

Reprodução de primatas não-humanos¹

Reproduction of non-human primates

Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães

Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo,
CEP 05508-000, São Paulo/SP, Brasil
Correspondência: mabvg@usp.br

Resumo

As espécies pertencentes à Ordem Primates apresentam grande variação tanto nos aspectos morfológicos fenotípicos, quanto nos comportamentais e endócrino-reprodutivos. Podemos dividir os membros desta ordem em dois grandes grupos: O dos Primatas do Velho Mundo (PVM) e dos Primatas do Novo Mundo (PNM). As espécies contidas nestes grupos, apresentam particularidades que demonstram a grande adaptabilidade dos primatas aos mais diversos ambientes e situações, respondendo a estes desafios da evolução com múltiplos sistemas de acasalamento, diferentes tipos de ciclos ovarianos e mecanismos de ovulação, hábitos sociais complexos e mesmo características fenotípicas como porte físico e volume testicular. Em cada um destes sistemas existem diferentes intensidades de competição espermática, fazendo com estas características comportamentais, endócrinas e fenotípicas diferentes fossem selecionadas. O conhecimento das características endócrinas é essencial para o desenvolvimento e aplicação de técnicas de reprodução assistida como a inseminação artificial, a fertilização “in vitro” e a transferência de embriões. A grande dificuldade em se realizar estudos endócrinos em espécies silvestres reside, em grande parte, na inviabilidade de se proceder às colheitas seriadas de sangue. Isto fez com que técnicas não invasivas para a monitoração endócrina fossem desenvolvidas. As extrações e dosagens de metabólitos fecais e urinários de esteróides sexuais tornaram-se as principais ferramentas para estes estudos. Neste artigo são abordados e comentados alguns dos principais avanços e sucessos no estudo da endocrinologia reprodutiva e na aplicação de técnicas para a reprodução assistida.

Palavras-chave: primatas não humanos, endocrinologia, reprodução assistida, hormônios fecais e urinários

Abstract

The Primates The different species of the Primate Order present a great deal of morphological and phenotypical variations as endocrine and reproductive characteristics as well. There are two main groups, the Old World Monkeys (OWM) and the New World Monkeys (NWM). Each species in both groups developed characteristics as a result of multiple evolutionary pressures giving them a whole spectrum of variety of behavioral, morphological and endocrine answers. For that reason, different strategies were chosen by each species, producing multiple mating systems, different types of ovarian cycles, ovulation mechanisms, social habits, body size and testicular volumes. The understanding of these characteristics is essential for the successful application of assisted reproductive techniques (ART) such as artificial insemination, in vitro fertilization and embryo transfer. It is well known that serial blood collections are very unpractical or even impossible in the majority of wild animals. For that reason, non-invasive techniques such fecal and urinary hormones became a major tool for this kind of approach. This article cite and discuss some of the more relevant advances in this field.

Keywords: non human primates, endocrinology, assisted reproduction, fecal and urinary hormones.

Introdução

As espécies pertencentes à Ordem Primates apresentam grande variação tanto nos aspectos morfológicos fenotípicos, quanto nos comportamentais e endócrino-reprodutivos. Neste amplo espectro de variações encontramos desde espécies de hábitos noturnos, com ciclos ovarianos do tipo estral, que utilizam sistemas de acasalamento do tipo disperso, como os lêmures (*Lemur catta*), até antropóides com hábitos diurnos, ciclo ovariano do tipo menstrual e sistemas poligâmicos de acasalamento, como os gorilas (*Gorilla gorilla*). Entre estes dois extremos encontramos espécies que vivem em sistemas monogâmicos estáveis, com ciclos ovarianos do tipo estral, porém acasalando em qualquer fase do ciclo, como o sagüi-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*) (Hearn, 1977, Dixon, 1993).

Podemos dividir os membros desta ordem em dois grandes grupos: O dos Primatas do Velho Mundo (PVM) e dos Primatas do Novo Mundo (PNM). No grupo PVM, encontramos inúmeras espécies como os

¹Palestra apresentada no XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 31 de maio a 2 de junho de 2007, Curitiba/PR.

lêmures (*Lemur catta*), babuínos (*Papio cinocephalus*), gorilas (*Gorilla gorilla*), chimpanzés (*Pan trglodytes*), bonobos (*Pan paniscus*), orangotangos (*Pongo pygmaeus*), ocorrendo na África e na Ásia. O grupo PNM é composto de espécies que ocorrem no continente americano, como o sagüi-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*), sagüi-de-topete (*Saguinus oedipus*), mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*), macaco-prego (*Cebus apella*) e macaco-aranha (*Ateles sp*) (Novak, 1993).

Estas espécies apresentam particularidades que demonstram a grande adaptabilidade dos primatas aos mais diversos ambientes e situações, respondendo a estes desafios da evolução com múltiplos sistemas de acasalamento, diferentes tipos de ciclos ovarianos, mecanismos de controle populacional e hábitos sociais complexos.

Desde que a teoria da seleção natural foi apresentada (Darwin, 1871), ficou claro que existia uma pressão seletiva influenciando o comportamento e o fenótipo de inúmeras espécies. Somente no início dos anos 70 deu-se um passo adiante na compreensão das teorias darwinianas. Parker (1970), trabalhando com insetos, percebeu que a competição sexual em busca do sucesso reprodutivo não terminava com a obtenção da cópula. Em sistemas de acasalamento onde a fêmea copulava com mais de um macho, durante um mesmo ciclo fértil, a competição prosseguia no interior do trato reprodutivo desta, havendo mistura de sêmen com conseqüente competição espermática. Este fenômeno poderia explicar, pelo menos em parte, a existência de múltiplas estratégias evolutivas para vencer esta competição, selecionando características desejáveis para estas situações, como por exemplo, o maior volume testicular com maior produção de espermatozoides, encontrado em espécies onde esta competição espermática é muito intensa e o inverso naquelas onde a competição quase não existia. Outras características, estas comportamentais, poderiam ser o maior número de cópulas durante o ciclo fértil, ou até mesmo o comportamento de “guardar a fêmea” até que o ciclo fértil terminasse.

Considerando os aspectos acima mencionados, poderemos agora abordar de forma mais clara, alguns aspectos fenotípicos, endócrinos e comportamentais dos primatas não-humanos. Os mecanismos de seleção sexual induziram o surgimento de sistemas de acasalamento monogâmicos, poligâmicos (poligínicos e poliândricos), dispersos e os chamados multi-machos/multi-fêmeas. Em cada um destes sistemas existem diferentes intensidades de competição espermática, fazendo com que características comportamentais, endócrinas e fenotípicas diferentes fossem selecionadas. Desta forma, podemos dizer que naqueles sistemas onde a competição espermática é muito intensa (poliândrico, disperso, multi-macho/multi-fêmea), os animais desenvolveram diferentes características para aumentar suas chances de sucesso reprodutivo. Como exemplo podemos citar o maior índice gonadosomático testicular apresentado pelos chimpanzés, que possuem sistema de acasalamento multi-macho/multi-fêmea, quando comparados com gorilas, que apesar do maior porte físico, apresentam baixo índice gonadosomático testicular e se reproduzem em sistemas poligínicos, portanto com baixa intensidade de competição espermática. Esta relação entre volume testicular e o tamanho do animal, reflete a necessidade de uma maior ou menor produção de espermatozoides, para enfrentar a competição com outros machos. Da mesma forma, a capacidade de copular e se reproduzir em qualquer época do ano também representaram um ganho evolutivo importante para aquelas espécies que passavam a depender menos do meio ambiente para a sua regulação reprodutiva. O próprio ciclo ovariano varia marcadamente entre os primatas. PVM apresentam na sua maioria, ciclos ovarianos do tipo menstrual, semelhante ao descrito na mulher, com ovulações espontâneas e comportamento de cópula ocorrendo em qualquer fase do ciclo e em qualquer época do ano. Em algumas destas espécies, as cópulas são instrumentalizadas como ferramentas de dominância, organização social, alianças entre indivíduos e até mesmo como prestação de serviços em troca de benefícios (De Waal, 1989). Como exceções, encontramos os lêmures de Madagascar, que apresentam ciclo estral semelhante ao descrito para carnívoros, copulando somente em determinadas estações do ano, quando as fêmeas adultas apresentam maior atratividade, proceptividade e especialmente, receptividade (Dixon, 1998). Nos PNM encontramos tanto ciclos ovarianos do tipo menstrual, como no macaco-prego, quanto ciclos estrais, como nos sagüis, porém estes últimos podendo copular em qualquer fase do ciclo e inclusive podendo realizar cópulas férteis no período pós-parto e durante a lactação (Hearn, 1977; Dixon, 1993). Da mesma forma, encontramos entre espécies de PNM (calitriquídeos), a supressão social da reprodução, onde aspectos sociais regulam os mecanismos endócrinos, promovendo inibição da ciclicidade ovariana de fêmeas subordinadas, pela presença de fêmeas dominantes, mais velhas (Abbott, 1993).

Tanto no grupo PVM quanto no PNM, encontramos espécies ameaçadas de extinção, principalmente devido à destruição e fragmentação do ambiente natural e à exploração comercial de muitas delas. Sendo estes os principais fatores afetando as populações de primatas, aliados ao baixo desempenho reprodutivo em cativeiro de algumas espécies, torna-se urgente que sejam desenvolvidas técnicas de reprodução assistida, assim como a melhoria da qualidade dos cativeiros, na tentativa de retardar esse processo que, infelizmente, muitas vezes parece ser inexorável. O conhecimento e a compreensão das múltiplas características comportamentais e endócrino-reprodutivas dos primatas são essenciais para que possamos desenvolver e implementar os cativeiros de forma a melhorar a qualidade de vida destes animais, assim como, aplicar com sucesso técnicas de reprodução assistida como a inseminação artificial (IA), a fertilização “in vitro” (FIV), a transferência de embriões (TE) e

mesmo a clonagem, em casos específicos.

Os métodos tradicionais dos estudos endócrinos, invariavelmente envolvem colheitas seriadas de sangue para a mensuração de hormônios. No entanto, o uso destas metodologias é muitas vezes inexecutável em espécies silvestres, como os primatas, por promoverem intensas respostas do tipo estresse em decorrência tanto das colheitas em si, quanto pelas contenções físicas necessárias aos procedimentos.

Com a intenção de desenvolver ferramentas de pesquisa que pudessem ser utilizadas em animais silvestres, e que reduzisse ao máximo o estresse das colheitas, inúmeros autores desenvolveram técnicas de monitoração não invasiva da função endócrina, mensurando metabólitos fecais e urinários de hormônios esteróides sexuais ou de gonadotrofinas (Bonney *et al.*, 1979; Hodges *et al.*, 1979; Czekala *et al.*, 1981; McArthur *et al.*, 1981; Carlstead *et al.*, 1992; French *et al.*, 1992; Jurke *et al.*, 1994; Pryce *et al.*, 1994; Heistermann e Hodges, 1995; Kuederling *et al.*, 1995; Pryce *et al.*, 1995; Strier e Ziegler, 1997; Whitten *et al.*, 1998; Ziegler *et al.*, 1989, 1993, 1996, 1997; Möhle *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2003). Isto permitiu que fossem analisados aspectos comportamentais, suas relações com os hormônios e o ambiente de cativeiro e sua influência no desempenho reprodutivo (Kendrick e Dixon, 1983; Carlstead e Shepherdson, 1994; Bellen *et al.*, 1995; Brockman *et al.*, 1995; Whitten, 1997; Whitten *et al.*, 1998; Boinski *et al.*, 1999; Peel *et al.*, 2005).

A aplicação de biotécnicas reprodutivas para melhorar o desempenho reprodutivo de espécies de primatas, assim como para garantir a diversidade genética populacional, reveste-se de grande importância e pressupõe o conhecimento de aspectos básicos da anatomia e da fisiologia das espécies. Por razões filogenéticas, os primatas não-humanos freqüentemente são utilizados como modelos biológicos para a pesquisa da reprodução humana, o que promoveu e promove uma soma de esforços das áreas médica e médica veterinária. Este aspecto permitiu um rápido avanço na aplicação de biotécnicas da reprodução em algumas espécies de primatas não-humanos, tanto do Velho Mundo quanto do Novo Mundo, sendo que existe uma preponderância de trabalhos com o primeiro grupo. O desenvolvimento de técnicas de colheita, avaliação e criopreservação de sêmen, foi um dos primeiros passos na direção da manipulação reprodutiva dos primatas (Lang, 1967; Bush *et al.*, 1975; Gould *et al.*, 1978; Gould *et al.*, 1985; Gould e Styperek, 1989; Gould e Young, 1996; Kuederling *et al.*, 1996; Morrel *et al.*, 1996; Morrel, 1997; Morrel *et al.*, 1997; Yoman *et al.*, 1997; Morrel e Hodges, 1998; Morrel *et al.*, 1998; Kuederling *et al.*, 2000; Barnabé *et al.*, 2002; Guimarães *et al.*, 2002; Schneiders *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2005).

Os passos seguintes foram dados e o conhecimento de detalhes dos processos de foliculogênese e ovulação (Abbott *et al.*, 1988), o sucesso na fertilização “in vitro” e transferência de embriões (Moore, 1981; Gould, 1983; Bavister, 1987; Lopata *et al.*, 1988; Huntress *et al.*, 1989; Wolf *et al.*, 1989; Dukelow *et al.*, 1990; Gilchrist *et al.*, 1997) possibilitou enormes avanços na reprodução dos primatas.

Os avanços alcançados e os sucessos obtidos, além de colaborarem para a conservação das espécies, também produziram preciosas informações que são de grande importância para a reprodução humana.

Referências

- Abbott DH.** Social conflict and reproductive suppression in marmoset and tamarin monkeys. In: Mason, W.A. (ed), Primate Social Conflict. New York: State University of New York Press, 1993. p.331-372.
- Abbott DH, Hodges JK, George LM.** Social status control LH secretion and ovulation in female marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*). *J Endocrinol*, v.117, p.329-339, 1988.
- Barnabé RC, Guimarães MABV, Oliveira CA, Barnabé AH.** Analysis of some normal parameters of the spermogram of captive capuchin monkeys (*Cebus apella* Linnaeus, 1758). *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.39, p.331-333, 2002.
- Bavister BD.** Oocyte maturation and in vitro fertilization in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Fertility & Sterility*, v.50, p.503, 1987.
- Bellen AC, Monfort SL, Goodrowe KL.** Monitoring reproductive development, menstrual cyclicity, and pregnancy in the lowland gorilla (*Gorilla gorilla*) by enzyme immunoassay. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 26, p.24-31, 1995.
- Bonney RC, Dixon AF, Fleming D.** Cycle changes in the circulating and urinary levels of ovarian steroids in the adult female owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *J Reprod Fertil*, v.56, p.271-280, 1979.
- Boinsky S, Swing SP, Gross TS, Davis JK.** Environmental enrichment of brown capuchins (*Cebus apella*): behavioral and plasma and fecal cortisol measures of effectiveness. *Am J Primatol*, v.48, p.49-68, 1999.
- Brockman DK, Whitten PL, Russel E, Richard AF, Izard MK.** Application of fecal steroid techniques to the reproductive endocrinology of female Verreaux's sifakas (*Propithecus verreauxi*). *Am J Primatol*, v.36, p.313-325, 1995.
- Bush DE, Russel LH, Flowers AI, Sorensen AM.** Semen evaluation in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Lab Anim Sci*, v.25, p.588-593, 1975.
- Carlstead K, Brown JL, Monfort SL, Killens R, Wildt DE.** Urinary monitoring of adrenal responses to

- psychological stressors in domestic and nondomestic felids. *Zoo Biology*, v.11, p.165-176, 1992.
- Carlstead K, Shepherdson D.** Effects of environmental enrichment on reproduction. *Zoo Biology*, v.13, p.447-458, 1994.
- Czekala NM, Hodges JK, Lasley BL.** Pregnancy monitoring in diverse primate species by estrogen and bioactive luteinizing hormone determinations in small volumes of urine. *J Med Primatol*, v.10, p.1-15, 1981.
- Darwin C.** *The descent of man, and selection in relation to sex*. London: John Murray, 1871.
- De Waal F.** Bonobos. In: De Waal F (Ed.). *Peacemaking among primates*. Cambridge: Harvard University Press, 1989. p.171-227.
- Dixon AF.** Callitrichid mating systems: laboratory and field approaches to studies of monogamy and polyandry. In: Rylands AB (Ed.). *Marmosets and tamarins: systematics, behaviour and ecology*. Oxford: Oxford University Press, 1993. p.164-175.
- Dixon AF.** The ovarian cycle and sexual behaviour. In: Dixon AF (Ed.) *Primate sexuality: comparative studies of the prosimians, monkeys, apes, and human beings*. Oxford: Oxford University Press, 1998. p.315-355.
- Dukelow WR, Pierce DL, Roudebush WE, Jarosz SJ, Sengoku K.** In vitro fertilization in nonhuman primates. *J Med Primatol*, v.19, p.627-639, 1990.
- French JA, Degraw WA, Hendricks SE, Wegner F, Brisdon WE.** Urinary and plasma gonadotropin concentrations in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia rosalia*). *Am J Primatol*, v.26, p.53-59, 1992.
- Gilchrist RB, Nayudu PL, Hodges JK.** The maturation, fertilization and development of marmoset monkey oocytes in vitro. *Biol Reprod*, v.56, p.238-246, 1997.
- Guimarães MABV, Oliveira CA, Barnabé AH, Barnabé RC.** Morphometry of the spermatozoa from Capuchin Monkeys (*Cebus apella*). *Rev Bras Reprod Anim*, v.26, p.88-90, 2002.
- Gould KG.** Ovum recovery and in vitro fertilization in the chimpanzee. *Fertil Steril*, v.40, p.378, 1983.
- Gould KG, Martin DE, Warner H.** Improved method for artificial insemination in the Great Apes. *Am J Primatol*, v.8, p.61-67, 1985.
- Gould KG, Styperek RP.** Improved methods for freeze preservation of chimpanzee sperm. *Am J Primatol*, v.18, p.275-284, 1989.
- Gould KG, Warner H, Martin DE.** Rectal probe electroejaculation. *J Med Primatol*, v.7, p.213-222, 1978.
- Gould KG, Young LG.** Functional parameters of chimpanzee (*Pan troglodytes*) sperm from ejaculates collected by rectal probe electrostimulation and by artificial vagina. *Am J Primatol*, v.39, p.115-122, 1996.
- Hearn JP.** The endocrinology of reproduction in the Common Marmoset, *Callithrix jacchus*. In: Kleiman DG (Ed.). *The biology and conservation of the Callitrichidae*. Washington: Smithsonian Institution Press, 1977. p.163-171.
- Heistermann M, Hodges JK.** Endocrine monitoring of the ovarian cycle and pregnancy in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) by measurement of steroid conjugates in urine. *Am J Primatol*, v.35, p.117-127, 1995.
- Hodges JK, Czekala NM, Lasley BL.** Estrogen and luteinizing hormone secretion in diverse primate species from simplified urinary analysis. *J Med Primatol*, v.8, p.349-364, 1979.
- Huntress SL, Loskutoff NM, Raphael BL, Bowsher TR, Putman JM, Kraemer DC.** Pronucleus formation following in vitro fertilization of oocytes recovered from a gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) with unilateral endometrioid adenocarcinoma of the ovary. *Am J Primatol*, v.18, p.259, 1989.
- Jurke MH, Pryce CR, Döbeli M, Martin RD.** Non-invasive detection and monitoring of pregnancy and the post-partum period in Goeldi's monkey (*Callimico goeldii*) using urinary pregnanediol-3 α -glucuronide. *Am J Primatol*, v.34, p.319-331, 1994.
- Kendrick KM, Dixon AF.** The effect of ovarian cycle on the sexual behaviour of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Physiol Behav*, v.30, p.735-742, 1983.
- Kuederling I, Evans CS, Abbott DH, Pryce CR, Eppler G.** Differential excretion of urinary oestrogen by breeding females and daughters in the red-bellied tamarin (*Saguinus labiatus*). *Folia Primatol*, v.64, p.140-145, 1995.
- Kuederling I, Morrel JM, Nayudu PL.** Collection of semen from marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) for experimental use by vaginal washing. *Lab Anim*, v.30, p.260-266, 1996.
- Kuederling I, Schneiders A, Sonksen J, Nayudu PL, Hodges JK.** Non-invasive collection of ejaculates from the common marmoset (*Callithrix jacchus*) using penile vibrostimulation. *Am J Primatol*, v.52, p.149-154, 2000.
- Lang CM.** A technique for the collection of semen from squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) by electro-ejaculation. *Lab Anim Care*, v.17, p.218-221, 1967.
- Li YH, Cai KJ, Kovacs A, Ji WZ.** Effects of various extenders and permeating cryoprotectants on cryopreservation of Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*) spermatozoa. *J Androl*, v.26, n.3, p.387-395, 2005.
- Lopata A, Summers PM, Hearn JP.** Births following the transfer of cultured embryos obtained by in vitro and in vivo fertilization in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Fertil Steril*, v.50, p.503, 1988.

- McArthur JW, Beitins IZ, Gorman A, Collins DC, Preedy JRK, Graham CE. The interrelationships between sex skin swelling and the urinary excretion of gonadotropins, estrone and pregnanediol by the cycling female chimpanzee. *Am J Primatol*, v.1, p.265-276, 1981.
- Möhle U, Heistermann M, Palme R, Hodges JK. Characterization of urinary and fecal metabolites of testosterone and their measurement for assessing gonadal endocrine function in male nonhuman primates. *General and Comparative Endocrinology*, v.129, p.135-145, 2002.
- Moore HDM. An assessment of the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *International Journal of Andrology*, v.4, n.3, p.321-330, 1981.
- Morrel JM. Cryopreservation of marmoset sperm (*Callithrix jacchus*). *Cryoletters*, v. 18, p.45-54, 1997.
- Morrel JM, Hodges JK. Cryopreservation of non-human primates sperm: priorities for future research. *Rev Anim Reprod Sci*, v.53, p.43-63, 1998.
- Morrel JM, Kuederling I, Hodges JK. Influence of semen collection method on ejaculate characteristics in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. *J Androl*, v.17, p.164-172, 1996.
- Morrel JM, Nowshari M, Rosenbusch J, Nayudu PL, Hodges JK. Birth of offspring following artificial insemination in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. *Am J Primatol*, v.41, p.37-43, 1997.
- Morrel JM, Nubbemeyer R, Heistermann M, Rosenbusch J, Kuederling I, Holt W, Hodges JK. Artificial insemination in *Callithrix jacchus* using fresh or cryopreserved sperm. *Anim Reprod Sci*, v.52, p.165-174, 1998.
- Nowak RM. Order Primates. In: Nowak RM (Ed.). *Walker's mammals of the world*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1993. p.400-514.
- Parker GA. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol Rev*, v.45, p.525-567, 1970.
- Peel AJ, Vogelnest L, Finnigan M, Grossfeldt L, O'Brien JK. Non-invasive fecal hormone analysis and behavioral observations for monitoring stress responses in captive western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). *Zoo Biol*, v.24, p.431-445, 2005.
- Pryce CR, Schwarzenberger F, Döbeli M. Monitoring fecal samples for estrogen excretion across the ovarian cycle in Goeldi's monkey (*Callimico goeldii*). *Zoo Biol*, v.13, p.219-230, 1994.
- Pryce CR, Schwarzenberger F, Döbeli M, Etter K. Comparative study of oestrogen excretion in female new world monkeys: An overview of non-invasive ovarian monitoring and a new application in evolutionary biology. *Fol Primatol*, v.64, p.107-123, 1995.
- Schneiders A, Sonksen J, Hodges JK. Penile vibratory stimulation in the marmoset monkey: a practical alternative to electro-ejaculation, yielding ejaculates of enhanced quality. *J Med Primatol*, v.33, p. 98-104, 2004.
- Shimizu K, Douke C, Fujita S, Matsuzawa T, Tomonaga M, Tanaka M, Matsubayashi K, Hayashi M. Urinary steroids, FSH and CG measurements for monitoring the ovarian cycle and pregnancy in the chimpanzee. *J Med Primatol*, v.32, p.15-22, 2003.
- Strier KB, Ziegler TE. Behavioral and endocrine characteristics of the reproductive cycle in wild muriqui monkeys (*Brachyteles arachnoides*). *Am J Primatol*, v.42, n.4, p.299-310, 1997.
- Whitten PL. Non-invasive methods for the study of stress, reproductive function, and aggression. *American J Phys Anthropol*, v.24, p.239, 1997.
- Whitten PL, Stavisky R, Aureli F, Russel E. Response of fecal cortisol to stress in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Am J Primatol*, v.44, p.57-69, 1998.
- Wolf DP, Vande Voort CA, Meyer-Haas GR, Zelinski-Wooten MB, Hess DL, Baughman WL, Stouffer RL. In vitro fertilization and embryo transfer in the rhesus monkey. *Biol Reprod*, v.41, p.335, 1989.
- Yoman RR, Ricker RB, Williams LE, Sonksen J, Abee CR. Vibrostimulation of ejaculation yields increased motile spermatozoa compared with electro-ejaculation in squirrel monkeys (*Saimiri boliviensis*). *Contemporary Top Lab Anim Sci*, v.36, p.62-64, 1997.
- Ziegler TE, Matteri RL, Wegner FH. Detection of urinary gonadotropins in callitrichid monkeys with a sensitive immunoassay based upon a unique monoclonal antibody. *Am J Primatol*, v.31, p.181-188, 1993.
- Ziegler TE, Santos CV, Pissinati A, Strier KB. Steroid excretion during the ovarian cycle in captive and wild muriqui (*Brachyteles arachnoides*). *Am J Primatol*, v.42, p.311-321, 1997.
- Ziegler TE, Scheffler G, Wittwer DJ, Schultz-Darken N, Snowdon CT, Abbott DH. Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of Callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biol Reprod*, v.54, p.91-99, 1996.
- Ziegler TE, Sholl SA, Scheffler G, Haggerty MA, Lasley BL. Excretion of estrone, estradiol and progesterone in the urine and feces of the female cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*). *Am J Primatol*, v.17, p.185-195, 1989.