monos ardilla (*Saimiri oerstedii* Reinhardt, 1872) de la costa pacífica central de Costa Rica.

Key words: Atopomelidae, fur mite, *Listrocarpus capucinus*, *Listrocarpus costaricensis*, capuchin monkey, squirrel monkey

Introduction

The genus *Listrocarpus* was erected by Fain in 1967 with *L. lagothrix* as the type species. These fur mites are associated specifically with New World primates in the families Cebidae and Callitrichidae (Fain 1979). Members of this genus have a small prodorsal plate, wider than long, and a postdorsal plate, longer than wide; females generally have a tubular sperm duct and males have the fourth pair of legs enlarged, without aerolia and the tarsi are reduced (Fain 1967).

There are 9 species described to date: *L. lagothrix*, *L. saimirii*, *L. casgrovei*, and *L. hapalei*, by Fain in 1967; he also added *L. anurus*, *L. surinamensis*, *L. alouatta*, and *L. cebi* to the list in 1972, and *L. spinifer* in 1976. Later, in his review of the Atopomelidae of Neotropical America (1979), Fain included a more detailed description of all species, with line drawings and taxonomic keys.

The purpose of this paper is to describe two new species of *Listrocarpus* found on *Cebus capucinus* Linnaeus, 1758 (white faced capuchin) and *Saimiri oerstedii* Reinhardt, 1872 (squirrel monkey) from the Central Pacific coast of Costa Rica, Central America.

Materials and methods

Males, females, nymphs, larvae, and eggs were collected from hair samples of capuchin and squirrel monkeys as previously described (Trovo et al. 2002). The specimens were fixed in 70% ethyl

alcohol, cleared and softened in lactophenol for approximately one month. Whole mites and dissected sections were mounted in Hoyer's medium, dried in an incubator at 37°C, and observations were conducted with a light microscope at 100x and 400x.

The species descriptions are based on 58 specimens (male holotype, allotype, 25 male paratypes and 31 female paratypes) from one *C. capucinus* and 11 specimens (male holotype, allotype, 8 male paratypes, and 1 female paratype) from 3 *S. oerstedii*.

Drawings were made with the aid of a *camera lucida*. Measurements are expressed in micrometers (values rounded up to the nearest whole number) and are reported as mean \pm standard deviation followed by the range and number of measurements taken (n) in parenthesis unless otherwise indicated. All the data obtained were compared with those documented by Fain (1979) for the different *Listrocarpus* species.

Listrocarpus capucinus sp. nov. (Figs. 1-3)

Diagnosis

Postdorsal plate longer than wide: 79-94 long and 40-52 wide in males (Fig. 1), 94-116 long and 49-64 wide in females. Male pregenital transversal band is 25-37 long and sclerotized, genital opening with 2 sharp non-divided triangular sclerites, coxal sclerites IV have a projection through at least half of the opisthosoma (Fig. 2). Female tubular sperm duct is conical, 59-67 long, and sclerotized at the base (Fig. 3), solenidia ω_1 of tibiotarsus III and IV are 16-21 and 12-16 long, respectively.

Description

Male

Total body length 523 \pm 14 (495-544, n=24), width 224 \pm 11 (198-238, n=20).

Gnathosoma: Triangular, ventrally concave and strongly sclerotized. Length 81 \pm 2 (79-86, n=22), width 94 \pm 2 (89-99, n=22). Anterior palpal segment with 3 setae; posterior palpal segment with one ventral seta.

Idiosoma: Dorsal length 483 \pm 11 (455-495, n=19). Prodorsal plate 10 \pm 1 (9-12, n=15) long, 42 \pm 3 (37-49, n=13) wide; postdorsal plate 87 \pm 4 (79-94, n=21) long, 46 \pm 4 (40-52, n=14) wide. Distances: *sci-sce* 35 \pm 2 (32-37, n=22), *sci-sci* 51 \pm 4 (42-57, n=17), *sce-sce* 78 \pm 7 (67-89, n=14). Setae length: *sci* 151 \pm 9 (143-165, n=7), *sce* 142 \pm 13 (121-156, n=6), *d*₂ 54 \pm 3 (49-59, n=9), *d*₃ 38 \pm 3 (32-42, n=7), *d*₄ 62 \pm 7 (47-74, n=15), *d*₅ 204 \pm 15 (173-232, n=19), *l*₁ 55 \pm 7 (47-69, n=18), *l*₂ 59 \pm 6 (47-67, n=16), *l*₃ 117 \pm 8 (111-128, n=4), *l*₄ 193 \pm 22 (158-227, n=9), *l*₅ 305 \pm 29 (259-370, n=13), *a*₂ 68 \pm 6 (54-82, n=20), *a*₃ 50 \pm 4 (44-57, n=13), *f*₁ 257 \pm 8 (247-272, n=14), *sh* 157 \pm 14 (136-173, n=11) (Fig. 1). Genital opening sclerotized with 2 anterior, sharp, non-divided triangular sclerites and a central, diffuse, genital sclerite 21 \pm 1 (20-22, n=21) long and 18 \pm 1 (16-21, n=22) wide. Strongly sclerotized pregenital transversal band 31 \pm 3 (25-37, n=24) long and 125 \pm 4 (119-136, n=20) wide (Fig. 2A). Pregenital sclerite ("Y" shaped projection anterior to pregenital band) 23 \pm 1 (22-25, n=22) long and 35 \pm 3 (27-40, n=23) wide. Lateral ends of pregenital band extend to coxas IV and fuse with sclerites which border legs IV. Coxal sclerites IV have a projection 58 \pm 4 (52-69, n=25) long through the opisthosoma (Fig. 2B).

Legs: Number of setae on segments of legs I-II: femora 1-1, genua 2-2, tibiae 1-2(ϕ), tarsi 6(ω_1 , ω_3)-5(ω_3 ?); legs III-IV: trochanters 1-0, genua 1(σ)-0, tibiotarsi 8 (ω_1 ?, ω_2 , ω_3)-5(ω_1 , ω_3). Solenidion ω_1 of legs III and IV 36 \pm 2 (35-42, n=22) and 32 \pm 2 (30-35, n=21) long, respectively. Tibiotarsi III 77 \pm 1 (74-80, n=22) long and 29 \pm 1 (27-32, n=23) wide.

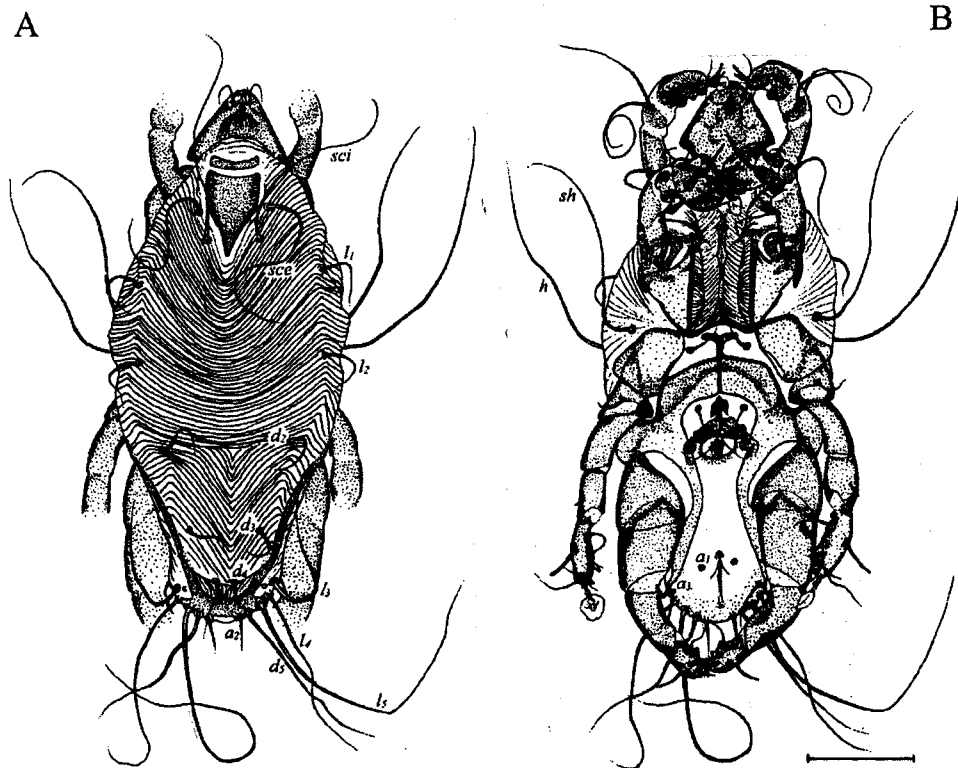


FIGURE 1. *Listrocarpus capucinus* sp. nov., adult male. A, dorsal view; B, ventral view. Scale bar = 100 μ m.

Female

Total body length 593 \pm 28 (534-643, n=25), width 184 \pm 14 (168-208, n=8).

Gnathosoma: Similar to male, 92 \pm 3 (86-96, n=27) long and 105 \pm 4 (99-111, n=9) wide.

Idiosoma: Dorsal length 557 \pm 16 (524-584, n=19). Prodorsal plate 10 \pm 1 (7-12, n=29) long, 51 \pm 3 (47-57, n=10) wide; postdorsal plate 107 \pm 6 (94-116, n=28) long, 55 \pm 6 (49-64, n=10) wide. Distances: *sci-sce* 41 \pm 2 (37-44, n=25), *sci-sci* 59 \pm 5 (52-64, n=10), *sce-sce* 75 \pm 8 (64-84, n=6). Setae length: *sci* 138 \pm 12 (121-151, n=7), *sce* 130 \pm 7 (119-138, n=6), *d*₂ 149 \pm 5 (143-161, n=15), *d*₃ 91 \pm 6 (79-99, n=10), *d*₄ 185 \pm 8 (178-198, n=5), *d*₅ 138 \pm 4 (136-143, n=3), *l*₁ 100 \pm 3 (96-106, n=18), *l*₂ 107 \pm 7 (94-119, n=16), *l*₃ 101 \pm 5 (91-106, n=7), *l*₄ 299 \pm 19 (279-326, n=4), *l*₅ 165 \pm 8 (158-175, n=5), *a*₁ 44 \pm 4 (40-49, n=6), *a*₂ 77 \pm 4 (72-82, n=7), *a*₃ 133 \pm 6 (126-143, n=6), *h* 230 \pm 8 (217-242, n=13), *sh* 158 \pm 11 (131-173, n=12) (Fig. 3A). Tubular sperm duct conical, 61 \pm 2 (59-67, n=25) long and 31 \pm 3 (27-37, n=23) wide at base in lateral view; sclerotized basal section 42 \pm 3 (35-45, n=30) long (Fig. 3B). Oviporus striated with two postero-lateral sclerites 15 \pm 2 (12-17, n=22) long (Fig. 3C).

Legs: Number of setae in legs I-III similar to male; 7(ω ₁, ω ₃) setae in tibiotarsi IV. Solenidion ω ₁ of legs III and IV 18 \pm 1 (16-21, n=21) and 14 \pm 1 (12-16, n=24) long, respectively. Tibiotarsi III 65 \pm 1 (62-67, n=26) long and 22 \pm 1 (20-25, n=26) wide, tibiotarsi IV 71 \pm 2 (68-77, n=27) long and 21 \pm 2 (17-22, n=27) wide.

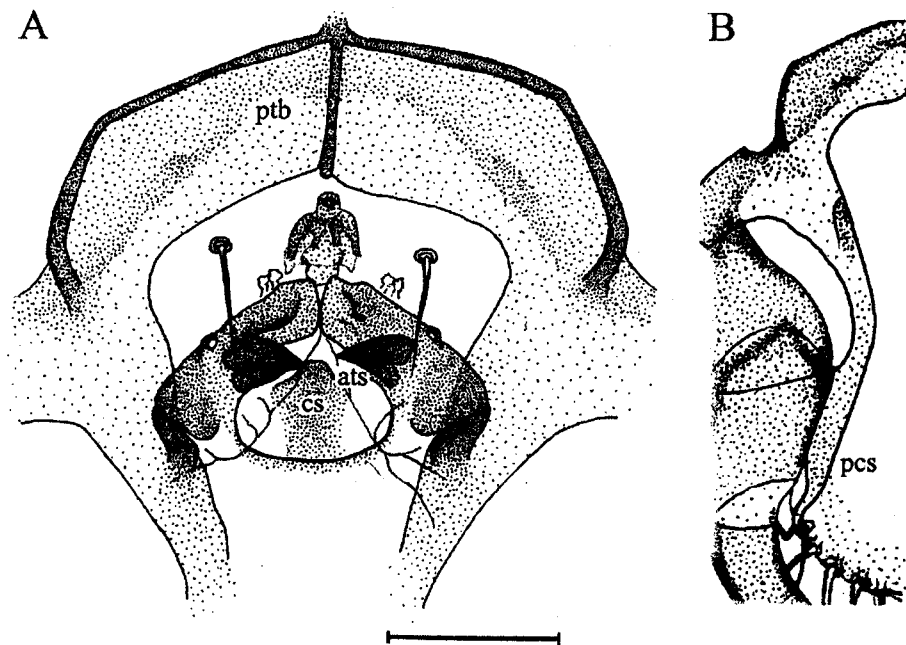


FIGURE 2. *Listrocarpus capucinus* sp. nov. A, male genital opening and associated structures, scale bar = 40 μ m; B, coxal sclerite, scale bar = 80 μ . ats=anterior triangular sclerite, cs=central sclerite, pcs=projection of the coxal sclerite, ptb=pregenital transversal band.

Remarks

L. capucinus females resemble *L. saimirii* except that the former has a longer tubular sperm duct (59-67 vs 45-50) and a shorter postdorsal plate (94-116 vs 130); the males of both species differ in many characters of the genitalia, particularly in the sclerotized pregenital band, which is absent (or not sclerotized) in *L. saimirii*. *L. capucinus* females also have some similarities with *L. cebi*, but the postdorsal plate in the former is wider (49-64) than in the latter (40); however, the main difference is in the male specimens, where *L. capucinus* has a much longer pregenital band (25-37 vs 15) and a coxal sclerite projection that extends through more than half of the opisthosoma.

Taxonomic summary

Type host: *Cebus capucinus* Linnaeus, 1758

Type locality: Parque Nacional Manuel Antonio, Quepos, Costa Rica

Deposition of specimens: Holotype, allotype, and paratypes in the Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica; 8 paratypes in the Museo de Insectos, Universidad de Costa Rica.

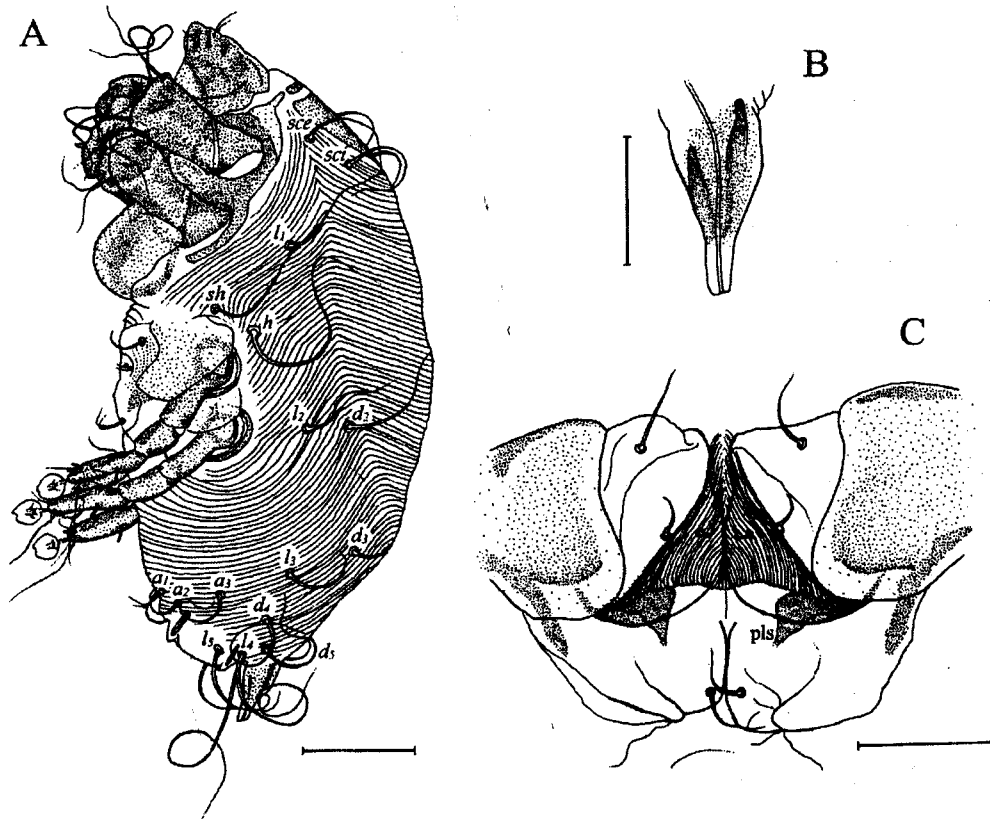


FIGURE 3. *Listrocarpus capucinus* sp. nov., adult female. A, lateral view, scale bar = 100 μ m; B, tubular sperm duct, scale bar = 40 μ m; C, oviporus, scale bar = 40 μ m. pls=postero-lateral sclerites.

Listrocarpus costaricensis sp. nov. (Fig. 4)

Diagnosis

Postdorsal plate longer than wide, 77-84 long and 30-37 wide in males, 99-106 long and 35 wide in females. Male pregenital transversal band is not sclerotized and inconspicuous, genital opening with 2 sharp non-divided triangular sclerites, coxal sclerites IV have a small triangular projection through less than half of the opisthosoma (Fig. 4A). Female tubular sperm duct is conical and 67-69 long (Fig. 4B), solenidia ω_1 of tibiotarsus III and IV are 17-19 and 15 long, respectively.

Description

General appearance and number of setae in leg segments as described for *Listrocarpus capucinus*.

Male

Total body length 424 \pm 17 (396-445, n=8), width 166 \pm 19 (139-188, n=5). Gnathosoma 65 \pm 4 (58-72, n=8) long, 72 \pm 2 (69-74, n=7) wide; idiosoma 383 \pm 14 (366-401, n=4) long in dorsal view. Prodorsal plate length 11 \pm 2 (10-14, n=5), width 36 \pm 3 (33-40, n=3); postdorsal plate 81 \pm 3 (77-84,

n=5) long, 33±3 (30-37, n=4) wide. Distances: *sci-sce* 36±2 (33-40, n=6), *sci-sci* 50±3 (47-54, n=5), *sce-sce* 58±1 (57-59, n=3). Setae length: *sci* 81±9 (74-91, n=3), *sce* 88±10 (79-99, n=3), *d*₂ 53±6 (47-59, n=4), *d*₃ 52±3 (49-57, n=4), *d*₄ 61±6 (54-72, n=5), *d*₅ 156±15 (136-178, n=6), *l*₁ 56±4 (52-62, n=5), *l*₂ 58±4 (54-64, n=5), *l*₃ 89±5 (84-94, n=5), *l*₄ 123±3 (119-126, n=4), *l*₅ 180±11 (168-188, n=3), *a*₂ 39±4 (32-43, n=6), *a*₃ 35±4 (30-42, n=8), *h* 176±10 (165-188, n=5), *sh* 113±10 (101-121, n=3). Genital opening with 2 anterior, sharp, triangular sclerites and a central genital sclerite 13±2 (11-15, n=4) long and 8±1 (7-9, n=4) wide. Pregenital transversal band not sclerotized, 17±3 (12-20, n=4) long and 80±6 (74-86, n=4) wide with a pregenital "Y" shaped sclerite 18±3 (15-22, n=5) long and 41±7 (32-49, n=5) wide. Triangular projection of coxal sclerites that border legs IV 14±2 (12-17, n=7) long (Fig. 4A).

Solenidion ω₁ of legs III and IV 37±3 (32-40, n=7) and 31±1 (30-32, n=5) long, respectively. Tibiotarsi III 60±1 (59-62, n=7) long and 23±1 (22-25, n=8) wide.

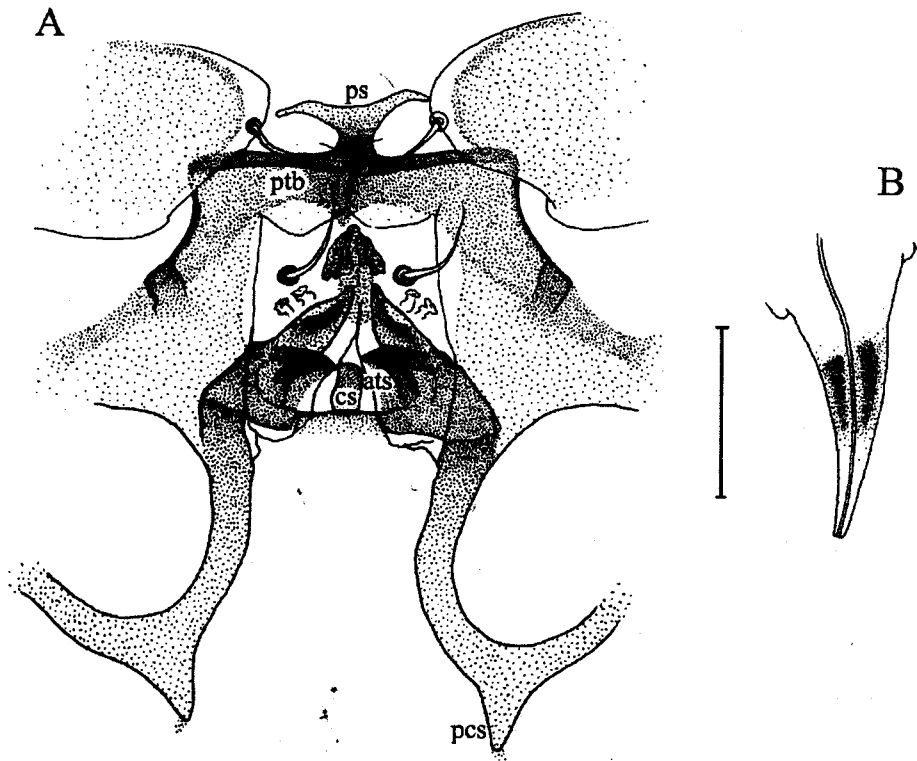


FIGURE 4. *Listrocarpus costaricensis* sp. nov. A, male genital opening and associated structures; B, female tubular sperm duct. ats=anterior triangular sclerite, cs=central sclerite, pcs=projection of the coxal sclerite, ps=pregenital sclerite, ptb=pregenital transversal band. Scale bar = 40µm

Female

Total body length 465 (n=1), width 168 (n=1). Gnathosoma 79-82 (n=2) long, 82 (n=1) wide; idiosoma 435 (n=1) long in dorsal view. Prodorsal plate length 12 (n=2), width 38 (n=1); postdorsal plate 99-106 (n=2) long, 35 (n=1) wide. Distances: *sci-sce* 45-46 (n=2), *sci-sci* 57 (n=1), *sce-sce* 62 (n=1). Setae length: *sci* 74-79 (n=2), *sce* 111-114 (n=2), *d*₂ 86 (n=2), *d*₃ 79-86 (n=2), *d*₄ 163-168

(n=2), d_5 89-99 (n=2), l_1 74-82 (n=2), l_2 86-89 (n=2), l_3 74-79 (n=2), l_4 193-207 (n=2), l_5 131-148 (n=2), a_1 35-44 (n=2), a_2 57-62 (n=2), a_3 109-121 (n=2), h 153-156 (n=2), sh 101-111 (n=2). Tubular sperm duct conical 67-69 (n=2) long and 22-25 (n=2) wide at base in lateral view; length of sclerotized basal section 22 (n=2) (Fig. 4B). Postero-lateral oviporus sclerites 10 (n=1) long.

Solenidion ω_1 of legs III and IV 17-19 (n=2) and 15 (n=2) long respectively. Tibiotarsi III 54-57 (n=2) long and 20-21 (n=2) wide, tibiotarsi IV 54-57 (n=2) long and 17-19 (n=2) wide.

Remarks

Females of *L. costaricensis* resemble those of *L. cebi*, except for the total body length (465 and 610, respectively) and the length of the solenidia ω_1 of legs III (17-19 in *L. costaricensis* and 15 in *L. cebi*) and IV (15 and 10, respectively). However, the main differences are evident in the male specimens, where *L. costaricensis* does not have a sclerotized pregenital band as described for *L. cebi*. *L. costaricensis* females may also have some similarities with *L. saimirii*, except for the shorter body length (465 vs 630), shorter postdorsal plate (99-106 vs 130), and longer sperm duct (67-69 vs 45-50) of *L. costaricensis*; however, the main difference is in the male specimens, where, even though both lack a sclerotized pregenital band, *L. costaricensis* has a coxal sclerite projection that extends through less than half of the opisthosoma.

Taxonomic summary

Type host: *Saimiri oerstedii* Reinhardt, 1872

Type locality: Parque Nacional Manuel Antonio, Quepos, Costa Rica

Deposition of specimens: Holotype, allotype, and paratypes in the Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica; 4 paratypes in the Museo de Insectos, Universidad de Costa Rica.

Discussion

The characters that separate one species from another, in the genus *Listrocarpus*, are generally given by the length and width of the postdorsal plate, shape and length of the female tubular sperm duct, and different structures related to the male genital opening (Fain 1979). Although the qualitative differences between some of the species may be difficult to establish within females, the specific characters are much more evident in the males.

L. capucinus and *L. costaricensis* differ greatly from other *Listrocarpus* species, except for the females, which may initially resemble *L. cebi* or *L. saimirii*, although the males are readily distinguished (see remarks for each species). Some of the most evident reasons for their differentiation are: both have a postdorsal plate which is longer than wide (approximately as long as wide in *L. surinamensis* and the only known females of *L. hapalei*), but different in shape and much shorter than in *L. alouatta*; females have a conical sperm duct (not well developed or absent in *L. anurus*, sinusoidal in *L. casgrovei*, and evidently not conical in *L. lagothrix*) and lack the spines found in the only known females of *L. spinifer*.

L. capucinus and *L. costaricensis* differ from each other in quantitative and qualitative characters. In females, the main difference is in the shape of the sperm duct, which is conical in both species but shorter, wider, and more sclerotized in the former (Figs. 3B and 4B). In males, there are many different characters such as the sclerotized pregenital transversal band present in *L. capucinus*, the shape of the pregenital sclerite (Figs. 1B, 2A, and 4A), and the projection of the coxal sclerite which extends through more than half of the opisthosoma in *L. capucinus* (Figs. 2B and 4A).

The description of these two species from different hosts and geographical areas than those described by Fain suggests that this group may be diverse, and this diversity could be due to a strong specificity in the host-mite relationship.

Acknowledgements

We are thankful to Rónald Sánchez and Gustavo Gutiérrez, Escuela de Biología; and Misael Chinchilla, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, for capturing the monkeys and collecting the hair samples; to Mario Vargas, Facultad de Microbiología and Hugo Aguilar, Museo de Entomología, Universidad de Costa Rica, for their critical reviews and helpful suggestions. This work was supported by the Vicerrectoría de Investigación and the Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, projects # 111-A-015 and 803-A1-745, respectively.

References

- Fain, A. (1967) Diagnoses d'acariens sarcoptiformes nouveaux, *Revue de Zoologie et de Botanique Africaines*, LXXV (3-4), 378-382.
- Fain, A. (1972) Nouveaux acariens parasites (Sarcoptiformes et Trombidiformes), *Bulletin et Annales de la Societe Royale Belge d'Entomologie*, 108, 242-252.
- Fain, A. (1979) Les listrophorides d'Amerique neotropicale (Acarina: Astigmates) II. Famille Atopomelidae, *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique Entomologie*, 51, 1-158.
- Troyo, A., Solano, M. E., Calderón-Arguedas, O., Chinchilla, M., Sánchez R. & Gutiérrez-Espeleta, G. A. (2002) Fur mite, *Listrocarpus alouattae* Fain (Acari: Atopomelidae) from *Alouatta palliata* Gray (Primates: Cebidae) in Costa Rica, *International Journal of Acarology*, 28 (3), 251-255.

Accepted: 22 December 2003

Published: 23 February 2004

Full text of this paper is available online free of charge from:
http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/acarology/saas/saasp.html

Parásitos intestinales en monos congo *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica

Misael Chinchilla Carmona^{1,3}, Olga Guerrero Bermúdez¹, Gustavo A. Gutiérrez- Espeleta²,
Ronald Sánchez Porras⁴ & Beatriz Rodríguez Ortiz¹

1 Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Chinchillacm@UCIMED.com

2 Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

3 Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED).

4 Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica.

Correos electrónicos: (G. Gutiérrez) ggutier@biologia.ucr.ac.cr; (O. Guerrero) abriceno@racsa.co.cr; (R. Sánchez) rsanchez@cariari.ucr.ac.cr

Correspondencia: M. Chinchilla: chinchillacm@ucimed.com

Recibido 13-IV-2005. Corregido 08-IX-2005. Aceptado 10-IX-2005.

Abstract: Intestinal parasites in howler monkeys *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) of Costa Rica. Fecal samples of 102 howler monkeys (*Alouatta palliata*) from several sites of Costa Rica were studied for intestinal parasites. The zones studied were: Central Valley (San Ramón, Alajuela), Central Pacific (Chomes and Manuel Antonio National Park, Puntarenas), North Pacific (Palo Verde Park and Playa Potrero, Guanacaste), Chira Island in the Nicoya Gulf and Caribbean area (Cahuita, Limón). Animals were anesthetized with dards containing Telazol in order to collect the fecal material; some monkeys defecated spontaneously and others by direct stimulation. Samples were studied in saline solution (0.85%) and a Iodine solution, or stained with Haematoxylin. The material was also cultured in Dobell culture medium to determine the presence of amoeba and flagellates. *Strongyloides*, *Controrchis*, *Trypanoxyuris* genera were found in 3.4% of the samples. In addition 16.7% to 80% of the animals showed protozoa infection with *Endolimax*, *Entamoeba*, *Trichomonas* and *Giardia*. It is discussed the relationships of parasite infection with environmental conditions, animal population and human presence, specially in the monkey conservation programs point of view. Rev. Biol. Trop. 53(3-4): 437-445. Epub 2005 Oct 3.

Key words: Intestinal parasites, howler monkeys, *Alouatta palliata*, Cebidae, Primates, Costa Rica.

El riesgo de extinción de primates en el mundo es un hecho ampliamente conocido en todo el mundo, ya que las especies de este grupo de animales, al igual que las de otros grupos se encuentra en evidente peligro de desaparecer.

En Costa Rica, como en muchos de los países mencionados en ese informe, existe una tendencia a la disminución en el número de individuos y especies de animales silvestres, en las que se incluyen los monos con que cuenta este país a saber: mono congo o aullador (*Alouatta palliata* Gray, 1849), carablanca (*Cebus capucinus*, Linnaeus, 1758), tití

o ardilla (*Saimiri oerstedii*, Reinhardt, 1872) y colorado o araña (*Ateles geoffroyi* Kuhl, 1820) (Villalobos *et al.* 2004, Zaldívar *et al.* 2004). La creación de áreas protegidas ha contribuido a la conservación de estas especies, mientras que la destrucción del hábitat y la cacería clandestina, son casi siempre los factores responsables de la disminución del número de individuos en las poblaciones. Las infecciones parasitarias podrían ser también causa de este fenómeno, especialmente si se toma en cuenta que cada día existe mayor contacto entre estos primates y el ser humano, quien como sabemos, es infectado por varios parásitos capaces de producir

problemas patológicos importantes. Al respecto se conocen los informes de la presencia de amebas y flagelados (Gozalo y Tantalean 1996) en las 4 especies de monos estudiados en todo el proyecto del que es parte este informe y que lleva alrededor de tres años de trabajo.

Específicamente en el caso del género *Alouatta*, se cuenta con hallazgos importantes en ejemplares provenientes de otros países del Continente Americano (Stuart *et al.* 1998). Se han reportado protozoarios de los géneros *Entamoeba*, *Giardia*, *Trichomonas*, *Chilomastix*, *Endolimax* y *Balantidium*. En cuanto a helmintos se refiere, se cuenta con un estudio realizado en Costa Rica en *A. palliata* del Centro Ecológico La Pacifica, Guanacaste (Stuart *et al.* 1990) en que se informa de la presencia de un strongilídeo y un tremátodo, *Controrchis caballeroi*, *Controrchis bilicophilus* (*C. caballeroi*) (Jiménez-Quirós y Brenes 1957-1958, Rodríguez-Ortiz *et al.* 2004). En otro estudio realizado en la Reserva Biológica La Selva (Stoner 1996) se encontraron algunos helmintos en las heces de estos primates, pero no se informó de protozoarios intestinales.

Este estudio pretende analizar la fauna parasitaria intestinal que podría representar algún impacto negativo en la salud de los monos congo y eventualmente justificar el deterioro de las poblaciones. Para lo anterior se hizo un estudio de las heces de 102 monos de la especie *A. palliata* provenientes de diversos lugares de Costa Rica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 99 ejemplares de la especie *A. palliata* provenientes de diversos lugares de Costa Rica (Fig. 1): 5 del Valle Central (San Ramón, Alajuela), 14 del Pacífico Central (Chomes y Parque Manuel Antonio, Puntarenas), 35 del Pacífico Norte (Parque Nacional Palo Verde, Gran Nicoya y Playa Potrero, Guanacaste), 5 de la Isla Chira situada en el Golfo de Nicoya y 29 de la región del Caribe (Cahuita, Limón). Para la captura de los monos en su estado silvestre, se utilizaron dardos con compuestos anestésicos, mediante técnicas estándares (Glander *et al.* 1991). El anestésico general empleado fue el hidrocloreto de tiletamina, un análogo de la ketamina, disponible en una combinación 1:1 con zolazepam (una pirazolodiazepina) conocido comercialmente como Zoletil®. El zolazepam al estar mezclado con la tiletamina genera un aumento en sus efectos anestésicos, ayuda a la relajación muscular, disminuye las posibles convulsiones y establece una recuperación paulatina (Swan 1992). La dosis recomendada de este compuesto para primates es de 5-10 mg/kg (IACUC 1998). Los animales fueron recibidos al caer anestesiados en una red sostenida por 4 personas.

Luego fueron pesados y se les realizó el examen físico, después de lo cual defecaron o fueron estimulados para hacerlo por medio de ligera presión en el abdomen. Las heces fueron

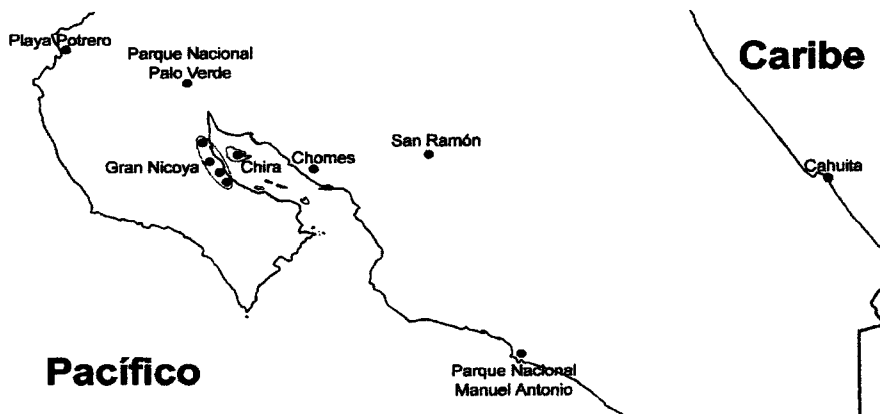


Fig. 1. Zonas de estudio de parásitos en monos de la especie *A. palliata*.

colectadas en recipientes plásticos para transportarlas al laboratorio. Tres de las muestras, 2 de San Ramón y 1 del Parque Manuel Antonio, totalmente individualizadas pero sin identificación del animal de origen, fueron incluidas dentro del estudio (Cuadros 3 y 4) por el interés parasitológico que conlleva. Por supuesto que estas muestras no son tomadas en cuenta en los estudios relacionados con sexo y peso de los monos (Cuadros 5 y 6).

Después de realizar todos los exámenes antes indicados, generalmente ellos comenzaban a despertar, pero de todas maneras por medio de aplicación vía oral de pequeñas cantidades de agua se aceleraba el proceso. Los animales fueron vigilados hasta que presentaran la capacidad de asirse con facilidad a los objetos, momento en el que se les colocaba en un árbol de fácil acceso para que ascendiera hacia otros árboles de mayor altura.

El material se estudió en forma directa, suspendiéndolo en solución salina al 0.85% o en una solución de lugol D' Antoni para determinar la presencia de trofozoitos o quistes de protozoarios, así como la de huevecillos, larvas o adultos de helmintos intestinales. Parte de la muestra se sembró en el medio de Dobell modificado para determinar el crecimiento de flagelados los cuales fueron diagnosticados por su crecimiento y motilidad. Los otros organismos

fueron identificados por su morfología, observada tanto en forma directa como en preparaciones teñidas con hematoxilina férrica de Heidenhain, donde se analizó su estructura nuclear, tipo de cromatoidales de los quistes e inclusiones citoplasmáticas de los trofozoitos. En el caso de *Entamoeba chattoni*, fue necesario efectuar mediciones y otras observaciones morfológicas con base en la descripción original (Burrows 1955) dada la similitud con las especies de amebas conocidas.

Se trató de establecer la relación entre las especies y el número de parásitos encontrados en los primates y cercanía de éstos con el ser humano, para lo cual se tomó en cuenta el área y la población de las regiones en estudio (Cuadro 1). También se relacionaron los resultados con las condiciones climáticas prevalecientes en las regiones estudiadas (Cuadro 2).

RESULTADOS

El 44% de las muestras fueron positivas por protozoarios (Cuadro 3) tales como: *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmanni*, parásitas también del ser humano, así como *Entamoeba chattoni*, característica de monos. Los animales de las zonas de Isla Chira, Playa Potrero, San Ramón

CUADRO 1

Población humana en las zonas geográficas en donde se colectaron las muestras de la especie A. palliata

Zona Geográfica	Area (Km ²)	Población	Habit/Km ² *
Chomes	127.6	4162	33
Chira (Manzanillo)	101.86	3180	31
Manuel Antonio	6.82	5000	733
Quepos	222.89	14948	67
Calnuita	173.41	5426	31
San Ramón - Centro	1.29	9697	7517
Potrero - Sardinal	240.45	10204	43
Gran Nicoya - Sn. Antonio	338.17	6716	20
Palo Verde	57.04	2114	37

* Número aproximado de habitantes por Km

Fuente: Documentación en Atlas de Costa Rica. 2000- Origen Geotecnologías S.A. Según censo del 2000.

CUADRO 2

Condiciones climáticas en los lugares de captura en el presente estudio indicando temperatura, precipitación, zona de vida y características de los bosques que la conforman

Lugar captura	Temp. media anual (periodo seco)	Precipitación	Tipo de bosque
Chomes	24°C a 27.8°C (Periodo seco efectivo de 3.5 a 5 meses)	1500 mm a 1950 mm	Bosque húmedo premontano transición a basal tropical (Bh-P)
Parque Nacional Palo Verde	24°C a 27.8°C (Periodo seco efectivo de 3.5 a 5 meses)	1500 mm a 1950 mm	(Bh-P)
Parque Nacional Cahuita	24°C a 27°C (Periodo seco variable de 0 a 5 meses)	1950 mm a 3000 mm	Bosque húmedo tropical (Bh-T)
Chira	24°C a 27.8°C (Periodo seco consecutivo es de 6.5 meses)	2000 mm a 4000 mm	Bosque seco tropical (Bs-T)
San Ramón	17°C a 24°C (Periodo seco efectivo de 0 a 5 meses)	1100 mm a 1500 mm	Bosque muy húmedo Premontano (Bmh-P)
Gran Nicoya	24°C a 27.8°C (Periodo seco efectivo de 3.5 a 5 meses)	1500 mm a 1950 mm	(Bh-P)
Playa Potrero	24°C a 27.8°C (Periodo seco efectivo es de 6.5 meses)	1100 mm a 1500 mm	(Bs-T)
Parque Nacional Manuel Antonio	24°C a 27°C (Periodo seco efectivo de 0 a 5 meses)	3000 mm a 4000 mm	(Bmh-P)

Fuente: Instituto meteorológico Nacional. www.iied.guias.costa.rica.com/cr3.htm

CUADRO 3

Presencia de protozoos en 102 muestras de heces de monos de la especie *Alouatta palliata* de 8 zonas geográficas

Zona Geográfica	Nº de Muestras	Amebas *		Protozoos				Total positivos (Al menos 1 parásito)	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Chomes	9	6	66.7	1	11.1	0	0	6	66.7
Palo Verde	20	3	15.0	1	5.0	1	5.0	5	25.0
Cahuita	29	9	31.0	1	3.4	1	3.4	11	37.9
Chira	5	4	80.0	0	0	0	0	4	80.0
San Ramón	7	4	57.1	0	0	1	14.3	5	71.4
Gran Nicoya	18	7	38.9	0	0	0	0	7	38.9
Playa Potrero	8	6	75.0	0	0	5	62.5	6	75.0
Manuel Antonio	6	1	16.7	0	0	0	0	1	16.7
TOTALES	102	40	39.2	3	2.9	8	7.8	45	44.1

Se incluyen 2 muestras de heces de monos de San Ramón y 1 de monos de Manuel Antonio cuyo origen animal no se conoce.

* Géneros *Entamoeba* y *Endolimax*

y Chomes presentaron los mayores porcentajes de infección por protozoarios (80%, 75%, 71.4% y 66.7 respectivamente).

La infección por helmintos fue porcentualmente más baja (Cuadro 4), con excepción de los animales de la Isla de Chira en donde casi todos los individuos estudiados estaban positivos. La infección por sexo de los monos congo fue similar (Cuadro 5).

Al agrupar los animales estudiados como infantes, juveniles y adultos, los porcentajes de infección por al menos un parásito fueron

de 81.8%, 52.6% y 49.3% respectivamente. El análisis del ámbito de pesos y la presencia de parásitos indicó un ligero aumento en el grado de infección en animales de menos peso (0.25 a 5 Kg). No se toma en cuenta como parámetro comparativo los datos de monos con pesos mayores a 10 Kg dado el poco número de ejemplares con tal condición (Cuadro 6).

Las poblaciones de monos aulladores se desplazan muy cerca de las viviendas en las zonas estudiadas, sin importar, aparentemente, la densidad de la población humana (Cuadro 1).

CUADRO 4
Presencia de helmintos en 102 muestras de heces de monos de la especie *Alouatta palliata* de 8 zonas geográficas

Zona Geográfica	Nº de Muestras	Helmintos						TOTAL	
		<i>Trypanoxyuris</i>		<i>Strongyloides</i>		<i>Controrchis</i>		Nº	%
		Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Chomes	9	1	11.1	2	22.2	0	0	3	33.3
Palo Verde	20	0	0	1	5	0	0	1	5
Cahuaita	29	1	3.4	0	0	0	0	1	3.4
Chira	5	3	60	0	0	1	20	4	80
San Ramón	7	0	0	1	14.3	0	0	1	14.3
Gran Nicoya	18	1	5.6	3	16.7	1	5.6	5	27.8
Playa Potrero	8	0	0	2	25	0	0	2	25
Manuel Antonio	6	0	0	1	16.7	0	0	1	16.7
TOTAL	102	6	5.9	10	9.8	2	2.0	18	17.6

Se incluyen 2 muestras de heces de monos de San Ramón y 1 de monos de Manuel Antonio de origen animal desconocido

CUADRO 5
Relación entre el porcentaje de positividad por parásitos y el sexo de monos de la especie *Alouatta palliata*

Sexo	Positividad									
	Negativos		Total		Protozoos		Helmintos		Ambos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Hembras	24	24.2	24	24.2	15	15.1	5	5.0	3	3.0
Machos	24	24.2	27	27.3	20	20.2	3	5.0	5	5.0
Total	48	48.5	51	51.5	35	35.4	8	8.0	8	8.0

CUADRO 6

Porcentaje de positividad por parásitos en relación con ámbitos de peso de los 99 monos estudiados

Sexo	Ámbitos de peso (Kg)								
	0.25 a 5			5.1 a 10			10.1 a 15.8		
	Total	Pos*	%	Total	Pos*	%	Total	Pos*	%
Hembras	28	16	57.1	22	7	31.8	0	0	0
Machos	11	3	27.3	34	18	52.9	4	3	75
Total	39	19	48.7	56	25	44.6	4	3	75

* Animales infectados con algún parásito

DISCUSIÓN

Stuart *et al.* (1990, 1998) mencionan en su revisión sobre parásitos de primates, la presencia de protozoarios intestinales de los géneros *Entamoeba*, *Giardia*, *Retortamonas*, *Trichomonas*, *Chilomastix* y *Balantidium* en monos del género *Alouatta* de Brasil y Guayana Francesa. Específicamente en la especie *A. palliata* dichos autores informan los mismos protozoarios en Panamá y México. La presencia de helmintos intestinales de los géneros *Ascaris*, *Ancylostoma* y *Trypanoxyuris* ha sido documentada en Brasil, Colombia y Surinam. Específicamente en Costa Rica, se menciona la presencia de estrongilidios y helmintos del género *Trypanoxyuris* en *A. palliata* (Stuart *et al.* 1988).

El hallazgo de *E. chattoni*, es importante ya que constituye el primer informe de este parásito en Centro América. Además la presencia de organismos similares a *E. histolytica*/*E. dispar* y *G. intestinalis*, especies patógenas para el ser humano, podría ser un factor negativo en la supervivencia de esos animales.

Este es el primer informe en el cual se analiza un número importante de animales y se observa una infección notoria por parásitos intestinales (Cuadros 3 y 4). Se observó que la infección por protozoarios es más elevada que por helmintos. Esto se debe muy probablemente a que dentro de los parásitos intestinales los ciclos de vida de los helmintos son, en general, más complejos que en

los protozoarios, requiriendo algunas veces condiciones especiales del ambiente para que se desarrolle la forma infectante.

La importancia de los parásitos como un factor que afecta la densidad y distribución de las especies de monos, así como en la conservación biológica, ha sido reconocida por varios autores (Anderson 1979, May 1988, Scott 1988). Además la llamada Medicina de conservación indica que "las enfermedades juegan un papel muy importante en la dinámica de poblaciones" y que el contacto cercano entre animales y humanos amenaza la salud y la conservación (Daszak *et al.* 2000). Por otro lado, el proceso de fragmentación boscosa ha hecho que los animales vayan perdiendo espacio, aproximándose cada vez más a la población humana y variando su dieta tradicional (Gilbert y Dodds 1987). Esto produce un mayor riesgo de transmisión de parásitos de humanos hacia los monos como se observa en este estudio, especialmente en el caso de los protozoarios. Esto se comprueba al observar que las muestras de Chomes, Isla de Chira, San Ramón y Playa Potrero fueron las que presentaron mayores porcentajes de infección (66.7%, 80%, 71.4% y 75% respectivamente) (Cuadro 3). En los cuatro casos los animales estaban mucho más cercanos a la población o inclusive limitados a un espacio muy pequeño como en la Isla de Chira y San Ramón, este último con una densa población humana (Cuadro 1). El caso del parque nacional Manuel Antonio parece salirse del formato, pues es visitado por gran

cantidad de turistas que en cierto modo establecen mayor presencia del ser humano con los monos. Sin embargo, la existencia de una área boscosa importante en esta zona y la posibilidad de que algún componente propio de la dieta de los animales pueda ejercer algún efecto antiparasitario, podrían ser las razones de tal incongruencia. Los índices de infección en los animales de las diferentes regiones estudiadas no dependen aparentemente de las condiciones climáticas de éstas (Cuadro 2), ya que igualmente se dan infecciones altas de parásitos tanto en bosque seco (Chira) como en bosque húmedo (Chomes y San Ramón).

En este trabajo los animales con un peso de 0.25 a 5 Kg presentaron un porcentaje de infección mayor que aquellos con un peso de 5.1 a 10 Kg (Cuadro 6). Otros autores (Stuart *et al.* 1990, 1998) han indicado que las infecciones son más frecuentes en adultos de más edad (de más peso). En nuestro estudio se encontró un porcentaje mayor de infecciones en primates de más de 10 Kg pero dado el poco número de animales con este peso no es posible obtener conclusiones válidas. Analizando los animales de acuerdo con su categoría de infantes, juveniles y adultos, observamos que el mayor porcentaje de infección (81.8%), estuvo presente en los infantes lo cual semeja a lo que ocurre con las infecciones parasitarias humanas en que los niños son mayormente proclives a las infecciones.

Otro aspecto a tomar en cuenta es la fragmentación boscosa en Costa Rica, ya que induce a una mayor concentración de las tropas de estos animales en un menor espacio. Al respecto (Nunn *et al.* 2003) estudiaron al menos cuatro factores como problemas determinantes del aumento de especies parasitarias en los monos y concluyeron que la densidad poblacional de primates era el factor más importante, no sólo por la mayor presencia, sino también por la más amplia variación de especies de agentes infecciosos.

El conocimiento de infecciones parasitarias en estos animales, induce a pensar en la importancia del desarrollo de lo que algunos países como Colombia, denominan la medicina de la

conservación (Nassar-Montoya *et al.* 2001) en donde se ha desarrollado una gran infraestructura y logística, tendiente a proteger estos animales a través del tratamiento de sus problemas tanto de carácter infeccioso como metabólicos.

En Costa Rica al igual que en otros países, la implementación de programas similares de vigilancia sostenida de la salud de la fauna silvestre, podrían ser de gran importancia para proteger los monos aulladores, cuya presencia es vital para mantener el equilibrio biológico de los bosques de donde son nativos. Aparte de este valor en la naturaleza, está el aspecto económico agregado que se brinda a las áreas que habitan, incrementando su potencial turístico.

El hallazgo de las infecciones parasitarias aquí informadas, podría ser entonces un aspecto importante a tomar en cuenta, especialmente al establecer programas de conservación de los pocos monos que todavía quedan en Costa Rica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado en parte con el proyecto No. 111-A1-015 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y por el Departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). Los autores agradecen profundamente a los estudiantes de grado y posgrado de Biología y Microbiología de la Universidad de Costa Rica, Universidad Nacional e Instituto Tecnológico por su apoyo en la captura y manejo de los animales. También agradecemos a Mario Vargas V. y José M. Mora por la revisión del manuscrito y externar sus valiosos consejos para mejorarlo.

RESUMEN

Se estudiaron las heces de 102 monos de la especie *Alouatta palliata* (monos aulladores o congos) de las siguientes regiones de Costa Rica. Valle Central: San Ramón (Alajuela); Pacífico Central: Isla Chira y Parque Manuel Antonio (Puntarenas); Pacífico Norte: Palo Verde, Playa Potrero, Nicoya (Guanacaste) y Caribe: Cahuita

(Limón). Los animales capturados fueron anestesiados con dardos conteniendo Telazol®. La mayoría defecaron espontáneamente o se les estimulaba a defecar. Las muestras se estudiaron en el laboratorio en forma directa en solución salina (0.85%) y una solución de yodo o teñidas con hematoxilina para identificar los parásitos correspondientes. El material fue cultivado en el medio de Dobell para determinar la presencia de amebas y flagelados. Se encontraron helmintos de los géneros *Typanoxyuris*, *Strongyloides* y *Controrchis* y protozoarios de los géneros *Endolimax*, *Entamoeba*, *Trichomonas* y *Giardia*. Los porcentajes de infección por protozoarios oscilaron entre 16.7% y 80% y se encontraron helmintos en un 3.4% a un 80% de los animales de acuerdo con la zona estudiada. No se encontraron diferencias importantes de parasitosis relacionadas con el sexo pero si existió mayor infección en los animales más jóvenes. Se establece la relación entre los índices de infección y algunos parámetros tales como las áreas estudiadas, el peso de los animales y el contacto con el ser humano.

Palabras clave: Parasitos intestinales, monos congo, *Alouatta palliata*, Cebidae, Primates, Costa Rica.

REFERENCIAS

- Anderson, R.M. 1979. Parasite pathogenicity and the depression of host population equilibria. *Nature* 279: 150-152.
- Burrows, R.B. 1955. *Entamoeba polecki* infections in man. *Am. J. Hyg.* 162: 156-157.
- Clarke, M.R., C.M. Crockett, E.L. Zucker & M.E. Zandícar-Ruiz. 2002. Mantled howler population of Hacienda La Pacifica, Costa Rica, between 1991 and 1998: Effects of deforestation. *Am. J. Primatology* 56: 155-163.
- Clarke, M.R., D.A. Collins & E.L. Zucker. 2002. Responses to deforestation in a group of mantled howlers (*Alouatta palliata*) in Costa Rica. *Int. J. Primatology* 23: 365-381.
- Daszak, P., A.A. Cunningham & A.D. Hyatt. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife-treats to biodiversity and human health. *Science* 287: 443-449.
- IACUC, 1998. IACUC guidelines for the care and use of live vertebrate animals. Institutional Animal Care and Use Committee. Appendix F. (También disponible en línea: <http://WWW.unmc.edu/Education/Animal/guide/iacuc-GUIDELINES.pdf>)
- Gilbert, F.F. & D.G. Dodds. 1978. The philosophy and practice of wildlife management. Robert E. Krieger, Malabar, Florida, EEUU.
- Glander, K.E. L.M. Fedigan, L. Fedigan & C. Chapman. 1991. Field Methods for Capture and Measurement of Three Monkey Species in Costa Rica. *Fol. Primatol.* 57: 70-82.
- Gozalo, A.C. & M. Tantaleán. 1996. Parasitic Protozoa in Neotropical primates. *Lab. Primate Newsletter* 35: 1-7.
- Jiménez-Quirós, O. & R. Brenes. 1957. Helmintos de la República de Costa Rica. V. Sobre la validez del género de *Controrchis* Price, 1928 (Trematoda, Dicrocoeliidae) y descripción de *Controrchis caballeroi* n. sp. *Rev. Biol. Trop.* 5: 103-121.
- Jiménez-Quirós, O. & R. Brenes. 1958. Nota sobre el trematodo *Controrchis caballeroi* Jiménez y Brenes, 1957. *Rev. Biol. Trop.* 6: 189-190.
- May, R.M. 1988. Conservation and Disease. *Conserv. Biol.* 2: 28-30.
- Nassar, E., V. Pereira & T. Vodovoz. 2003. Medicina de la conservación en el estudio de poblaciones naturales de primates en Colombia. *Primatol. Nuevo Mundo* 2003: 239-252.
- Nunn, C.L., S. Altizer, K.E. Jones & W. Sechrest. 2003. Comparative Tests of parasite species richness in Primates. *Amer. Nat.* 162: 597-614.
- Rodríguez-Ortiz, B., L. García-Prieto, & G. Pérez-Ponce de León. 2004. Checklist of the helminth parasites of vertebrates in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52: 313-354.
- Sargeant, P.G., J.E. Williams & D.M. Jones. 1982. Electrophoretic Isoenzyme patterns of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba chattoni* in Primate survey. *J. Protozool.* 29: 136-139.
- Scott, M.E. 1988. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. *Conserv. Biol.* 2: 40-56.
- Stoner, K.E. 1996. Prevalence and intensity of intestinal parasites in mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*) in northeastern Costa Rica: implications for conservation biology. *Conserv. Biol.* 10-2: 539-546.
- Stuart, M.D., L.L. Greenspan, K.E. Glander & M.R. Clarke. 1990. Coprological survey of parasites of wild mantled howling monkeys, *Alouatta palliata*. *J. Wildlife Dis.* 26: 547-549.
- Stuart, M.D., V. Pendergast, S. Rumpf, S. Pierberg, L. Greenspan, K.E. Glander & M.R. Clarke. 1998. Parasites of wild howlers (*Alouatta* spp.). *Int. J. Primatol.* 19: 493-512.
- Villalobos, F., A.A. Valerio & A.P. Retana. 2004. A phylogeny of howler monkeys (Cebidae: *Alouatta*) based on

mitochondrial, chromosomal and morphological data.
Rev. Biol. Trop. 52: 665-677.

Zaldívar, M.E., O. Rocha, K.E. Glander, G. Aguilar, A.S. Huertas, R. Sánchez & G. Wong. 2004. Distribution, ecology, life history, genetic variation, and risk of extinction of nonhuman primates from Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52: 679-693.

REFERENCIAS DE INTERNET

Swan, G.E. 1992. A summary of the practical aspects of drugs commonly used for the restraint of wild animals. Capture and Care Manual online; http://www.wildlifedecisionsupport.com/captureandcare/sectiona/drugs/01_swan.htm (consultado enero 2005).