

FLÁVIA REGINA BUENO

**ANÁLISE FILOGENÉTICA COMPORTAMENTAL: O caso
dos mustelídeos**

ASSIS

2014

FLÁVIA REGINA BUENO

**ANÁLISE FILOGENÉTICA COMPORTAMENTAL: O caso
dos mustelídeos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Orientador: Prof. Dr. Carlos C. Alberts

ASSIS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto Educacional de Assis – I E D A

B928a Bueno, Flávia Regina
Análise filogenética comportamental: o caso dos mustelídeos /
Flávia Regina Bueno. Assis, 2014
69 f. il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de
Assis – Universidade Estadual Paulista.
Orientador: Dr. Carlos C. Alberts

1. Ordem Carnívora. 2. Filogenia. 3. *Citocromo b*. 4. Caníforme.
5. Autolimpeza. I. Título.

CDD 599.744 47

FLÁVIA REGINA BUENO

ANÁLISE FILOGENÉTICA COMPORTAMENTAL: O caso
dos mustelídeos

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências e Letras – UNESP para a
obtenção do título de Mestra em
BIOCIÊNCIAS (Área de Conhecimento:
Caracterização e Aplicação da
Diversidade Biológica)

Data da Aprovação: 01/08/2014

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: PROF. DR. CARLOS CAMARGO ALBERTS - UNESP/Assis



Membros: PROF. DR. SÉRGIO NASCIMENTO STAMPAR - UNESP/Assis



PROF. DR. GELSON GENARO - USP/Ribeirão Preto



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Alberts, pela dedicação, amizade e ensinamentos durante o Mestrado, e, sobretudo pela confiança no meu trabalho.

Aos docentes Prof. Dr. Sérgio Nascimento Stampar e Profa. Dra. Renata Giassi Udulutsch pela participação em minha banca de qualificação. Suas sugestões foram muito importantes para o desenvolvimento de minha Dissertação. Agradeço também ao professor Sérgio por toda a ajuda com as análises moleculares, bem como sua participação na minha banca de defesa.

Agradeço ao Prof. Dr. Gelson Genaro por ter aceitado participar da minha banca de defesa. Seus comentários e sugestões foram muito valiosos.

Meus sinceros agradecimentos a todos os funcionários, sem nenhuma exceção, das instituições que visitei (não irei colocar nomes por medo de me esquecer de alguém)...obrigada por terem me recebido tão bem! Todos os biólogos, veterinários, tratadores e demais funcionários contribuíram de alguma forma para que as filmagens dos animais pudessem ser realizadas; seja conseguindo algum equipamento, me explicando sobre a rotina e comportamento dos animais, me ajudando a conseguir lugar nos alojamentos, ou até mesmo por todas as conversas descontraídas que tivemos. Aprendi muito com todos.

Agradeço aos meus pais, Lourdes e Jurandir, e demais familiares pelos diferentes tipos de apoio e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu primo, João, que me acolheu tão bem em sua casa durante minha ida ao Rio de Janeiro.

À minha grande amiga Héllen, companheira de longa data, por toda a amizade e por sempre me apoiar e torcer por mim.

Aos colegas do programa de pós-graduação, em especial a Jonathan, Érika, Yara e Vanessa, com os quais desenvolvi uma amizade sincera (dessas que não se encontram em qualquer lugar, rs)...obrigada por todo companheirismo, dedicação, ajuda nos momentos difíceis, e é claro que por todas as risadas que demos juntos!

À minha querida amiga Mariana, que foi a primeira pessoa que conheci e fiz amizade em Assis. Obrigada por tudo, por sempre me ouvir e compartilhar comigo as alegrias, frustrações e experiências com nossos gatos. Espero que nossa amizade perdure por muitos anos.

À minha amiga Iara, que faz nossas aulas de inglês ficarem mais divertidas! Obrigada por toda a amizade e por compartilhar comigo o amor pelos gatinhos.

A todos os professores e demais funcionários do programa de pós-graduação em Biociências da UNESP de Assis pelo aprendizado e dedicação.

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação da UNESP (PROPG) pelo auxílio financeiro concedido para as viagens de campo.

A todos os animais que filmei durante a pesquisa. Desenvolvi um carinho especial por todos eles!

Muito obrigada.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas”. (Carl Sagan)

BUENO, Flávia Regina. **Análise Filogenética Comportamental: O Caso dos Mustelídeos**. 2014. 69f. Dissertação. (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

RESUMO

As relações evolutivas da Ordem Carnivora são extensivamente estudadas e contraditórias, principalmente entre os caniformes. Embora as filogenias baseadas em dados moleculares tenham feito uma contribuição importante, elas também podem ser comparadas a reconstruções usando outros tipos de caracteres, como comportamentais. O comportamento vem conquistando espaço no cenário da biologia evolutiva, e entre os comportamentos exibidos pelos animais, a autolimpeza se apresenta como uma boa fonte de caracteres filogenéticos. Este estudo teve como objetivo reconstruir uma filogenia das principais Famílias de carnívoros caniformes usando o comportamento de autolimpeza como caractere. Foi criada uma reconstrução filogenética por meio de caracteres moleculares como forma de comparação e evidência adicional. Nas análises comportamentais, excetuando-se os representantes dos grupos externos, uma grande politomia é o resultado para os demais terminais analisados. Os terminais dentro dessa politomia, no entanto, apresentam algumas relações interessantes e com grande sustentação em verificações de *bootstrap* e *jackknife*. Os resultados com dados moleculares, nos quais foram empregados setores específicos do gene *citocromo b* mostraram uma filogenia clássica da Subordem, exceto no que diz respeito à posição do representante da Família Canidae, mas com baixo suporte em verificação *bootstrap* em alguns ramos, exceto no que diz respeito à posição do representante da Família

Canidae. A rápida radiação adaptativa, bem como especiação recente e grande diversidade ecológica dos grupos do estudo representam dificuldades ao se tentar estabelecer o exato relacionamento entre as espécies, independente dos dados biológicos utilizados para reconstrução filogenética.

Palavras-chaves: Carnivora, filogenia, comportamento, autolimpeza, *citocromo b*.

BUENO, Flávia Regina. **Behavioral phylogenetic analyses: The Case of Mustelids**. 2014. 69p. Dissertation. (Master's degree in Biosciences). – Languages and Sciences College, São Paulo State University (UNESP), Assis, 2014.

ABSTRACT

The evolutionary relationships inside the Order Carnivora are extensively studied and sometimes contradictory, especially among caniforms. Although phylogenies based on molecular data have made a significant contribution, they can also be compared to reconstructions using other types of characters, such as the behavioral ones. Behavior has aided space on the current state of evolutionary biology, and among the various possible behaviors exhibited by animals, grooming is a very good source of phylogenetic characters. Grooming has stereotyped patterns and it has been shown that differences in patterns of grooming are observable between closely related species, which makes it a good source of phylogenetic characters. Thus this study aimed to reconstruct a phylogeny of the major families of caniforms carnivores using the grooming behavior as character. A molecular phylogenetic reconstruction was created for comparison and also as further evidence. In the behavioral reconstruction, except for the representatives of the external groups, it resulted a large polytomy. Terminals within this polytomy, however, present some interesting and highly *bootstrap* and jackknife supported associations. The results with molecular data, in which specific sectors of the *cytochrome b* gene were employed, showed a classical phylogeny of the suborder, except for the position of the Canidae's representative, but with low *bootstrap* support in most branches. Rapid adaptive radiation, recent speciation and great ecological

diversity of the studied group turn difficult to establish the exact relationship between the terminals, independent of the biological data used.

Keywords: Carnivora, phylogeny, behavior, grooming, *cytochrome b*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS.....	21
3. REFERÊNCIAS.....	27
4. CAPÍTULO 1: ARTIGO: Estudo Filogenético de espécies selecionadas de Caniformia.....	31
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	66
ANEXO A: Regras de Publicação da revista <i>Cladistics</i>	68

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os Carnivora representam uma ordem de animais com tamanho médio a grande dentro dos Mammalia. É evidente o apelo carismático de muitos de seus membros, bem como a grande variedade fisiológica e comportamental existente entre eles (DALERUM, 2007).

A base da radiação dos carnívoros ocorreu logo após o limite Cretáceo-Paleogeno, há cerca de 65 milhões de anos, sendo que os registros fósseis remontam, pelo menos, a 60 milhões de anos e documentam uma longa história de radiação adaptativa e evolução entre clados distintos. Também por incluir espécies tanto terrestres quanto aquáticas, Carnivora é uma das poucas ordens de mamíferos que vivem naturalmente em todos os continentes e em habitats que vão desde desertos a florestas, do oceano ao alto das cordilheiras, do Ártico à Antártica, fato este que expressa sua grande diversidade ecológica (NYAKATURA & BININDA-EMONDS, 2012; VALKENBURGH et al., 2004; VALKENBURGH, 2007).

Após terem aparecido pela primeira vez no Paleoceno, os carnívoros divergiram em dois ramos monofiléticos principais, Caniformia e Feliformia, os quais são compostos atualmente por cerca de 280 espécies distribuídas em pouco mais de 10 famílias, incluindo muitos dos maiores predadores terrestres da Terra (como leões, tigres e lobos), animais de estimação (cães e gatos) e animais selvagens icônicos (como os ursos) (AGNARSSON et al., 2010; FLYNN et al., 1998; YU et al., 2011). Além disso, mais de 355 gêneros fósseis foram identificados, alguns dos quais pertencem a Famílias extintas (McKENNA & BELL, 1997).

As relações evolutivas da ordem Carnivora têm sido extensivamente estudadas. No entanto, os estudos filogenéticos com base em diferentes tipos de caracteres, assim como as amostras de espécies e métodos de análise utilizados têm

fornecido resultados contraditórios. Conseqüentemente, durante as últimas décadas de trabalho, os estudos sobre a reconstrução filogenética dos carnívoros produziram grande diversidade de conclusões e as relações evolutivas entre eles permanecem controversas (DELISLE & STROBECK, 2005; YU et al., 2011).

Embora dados moleculares tenham amplamente reafirmado as relações filogenéticas obtidas com caracteres fenotípicos, eles também derrubaram alguns agrupamentos tradicionais de longa data e conjuntos de relacionamentos. São particularmente notáveis as mudanças às quais incluem a Família Mephitidae sendo elevada de Mustelidae (DRAGOO, 1993; 1997), *Nandinia* formando o grupo-irmão de todos os carnívoros feliformes remanescentes (FLYNN et al., 2005), *Prionodon* estando mais intimamente relacionado com Felidae do que com Viverridae (GAUBERT & VERON, 2003) e o monofiletismo entre os feloides de Madagascar com a família Viverridae, e Herpestidae com Eupleridae (YODER et al., 2003).

Entre as famílias que compõem os Feliformia, Felidae tem sido o centro de interesse em análises recentes. Afinidades filogenéticas entre as 38 espécies dessa família têm permanecido problemáticas, especialmente dentro da linhagem Pantherinae, o grupo mais recentemente evoluído dos Felidae (YU et al., 2004). Já entre as famílias que constituem os Caniformia, as relações filogenéticas se mostram ainda mais conflitantes.

Caracterizado por considerável variação morfológica, ecológica e comportamental, o grupo monofilético Caniformia inclui as famílias Canidae (cães), Ursidae (ursos), Ailuridae (panda-vermelho), Procyonidae (guaxinins), Mustelidae (doninhas), Mephitidae (cangambás) e pinípedes, isto é, as famílias Odobenidae (morsas), Otariidae (leões-marinhos e lobos-marinhos) e Phocidae (focas), de acordo com Gittleman (1989). O trabalho de Yu et al. (2004) confirmou a visão

dispersões intercontinentais, principalmente originárias da Eurásia, onde os mais antigos restos fósseis da família são encontrados. Considera-se que a grande maioria da diversidade dos mustelídeos das Américas tenha se originado a partir de linhagens que repetidamente se dispersaram da Eurásia, através do estreito de Bering, sendo que atualmente a família apresenta distribuição por todos os continentes (exceto Austrália e Antártida) (BASKIN, 1998; TEDFORD et al., 2004). Por essas razões, tentativas de estabelecer o exato relacionamento entre suas subfamílias com base numa variedade de estudos e conjuntos de dados moleculares têm sido desafiadoras (KOEPLI et al., 2008; YU et al., 2011).

Os mustelídeos são agrupados segundo a perda evolutiva do entalhe carniceiro no quarto pré-molar superior, perda do segundo molar superior e aumento das glândulas odoríferas (BRYANT et al., 1993; MARTIN, 1989; WOZENCRAFT, 1989). O problema com esses caracteres é que eles podem ser associados com um elevado grau de homoplasia (traço não derivado de ancestral comum, mas a partir de convergência, por exemplo). Além disso, Wozencraft (1989) sugeriu que a perda do entalhe sobre o dente carniceiro ocorreu mais do que uma vez, em linhagens independentes de carnívoros, como, por exemplo, em cangambás, historicamente classificados como doninhas na família Mustelidae. Bonaparte, em 1845, foi o primeiro a reconhecer que cangambás eram "diferentes", chamando-os de Mephitina.

Famílias Ailuridae, Mephitidae e Musteloidea

De acordo com vários estudos, tem havido muita polêmica acerca das relações de grupos-irmãos existentes entre as famílias Ailuridae, Mephitidae e Musteloidea, no sentido estrito (FLYNN et al., 2000; 2005; SATO et al. 2006; 2009;

YU et al., 2004, 2008). Resultados contraditórios foram obtidos em análises de genes mitocondriais e nucleares. Estudos de sequências nucleares realizados por Fulton & Strobeck (2006) e Sato et al. (2009) apoiam o agrupamento entre Ailuridae e Musteloidea *stricto sensu*, não reconhecendo Mephitidae, enquanto estudos com genes mitocondriais sugerem uma estreita relação entre Ailuridae e Mephitidae ou entre Musteloidea *stricto sensu* e Mephitidae, dependendo dos taxa e métodos analíticos utilizados. Análises concatenadas de genes mitocondriais e nucleares suportam cada uma das três análises (ARNASON et al., 2007; DELISLE & STROBECK, 2005; YONEZAWA et al., 2007).

Pinípedes

Outra área de pesquisa disputada envolve os representantes aquáticos dos Carnívora, os pinípedes. Esses animais representam um grupo monofilético de carnívoros aquáticos intimamente relacionados com mustelídeos ou ursídeos. As três Famílias monofiléticas, Phocidae, Otariidae e Odobenidae, provavelmente compartilhando o ancestral com os carnívoros arctoideos (BERTA & ADAM, 2001). Mas ainda existe discordância sobre os seus verdadeiros parentes não aquáticos mais próximos dentro dos carnívoros caniformes (FLYNN & NEDBAL, 1998; VRANA et al., 1994; WYSS & FLYNN, 1993).

Um resumo das relações filogenéticas dos Carnívora

O seguinte cladograma esquemático, baseado no trabalho de Flynn et al. (2005), representa as possíveis relações evolutivas dos carnívoros (Figura 2):

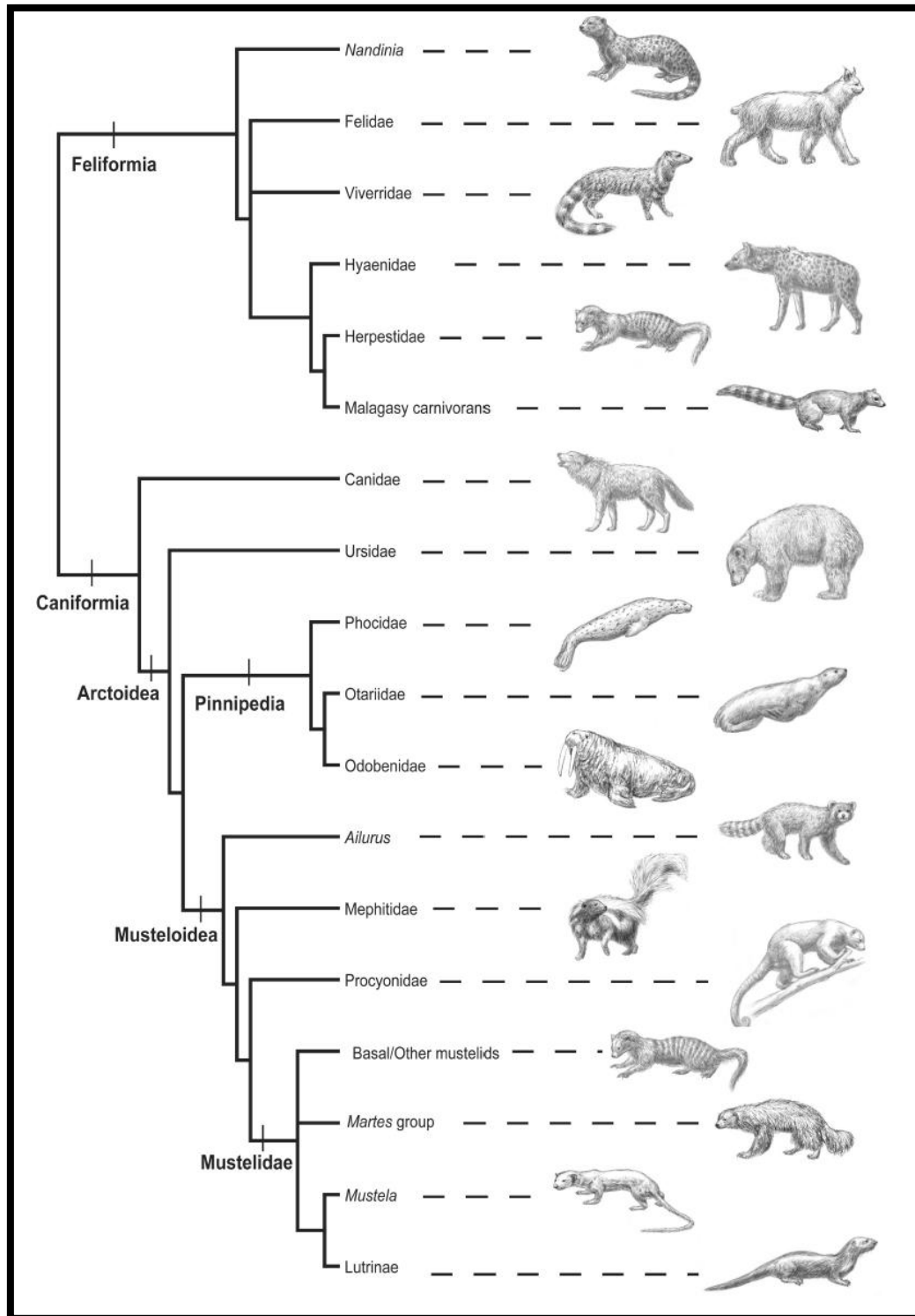


Figura 2: Cladograma esquemático representando as principais relações evolutivas dos carnívoros. As ilustrações dos *taxa* representam as grandes linhagens, que incluem (de cima para baixo): *Nandinia binotata*; Felidae (*Lynx rufus*); Viverridae (*Viverra zibetha*); Hyaenidae (*Crocuta crocuta*); Herpestidae (*Mungos mungo*); Carnívoro de Madagascar (*Eupleres goudotii*); Canidae (*Canis lupus*); Ursidae (*Ursus americanus*); Phocidae (*Phoca vitulina*); Otariidae (*Zalophus californianus*); Odobenidae (*Odobenus rosmarus*); *Ailurus fulgens*; Mephitidae (*Mephitis mephitis*); Procyonidae

(*Potos flavus*); Mustelidae, basais/outros mustelídeos (generalização esquemática representando taxa diversos [doninha africana e marta listrado, texugo, etc]); Mustelidae, *Gulo gulo*; Mustelidae, *Mustela* (*Mustela frenata*); Mustelidae, Lutrinae (*Lontra canadensis*). Adaptado de FLYNN et al., 2005.

Filogenias baseadas em diferentes tipos de dados

Embora as filogenias baseadas em dados moleculares constituam uma contribuição importante, elas também podem e devem ser comparadas a reconstruções usando outros tipos de caracteres, especialmente em casos como o do grupo Caniformia, onde há controvérsias nos estudos.

Somente será possível compreender a história evolutiva de grupos taxonômicos complexos, seja qual for o nível taxonômico, através do emprego de diversas fontes biológicas, tais como morfológicas, moleculares, paleobiológicas, ecológicas e comportamentais (DE PINNA, 1997; SALLES, 1992).

Geralmente, o que está presente, por exemplo, na estrutura morfológica de um animal foi herdado de seus antepassados e, assim, pode servir para estudar sua história evolutiva. Qualquer manifestação do animal em relação ao meio e mediada pelos genes é herdada, seja sua estrutura esquelética, seja a forma de seus cromossomos, seja ainda seu comportamento (WENZEL, 1992).

Estudos comprovam que tanto comportamentos estereotipados como os plásticos e contexto-dependentes podem ser usados em reconstruções filogenéticas, embora seu emprego para este fim tenha sido questionado por ATZ (1970) nos primeiros anos de seu uso, sendo que as restrições quanto ao uso do comportamento em filogenia se dão principalmente no que diz respeito à sua homologia. O motivo alegado pelo pesquisador e por outros estudiosos é que o conceito de homologia não se aplica ao comportamento, porém, diversos trabalhos

mostram como são fixas proporções e posições dos comportamentos em relação a estruturas morfológicas, bem como a sequência de eventos no fluxo comportamental, o que demonstra a aplicabilidade ao comportamento do critério de homologia de posição relativa (DE PINNA, 1997; WENZEL, 1992).

O desenvolvimento posterior dos estudos sobre comportamento animal indica que muitos dos argumentos levantados contra a filogenia comportamental não se sustentam, pois o estabelecimento de homologias é uma tarefa complexa, independentemente do tipo de caráter usado, quer de natureza morfológica, quer molecular ou comportamental. Estudos baseados na homologia de caracteres comportamentais são possíveis, usando-se os critérios para o estabelecimento de homologias (EDWARDS & NAEEM, 1993; PATERSON et al., 1995; WENZEL, 1992). Além disso, podemos dizer que, há poucas décadas, as metodologias etológicas eram ainda menos conhecidas e as dificuldades atuais para uma análise comparativa do comportamento são muito menores. A partir do uso de filmagens, gravações de sons, gravações de imagens em vídeo, até a banalização do uso de computadores, na pesquisa, tornou-se mais fácil enfrentar problemas como variabilidade, continuidade, ontogenia e evanescência do comportamento (JAPYASSÚ et al., 2006).

Desde as primeiras décadas até os anos 80 e 90 do século XX, abundantes pesquisas foram realizadas na tentativa de agrupar o comportamento dentre as possíveis fontes de informação biológica propícias às reconstruções filogenéticas, sendo que estudos empíricos evidenciaram que características comportamentais estereotipadas são tão úteis na reconstrução das relações filogenéticas como traços morfológicos e moleculares (ALBERTS, 1996; DE PINNA, 1997; DE QUEIROZ & WIMBERGER, 1993; LORENZ, 1941; McLENNAN et al., 1988; PATERSON et al.,

1995; PRUM, 1994; SLIKAS, 1998; TIMBERGEN, 1959). Também, de acordo com Wenzel & Noll (2006), caracteres comportamentais podem ser considerados “fósseis de informação” e fornecer a conexão necessária quando há perda de outros níveis de informação.

Dessa maneira, apesar do uso cada vez mais intenso das fontes moleculares para reconstrução filogenética, o comportamento vem conquistando espaço no cenário da biologia evolutiva. Em acréscimo, a partir de técnicas de bioinformática próximas e aquelas usadas em fontes moleculares, é possível propor reconstruções filogenéticas bastante congruentes (JAPYASSÚ et al., 2006).

O comportamento de autolimpeza

Entre os comportamentos exibidos pelos animais, a autolimpeza apresenta padrões estereotipados e relativamente frequentes. A frequência dos surtos de autolimpeza se altera com as condições ambientais, mas as estruturas sequenciais desse comportamento são bastante fixas (JAPYASSÚ et al., 2006).

O fato de as sequências não serem idênticas em todas as espécies, mas apontarem similaridades dentro de um padrão relativamente estereotipado, além de exibirem um dado grau de complexidade e serem herdadas, possibilita o emprego do comportamento de autolimpeza para o estabelecimento de homólogias (MALANGE et al., 2013; WENZEL & NOLL, 2006). Ademais, estudos de isolamento e com esquemas de reforçamento reforçam o caráter herdado do comportamento de autolimpeza (ANNABLE & WEARDEN, 1979; FENTRESS, 1973; SHETTLEWORTH, 1975). Além de ser uma reação do animal aos estímulos endógenos e exógenos, estudos comprovam que as diferenças nos padrões de autolimpeza são consistentes entre espécies próximas, o que a torna uma boa fonte de caracteres filogenéticos

(BUSSAB, 1982; QUADROS, 2002). Japyassú e colaboradores (2006) reconstruíram a filogenia de felinos usando caracteres de autolimpeza, sendo que a única árvore possível obtida por eles demonstra uma forte homologia e estabilidade dos caracteres comportamentais. Malange e colaboradores (2013) estudaram as relações filogenéticas de Rodentia sob uma perspectiva comportamental. Sequências de autolimpeza também foram usadas por Quadros (2002; 2008) para a análise filogenética de aves falconiformes, tendo gerado resultados congruentes com estudos moleculares.

Com base no que foi demonstrado a respeito das controvérsias entre as relações de parentesco dos carnívoros caniformes e o uso de diferentes tipos de caracteres para o estabelecimento de filogenias, os objetivos do presente projeto de pesquisa foram:

- ✓ Reconstruir uma filogenia das principais famílias de carnívoros caniformes usando o comportamento de autolimpeza (todos os comportamentos realizados pelo animal dirigidos ao próprio corpo, mais precisamente, as sequências de autolimpeza) como caractere.

- ✓ Comparar a filogenia comportamental resultante com outra baseada em dados moleculares (sequências do GenBank).

2. MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS

Sujeitos Experimentais

A escolha das espécies estudadas (espécimes machos e fêmeas, adultos) foi feita em função da disponibilidade e do número de indivíduos existentes em exposição. Foram examinadas 10 espécies de carnívoros caniformes, componentes do grupo interno:

Mustelidae: Ariranha, *Pteronura brasiliensis* Gmelin, 1788 (2♀,1♂); Irara, *Eira barbara* Linnaeus, 1758 (4♀,3♂); Furão pequeno, *Galitctis cuja* Molina, 1782 (3♀,1♂) e Texugo-do-mel, *Mellivora capensis* Schreber, 1776 (1♂). **Procyonidae:** Quati, *Nasua nasua* Linnaeus, 1766 (6♀, 4♂). **Otariidae:** Leão-marinho, *Otaria byronia* de Blainville, 1820 (2♀); Lobo-marinho-sul-americano, *Arctocephalus australis* Zimmermann, 1783 (1♂) e Lobo-marinho-do-peito-branco, *Arctocephalus tropicalis* Gray, 1872 (1♂). **Ursidae:** Urso-de-óculos, *Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825 (4♀,5♂). **Mephitidae:** Cangambá, *Conepatus semistriatus* Boddaert, 1785 (1♀). (Figs. 3 a 12):



Fig. 3 Espécime de *P. brasiliensis*



Fig. 4 Espécime de *G. cuja*



Fig. 5 Espécime de *E. barbara*



Fig. 6 Espécime de *M. capensis*



Fig. 7 Espécime de *N. nasua*



Fig. 8 Espécimes de *O. byronia*



Fig. 9 Espécime de *A. australis*

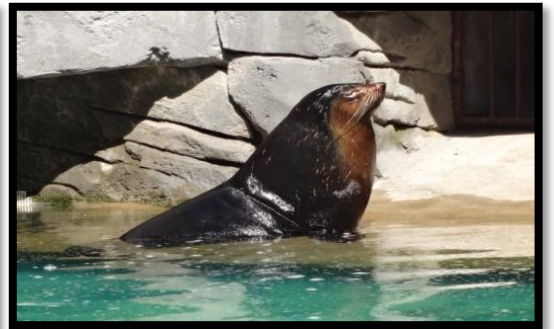


Fig. 10 Espécime de *A. tropicalis*



Fig. 11 Espécime de *T. ornatus*



Fig. 12 Espécime de *C. semistriatus*

O grupo externo foi composto por dois representantes: Lobo-europeu, *Canis lupus* Linnaeus, 1758 (1♀,1♂) e o Gato-doméstico, *Felis silvestris catus* Linnaeus, 1758 (1♀) (Figs. 13 e 14). A escolha destas espécies foi feita em decorrência da proximidade filogenética relativa entre elas e as Famílias de caniformes presentes no estudo, possibilitando melhor comparação entre caracteres homólogos. Esta escolha também se baseia em reconstruções filogenéticas de categorias taxonômicas de nível superior (GITTLEMAN, 1989; FLYNN et al., 2005).



Fig. 13 Espécime de *C. lupus*



Fig. 14 Espécime de *F. silvestris catus*

Alojamento das Espécies

A maioria das espécies foi estudada em Zoológicos (Brasil e Alemanha) e umas das espécies foi estudada em um Aquário (Brasil). Em relação aos Zoológicos, os animais estavam presentes tanto na área de exposição ao público como nos Setores Extras. A espécie de felídeo utilizada como grupo externo teve suas exibições de autolimpeza filmadas em ambiente doméstico.

Procedimento Experimental

As filmagens do comportamento de autolimpeza dos animais foram feitas com câmera filmadora digital Sony Cyber Shot, modelo DSC-WX100. As filmagens de *Mellivora capensis*, ocorridas na Alemanha, foram cedidas pelo pesquisador Carlos C. Alberts (FCL UNESP, Assis/SP - Brasil) e feitas com uso da câmera de telefone celular Nokia, modelo Lumia 620.

A câmera foi colocada sobre um tripé de 150 a 170 cm de altura, quando armado, o que possibilitou movimentos rápidos com a mesma. As coletas de dados foram realizadas durante todos os períodos do dia, sendo que as sessões tiveram o tempo correspondente aos dos surtos de autolimpeza, e a sequência desse comportamento foi identificada nas imagens, de acordo com as 45 categorias que foram descritas posteriormente. As horas de filmagem de cada espécie, assim como os períodos, foram escolhidos de maneira a contemplar um determinado número de eventos, levando-se em consideração os ciclos de atividade e repouso característicos de cada espécie.

Análises dos Dados Comportamentais

As imagens dos comportamentos de autolimpeza, capturadas pelas filmagens, foram observadas em velocidade reduzida através de programas gratuitos para edição de vídeos (Windows Media Player e PlayMemories Home). Simultaneamente às observações das filmagens em uma janela na tela do computador, os comportamentos eram transcritos para o programa computacional EthoLog (OTTONI, 2000), que contribuiu para a decodificação das mesmas. Após a transcrição, o número de eventos comportamentais foi contado e registrado, assim como o tempo real de exibição dos eventos. As sequências obtidas por meio das filmagens e transformadas em códigos mnemônicos foram submetidas à análise do *software* EthoSeq (JAPYASSÚ et al., 2006), programa baseado no algoritmo MRDitree, desenvolvido por Sato (1984), originalmente em linguagem PASCAL. Esse programa analisou as matrizes de transição de primeira ordem, convertendo-as em matrizes de probabilidade condicional. Pela análise destas últimas, foram gerados diagramas em forma de árvores orientadas, permitindo que seja observado como os eventos comportamentais são organizados na sequência e a probabilidade entre os caminhos. Assim, o programa EthoSeq revelou as sequências de autolimpeza e comportamentos de ligação mais prováveis de cada espécie observada.

As sequências comportamentais foram usadas como caracteres filogenéticos para cada espécie observada no estudo e a presença ou ausência de cada caractere (cada sequência), depois da polarização em relação aos grupos externos, gerou uma matriz binária. As análises da matriz binária foram realizadas utilizando-se o programa de análise cladística WinClada versão 1.00.08 (NIXON, 2002), o qual permite cálculos de índice de consistência (CI) e retenção (RI), revelando o grau de

homoplasias e sinapomorfias em um grupo, respectivamente. Foi efetuada busca heurística, com parâmetros RAS + TBR e 10 repetições, para se obter a árvore mais parcimoniosa. O suporte entre os ramos foi estimado pelos cálculos de *bootstrap* (FELSEINSTEIN, 1985) e *jackknife* (FARRIS et al., 1996), com 100 replicações.

Análises dos Dados Moleculares

Análises moleculares foram realizadas como forma de se obter um resultado adicional. Para a análise molecular, foi adotado um determinado setor do marcador mitocondrial *citocromo b*. Para se obter o alinhamento das sequências moleculares e reconstruir uma das filogenias, foram utilizados, respectivamente, os programas MAFFT (*Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences*), versão 7, e PhyML: *new algorithms, methods and utilities*, versão 3.0 (GUINDON et al., 2010), o qual forneceu estimativas de máxima verossimilhança.

Os resultados serão apresentados na forma de artigo, seguindo-se as normas de publicação da revista *Cladistics* (editada por Dennis Stevenson, fator de impacto: 5.043). As regras de publicação se encontram no **ANEXO A**.

Informações mais detalhadas a respeito da Metodologia se encontrarão descritas no artigo.

3. REFERÊNCIAS

- ALBERTS, C. C. **O comportamento de autolimpeza do gato doméstico (*Felis catus*) e uma proposta para usá-lo como caractere filogenético.** 205 f. Tese. Doutorado em Psicologia. Área de Concentração: Psicologia Experimental. Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, 1996.
- ANNABLE, A.; WEARDEN, J. H. **Grooming movements as operantes in therat.** J Exp Anal Behav. v. 32, n. 3, p. 297-304, 1979.
- ARNASON, U.; GULBERG, A.; JANKE, A.; KULLBERG, M. **Mitogenomic analyses of caniform relationships.** Mol Phylog Evol. v. 45, p. 863-874, 2007.
- ATZ, J. W. **The application of the idea of homology to behavior.** In: ARONSON, L. R.; TOBACH, E.; LEHRMAN, D. S.; ROSENBLATT, J. S. (Eds.). Development and evolution of behavior: Essays in honor of T. C. Schneirla San Francisco: Freeman, p. 53-74, 1970.
- BASKIN, J. A. **Mustelidae.** In: Evolution of Tertiary Mammals of North America Volume 1. Edited by: JANIS, C. M.; SCOTT, K. M.; JACOBS, L. L. Cambridge: Cambridge University Press, p. 152-173, 1998.
- BERTA, A.; ADAM, P. **The evolutionary biology of pinnipeds.** In: Secondary Adaptation of Tetrapods to Life in the Water Edited by: de BUFFRENIL V, Mazin J-M. Germany: Verlag Dr. Frederich Pfeil, p. 235-260, 2001.
- BRYANT, H. N.; ANTHONY, P.; RUSSELL, F. L. S.; FITCH, W. D. **Phylogenetic relationships within the extant Mustelidae (Carnivora): appraisal of the cladistic status of the Simpsonian subfamilies.** Zoological Journal of the Linnean Society. v. 108, p. 301-334, 1993.
- BUSSAB, V. S. R. **Organização da autolimpeza corporal em moscas: plasticidade do desenvolvimento.** 294f. Tese de Doutorado não publicada apresentada no Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, 1982.
- DELISLE, I.; STROBECK, C. **A phylogeny of the Caniformia (order Carnivora) based on 12 complete protein-coding mitochondrial genes.** Mol Phylog Evol. v.37, p. 192-201, 2005.
- DE PINNA, M. C. C. Behavioral characters in phylogeny reconstruction. **Anais de Etologia.** v. 15. p. 109-124, 1997.
- DE QUEIROZ, A.; WIMBERGER, P. H. **The usefulness of behavior for phylogeny estimation: Levels of homoplasy in behavioral and morphological characters.** Evol. v. 47, p. 46-60, 1993.

- DRAGOO, J. W. BRADLEY, R. D.; HONEYCUTT, R. L.; TEMPLWTON, J. W. **Phylogenetic relationships among the skunks: a molecular perspective.** *J Mamm Evol.* v. 1, n. 4, p. 255-267, 1993.
- DRAGOO, J. W.; HONEYCUTT, R. L. **Systematics of mustelid-like carnivores.** *J Mammal.* v. 78, p. 426-443, 1997.
- EDWARDS, S. V.; NAEEM, S. **The phylogenetic component of cooperative breeding in perching birds.** *The American Naturalist.* v. 141, n. 5, p. 754-789, 1993.
- FARRIS, J. S.; ALBERT, V. A.; KÄLLERSJÖ, M.; LIPSCOMB, D.; KLUGE, A. G. **Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining.** *Clad.* v. 12, p. 99-124, 1996.
- FELSENSTEIN, J. **Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.** *Evol.* v. 39, p. 783-791, 1985.
- FENTRESS, J. C. **Development of Grooming in Mice with Amputated Forelimbs.** *Science.* v. 179, p. 704-705, 1973.
- FLYNN, J. J.; NEDBAL, M. A. **Phylogeny of the Carnivora (Mammalia): congruence vs incompatibility among multiple data sets.** *Mol Phylog Evol.* v. 9, p. 414-426, 1998.
- FLYNN, J. J.; FINARELLI, J. A.; ZEHR, S.; HSU, J.; NEDBAL, M. A. **Molecular phylogeny of the Carnivora (Mammalia): assessing the impact of increased sampling on resolving enigmatic relationships.** *Syst Biol.* v. 54, p. 317-337, 2005.
- FULTON, T. L.; STROBECK, C. **Molecular phylogeny of the Arctoidea (Carnivora): effect of missing data on supertree and supermatrix analyses of multiple gene data sets.** *Mol Phylog Evol.* v. 41, p. 165-181, 2006.
- GITTLEMAN, J. L. **Carnivore behavior, ecology, and evolution.** Ithaca (NY): Cornell University Press, 1989.
- GUINDON, S.; DUFAYARD, J. F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. **New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0.** *Syst. Biol.* v. 59, n. 3, p. 59, 307-321, 2010.
- JAPYASSÚ, H. F.; ALBERTS, C. C.; IZAR, P.; SATO, T. **EthoSeq: A tool for phylogenetic analysis and data mining in behavioral sequences.** *Behav Resear Meth.* v. 38, n. 4, p. 549-556, 2006.
- KOEPFLI, K. P.; DEERE, K. A.; SLATER, G. J.; BEGG, C.; BEGG, K.; GRASSMAN, L.; LUCHERINI, M; VERON, G.; WAYNE, R. K. **Multigene phylogeny of the Mustelidae: Resolving relationships, tempo and biogeographic history of a mammalian adaptive radiation.** *BMC Biol.* v. 6, n. 10, p. 1-22, 2008.

LORENZ, K. **Vergleichende Bewegungsstudien an Anatinen.** J der Ornithol. v. 89, p. 194-294, 1941.

MALANGE, J.; ALBERTS, C. C.; OLIVEIRA, E. S.; JAPYASSÚ, H. F. **The evolution of behavioral systems: a study of grooming in rodents.** Behavior. v. 150, p. 1-30, 2013.

MARTIN, L. D. **Fossil history of the terrestrial Carnivora in Carnivore behavior, ecology, and evolution (J. L. Gittleman, ed.).** Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY, 1989.

McLENNAN, D. A.; BROOKS, D. R.; McPHAIL, J. D. **The benefits of communication between comparative ethology and phylogenetic systematics: A case study using gasterosteid fishes.** Canad J of Zool. v. 66, p. 2177-2190, 1988.

NIXON, K. C. **WinClada, version 1.00.08.** Publicado pelo autor, Ithaca, New York, USA, 2002.

OTTONI, E. B. **EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions.** Behavior Research Methods Instruments & Computers. v. 32, n. 3, p. 446-449, 2000.

PATERSON, A. M.; WALLIS, G. P.; GRAY, R. D. **Penguins, petrels, and parsimony: Does cladistic analysis of behavior reflect seabird phylogeny?** Evol. v. 49, p. 974-989, 1995.

PRUM, R. O. **Phylogenetic analysis of the evolution of alternative social behavior in the manakins (Aves: Pipridae).** Evol.v. 48, p. 1657-1675, 1994.

QUADROS, A. H. **Filogenia da Família Cathartidae (Aves) baseada em comportamento de autolimpeza.** 175f. Dissertação. Mestrado em Psicologia Experimental. Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, 2002.

QUADROS, A. H. **Filogenia de falconiformes (aves) baseada em comportamento de autolimpeza.** 193f. Tese. Doutorado em Psicologia. Área de Concentração: Psicologia Experimental. Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, 2008.

SALLES, L. O. **Felid phylogenetics: extand taxa and skull morphology (Felidae, Aeluroidea).** American Museum Novitates. 67p, 1992.

SATO, J. J.; WOLSAN, M.; SUZUKY, H.; HOSODA, T.; YAMAGUCHI, Y.; HIYAMA, K.; KOBAYASHI, M.; MINAMI, S. **Evidence from nuclear DNA sequences sheds light on the phylogenetic relationships of Pinnipedia: single origin with affinity to Musteloidea.** Zoolog Sci. v. 23, p. 125-146, 2006.

- SATO J. J.; WOLSAN, M.; MINAMI, S.; HOSODA, T.; SINAGA, M. H.; HIYAMA, K.; YAMAGUCHI, Y.; SUZUKY, H. **Deciphering and dating the red panda's ancestry and early adaptive radiation of Musteloidea**. *Mol Phylog Evol.* v. 53, p. 907-922, 2009.
- SHETTLEWORTH, S. J. **Reinforcement and the organization of behavior in golden hamsters: Hunger, environment, and food reinforcement**. *J of Exp Psyc: Anim Behav Proces.* v. 1, p. 56-87, 1975.
- SLIKAS, B. **Recognizing and testing homology of courtship display sin storks (Aves: Ciconiiformes: Ciconiidae)**. *Evol.* v. 52, p. 884-893, 1998.
- TIMBERGEN, N. **Comparative studies of behavior of gulls (Laridae): a progress report**. *Behav.* v. 15, p. 1-70, 1959.
- VRANA, P. B.; MILINKOVITCH, M. C.; POWELL, J. R.; WHEELER, W. C. **Higher level relationships of the arctoid Carnivora based on sequence data and total evidence**. *Mol Phylog Evol.* v. 3, p. 47-58, 1994.
- WENZEL, J. W. **Behavioral homology and phylogeny**. *Ann Rev of Ecol System.* v. 23, p. 361-381, 1992.
- WENZEL, J. W.; NOLL, F. B. **Dados comportamentais na era genômica. Revista de Etologia.** v. 8, n. 1, p. 63-69, 2006.
- WOZENCRAFT, W. C. **The phylogeny of the Recent Carnivora**. *Carnivore behavior, ecology, and evolution* (J. L. Gittleman, ed.). Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY. p. 495-535, 1989.
- WYSS, A. R.; FLYNN, J. J. **A phylogenetic anaysis and definition of the carnivora**. In: SZALAY, F. S.; NOVACEK, M.; MCKENNA, M. (Eds.), *Mammal Phylogeny*. Springer-Verlag, NY. p. 32-52, 1993.
- YONEZAWA, T.; NIKAIDO, M.; KOHNO, N.; FUKUMOTO, Y.; OKADA, N.; HASEGAWA, M. **Molecular phylogenetic study on the origin and evolution of Mustelidae**. *Gene.* v. 396, p. 1-12, 2007.
- YU, L.; LI, Q.; RYDER, O. A.; ZHANG, Y. **Phylogenetic relationships within mammalian order Carnivora indicated by sequences of two nuclear DNA genes**. *Molec Phylog Evol.* v.33, p. 694-705, 2004.
- YU, L.; ZHANG, Y. P. **Phylogeny of the caniform carnivora: evidence from multiple genes**. *Gen.* v. 127, p. 65-79, 2006.
- YU, L.; LIU, J.; LUAN, P. T.; LEE, H.; LEE, M.; MIN, M. S.; RYDER, O. A.; CHEMNICK, L.; DAVIS, H.; ZHANG, Y. P. **New insights into the evolution of intronic sequences of the beta fibrinogen gene and their application in reconstructing mustelid phylogeny**. *Zoolog Sci.* v. 25, p. 662-672, 2008.

4. CAPÍTULO 1

ARTIGO: ESTUDO FILOGENÉTICO DE ESPÉCIES SELECIONADAS DE CANIFORMIA

Flávia R. Bueno^a e Carlos C. Alberts^a

^aUniversidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências e Letras de Assis. Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Evolução e Etologia.

Resumo

As relações evolutivas da Ordem Carnivora são extensivamente estudadas e contraditórias, principalmente entre os caniformes. Embora as filogenias baseadas em dados moleculares tenham feito uma contribuição importante, elas também podem ser comparadas a reconstruções usando outros tipos de caracteres, como comportamentais. O comportamento vem conquistando espaço no cenário da biologia evolutiva, e entre os comportamentos exibidos pelos animais, a autolimpeza se apresenta como uma boa fonte de caracteres filogenéticos. Este estudo teve como objetivo reconstruir uma filogenia das principais Famílias de carnívoros caniformes usando o comportamento de autolimpeza como caractere. Foi criada uma reconstrução filogenética por meio de caracteres moleculares como forma de comparação e evidência adicional. Nas análises comportamentais, excetuando-se os representantes dos grupos externos, uma grande politomia é o resultado para os demais terminais analisados. Os terminais dentro dessa politomia, no entanto, apresentam algumas relações interessantes e com grande sustentação em verificações de *bootstrap* e *jackknife*. Os resultados com dados moleculares, nos quais foram empregados setores específicos do gene *citocromo b* mostraram uma

filogenia clássica da Subordem, mas com baixo suporte em verificação *bootstrap* em alguns ramos, exceto no que diz respeito à posição do representante da Família Canidae. A rápida radiação adaptativa, bem como especiação recente e grande diversidade ecológica dos grupos do estudo representam dificuldades ao se tentar estabelecer o exato relacionamento entre as espécies, independente dos dados biológicos utilizados para reconstrução filogenética.

Palavras-chaves: Carnivora, filogenia, comportamento, autolimpeza, *citocromo b*.

Introdução

Os Carnivora representam animais de diferentes tamanhos dentro da classe dos mamíferos, sendo que a base da radiação desses animais ocorreu há cerca de 65 milhões de anos. Por incluir espécies tanto terrestres quanto aquáticas, os carnívoros representam uma das poucas ordens de mamíferos que vivem naturalmente em todos os continentes e em habitats diversos, fato este que expressa sua impressionante diversidade ecológica (Valkenburgh et al., 2004; Valkenburgh, 2007; Nyakatura e Bininda-Emonds, 2012).

Após terem aparecido pela primeira vez no Paleoceno, os carnívoros divergiram em dois ramos monofiléticos principais, Caniformia e Feliformia, os quais são compostos atualmente por pouco mais de 10 famílias que incluem desde os maiores predadores terrestres do mundo aos animais de estimação (Agnarsson et al., 2010; Flynn et al., 1998; Yu et al., 2011).

Caracterizado por considerável variação morfológica, ecológica e comportamental, o grupo monofilético Caniformia inclui as famílias Canidae, os cães e aparentados; Ursidae, ursos; Ailuridae, o panda-vermelho; Procyonidae, quatis e

guaxinins; Mustelidae, martas e lontras; Mephitidae, cangambás; Odobenidae, morsas; Otariidae, leões-marinhos e Phocidae, as focas.

Com exceção do consenso geral de que os Canidae sofreram divergência precoce em relação aos demais caniformes, e o quase consenso do agrupamento de Procyonidae e Mustelidae como Musteloidea *stricto sensu*, estudos filogenéticos com base em diferentes tipos de dados, amostras de espécies e métodos de análises têm fornecido hipóteses filogenéticas conflitantes para as demais famílias dos caniformes (Wyss e Flynn, 1993; Vrana et al., 1994; Flynn; Nedbal, 1998; Yu e Zhang, 2006; Yu et al., 2004; 2008, Delisle e Strobeck, 2005; Yu et al., 2011).

As principais áreas de estudo envolvem as subfamílias dos mustelídeos, os quais são representantes da maior e mais diversificada família dos Carnivora; relações de grupos-irmãos existentes entre as famílias Ailuridae, Mephitidae e Musteloidea, no sentido restrito; e relações entre o grupo monofilético de carnívoros aquáticos, os pinípedes (Baskin, 1998; Flynn et al., 2000; 2005; Berta e Adam, 2001; Tedford et al., 2004; Yu et al., 2004; 2008; Sato et al., 2006; 2009).

Embora as filogenias baseadas em dados moleculares constituam uma contribuição muito importante, elas podem e devem ser comparadas a reconstruções usando outros tipos de caracteres, sendo estes morfológicos, ecológicos, paleontológicos ou comportamentais (De Pinna, 1997).

Estudos de filogenia comportamental possuem uma história considerável, sendo que evidências nas pesquisas comprovam que tanto comportamentos estereotipados como os plásticos e contexto-dependentes podem ser usados em sistemática (Legendre et al., 2012). O emprego de caracteres comportamentais como base para reconstruções filogenéticas foi questionado por Atz (1970), sendo que as restrições quanto ao uso do comportamento em filogenia se dão

principalmente no que diz respeito à sua homologia. O motivo alegado é que o conceito de homologia não se aplica ao comportamento, porém, diversos trabalhos mostram como são fixas proporções e posições dos comportamentos em relação a estruturas morfológicas, bem como a sequência de eventos no fluxo comportamental. Além do mais, o estabelecimento de homologias é uma tarefa complexa, independentemente do tipo de caráter usado (Edwards e Naeem, 1993; Wenzel, 1992; Paterson et al., 1995).

Estudos empíricos evidenciaram que características comportamentais estereotipadas são tão úteis na reconstrução das relações filogenéticas como traços morfológicos e moleculares, além de que caracteres comportamentais fornecem conexão necessária quando há perdas de outros níveis de informação (Lorenz, 1941; Timbergen, 1959; McLennan et al., 1988; De Queiroz e Wimberger, 1993; Paterson et al., 1995; Prum, 1994; De Pinna, 1997; Slikas, 1998; Wenzel e Noll, 2006).

Dessa maneira, apesar da abrangência cada vez mais intensa das fontes moleculares para reconstrução filogenética, o comportamento vem conquistando espaço no cenário da biologia evolutiva. Entre os comportamentos exibidos pelos animais, a autolimpeza apresenta padrões estereotipados e relativamente frequentes. O fato de as sequências não serem idênticas em todas as espécies, mas apontarem similaridades dentro de um padrão relativamente estereotipado, possibilita o emprego da autolimpeza para o estabelecimento de homologias (Wenzel e Noll, 2006).

Estudos de isolamento e com esquemas de reforçamento indicam o caráter herdado deste comportamento (Fentress, 1973; Shettleworth, 1975; Annable e Wearden, 1979). Fentress (1973), por exemplo, demonstrou que camundongos que

sofreram amputação de suas patas dianteiras apresentaram os mesmos movimentos característicos de autolimpeza observados em camundongos normais, agindo como se ainda tivessem seus membros anteriores.

Além de ser uma reação do animal aos estímulos endógenos e exógenos, estudos comprovam que as diferenças nos padrões de autolimpeza são mínimas entre espécies próximas, além das sequências não sofrerem consideráveis modificações devido a mudanças ambientais. Espécimes similares, embora se encontrem em ambientes diferentes, possuem os mesmos padrões sequenciais de autolimpeza, sendo que o sexo do animal também não interfere neste comportamento.

Todas as características relatadas demonstram que a autolimpeza se trata de um comportamento apto a servir como caractere filogenético (Wenzel e Noll, 2006; Malange et al., 2013). Com base em todo esse contexto, este estudo visa reconstruir uma filogenia do grupo das principais famílias de carnívoros caniformes utilizando caracteres de autolimpeza. Foi realizada uma reconstrução filogenética adicional baseada em dados moleculares para comparar com os resultados obtidos através do uso de caracteres comportamentais.

Materiais e métodos

Sujeitos Experimentais

A escolha das espécies estudadas (espécimes machos e fêmeas, adultos) foi feita em função da disponibilidade e do número de indivíduos existentes em exposição em zoológicos. Foram examinadas 10 espécies de carnívoros caniformes adultos, componentes do grupo interno:

Mustelidae: *Pteronura brasiliensis* Gmelin, 1788; *Eira barbara* Linnaeus, 1758; *Galitctis cuja* Molina, 1782 e *Mellivora capensis* Schreber, 1776. **Procyonidae:** *Nasua nasua* Linnaeus, 1766. **Otariidae:** *Otaria byronia* de Blainville, 1820; *Arctocephalus australis* Zimmermann, 1783 e *Arctocephalus tropicalis* Gray, 1872. **Ursidae:** *Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825. **Mephitidae:** *Conepatus semistriatus* Boddaert, 1785.

O grupo externo foi composto por dois representantes: *Canis lupus* Linnaeus, 1758 e *Felis silvestris catus* Linnaeus, 1758. A escolha destas espécies foi feita em decorrência da proximidade filogenética relativa entre elas e as Famílias de caniformes presentes no estudo, possibilitando melhor comparação entre caracteres homólogos. Esta escolha também se baseia em reconstruções filogenéticas de categorias taxonômicas de nível superior (Gittleman, 1989; Flynn et al., 2005), onde Canidae se encontra cabalmente fora do grupo de interesse e Felidae está na outra Subordem de Carnivora.

Locais de estudo e alojamento das espécies

A maioria das espécies foi estudada em Zoológicos (Brasil e Alemanha) e umas das espécies foi estudada em um Aquário (Brasil). Em relação aos Zoológicos, os animais estavam presentes tanto na área de exposição ao público como nos Setores Extras. A espécie de felídeo utilizada como grupo externo teve suas exibições de autolimpeza filmadas em ambiente doméstico.

Procedimento Experimental

As filmagens do comportamento de autolimpeza dos animais foram feitas com câmera filmadora digital Sony Cyber Shot, modelo DSC-WX100. A câmera foi

colocada sobre um tripé de 150 a 170 cm de altura, quando armado, o que possibilitou movimentos rápidos com a mesma. As coletas de dados foram realizadas durante todos os períodos do dia, sendo que as sessões tiveram o tempo correspondente aos dos surtos de autolimpeza, e a sequência desse comportamento foi identificada nas imagens, de acordo com as 45 categorias que foram descritas posteriormente (Anexo 1). As horas de filmagem de cada espécie, assim como os períodos, foram escolhidos de maneira a contemplar um determinado número de eventos, levando-se em consideração os ciclos de atividade e repouso característicos de cada espécie.

As filmagens de *Mellivora capensis*, ocorridas na Alemanha, foram feitas com uso da câmera de telefone celular Nokia, modelo Lumia 620.

Informações mais detalhadas, como o número e sexo dos espécimes, bem como os locais de estudo e outras considerações relevantes encontram-se resumidas na **Tabela A:**

Tabela A: Informações relevantes a respeito das filmagens dos animais. Para cada espécie, está sendo considerado todos os indivíduos analisados, independente do local.

*Os dias totais de observação podem conter ou não surtos do comportamento de autolimpeza.

Espécie (número de indivíduos e sexo)	Local de estudo	Período das observações de autolimpeza. Dias totais de observação. *	Condições ambientais	Comportamento de autolimpeza na água	Tipo e período de alimentação
<i>P. brasiliensis</i> (ariranha) (2♀,1♂)	Zoológico de Americana/SP, Zoológico de Sorocaba/SP (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Dezesete dias de observação.	Clima ensolarado e/ou chuvoso. Temperatura variável.	Ausente	Peixe. Período variável.
<i>E. barbara</i> (irara) (4♀,3♂)	Zoológico de Americana/SP, Zoológico de Piracicaba/SP, Zoológico de Sorocaba/SP, Zoológico de São Carlos/SP, Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Sete dias de observação.	Clima ensolarado e/ou chuvoso. Temperatura variável.	Ausente	Frutos e/ou carne vermelha. Período variável.

<i>G. cuja</i> (furão-pequeno) (3♀, 1♂)	Zoológico de Piracicaba/SP, Zoológico de Sorocaba/SP (Brasil)	Manhã e tarde (com predominância do período da tarde). Sete dias de observação.	Clima ensolarado. Temperatura variável.	Ausente	Carne vermelha. Período variável.
<i>M. capensis</i> (texugo-do-mel) (1♂)	Tierpark Berlin (Alemanha)	Manhã. Um dia de observação.	Clima ensolarado. Temperatura moderada.	Ausente	Não constatado.
<i>N. nasua</i> (quati) (6♀, 4♂)	Zoológico de Paulínia/SP, Zoológico de Americana/SP, Zoológico de Piracicaba/SP, Zoológico de Sorocaba/SP, Zoológico de São Carlos/SP, Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Vinte dias de observação.	Clima ensolarado. Temperatura variável.	Ausente	Frutos e/ou ovos e/ou carne vermelha. Período variável.
<i>O. byronia</i> (leão-marinho) (2♀)	Zoológico de São Paulo/SP (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Seis dias de observação.	Clima ensolarado e/ou nublado. Temperatura moderada a baixa.	Ausente	Peixe. Período variável.
<i>A. australis</i> (lobomarinheiro-sul-americano) (1♂)	Aquário do Guarujá/SP (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Seis dias de observação.	Clima ensolarado. Temperatura alta.	Presente	Peixe. Período variável.

<i>A. tropicalis</i> (lobomarinheiro-do-peito-branco) (1♂)	Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã e tarde (sem predominância de algum período). Um dia de observação.	Clima ensolarado. Temperatura moderada.	Presente	Peixe. Período variável.
<i>T. ornatus</i> (urso-de-óculos) (4♀, 5♂)	Zoológico de São Paulo/SP, Zoológico de Sorocaba/SP, Zoológico de São Carlos/SP, Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã e tarde (com predominância do período da tarde). Dezoito dias de observação.	Clima ensolarado e/ou nublado. Temperatura moderada.	Ausente	Frutos e ração. Período variável.
<i>C. semistriatus</i> (cangambá) (1♀)	Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã. Oito dias de observação.	Clima ensolarado e/ou nublado. Temperatura moderada.	Ausente	Frutos. Período variável.
<i>C. lupus</i> (lobo-europeu) (1♀, 1♂)	Zoológico de São Paulo/SP, Zoológico do Rio de Janeiro/RJ (Brasil)	Manhã e tarde (com predominância do período da tarde). Onze dias de observação.	Clima ensolarado e/ou nublado. Temperatura moderada.	Ausente	Carne vermelha. Período da tarde.
<i>F. silvestris catus</i> (gato-doméstico) (1♀)	Ambiente doméstico (Paulínia/SP-Brasil)	Manhã, tarde e noite (com predominância dos períodos da manhã e noite).	Clima ensolarado. Temperatura moderada a alta.	Ausente	Ração. Período variável.

Análises dos Dados Comportamentais

As imagens dos comportamentos de autolimpeza, capturadas pelas filmagens, foram observadas em velocidade reduzida através de programas gratuitos para edição de vídeos (Windows Media Player e PlayMemories Home). Simultaneamente às observações das filmagens em uma janela na tela do computador, os comportamentos eram transcritos para o programa computacional EthoLog (Ottoni, 2000), que contribuiu para a decodificação das mesmas. Após a transcrição, o número de eventos comportamentais foi contado e registrado, assim como o tempo real de exibição dos eventos. As sequências obtidas por meio das filmagens e transformadas em códigos mnemônicos foram submetidas à análise do *software* EthoSeq (Japyassú et al., 2006), programa baseado no algoritmo MRDitree, desenvolvido, originalmente em linguagem PASCAL, por Sato (1984). Esse programa analisou as matrizes de transição de primeira ordem, convertendo-as em matrizes de probabilidade condicional. Pela análise destas últimas, foram gerados diagramas em forma de árvores orientadas, permitindo que fosse observado como os eventos comportamentais são organizados na sequência e a probabilidade entre os caminhos.

As sequências comportamentais foram usadas como caracteres filogenéticos para cada espécie observada no estudo e geraram uma matriz binária, após a polarização com os grupos externos. As análises das matrizes binárias foram realizadas utilizando-se o programa de análise cladística WinClada versão 1.00.08 (Nixon, 2002), o qual permite cálculos de índice de consistência (CI) e retenção (RI), revelando o grau de homoplasias e sinapomorfias em um grupo, respectivamente. Foi efetuada busca heurística, com parâmetros RAS (Random Addition Sequences)+ TBR (Tree Bisection and Reconnection) e 10 repetições, para se obter a árvore mais

parcimoniosa. O suporte entre os ramos foi estimado pelos cálculos de *bootstrap* (Felsenstein, 1985) e *jackknife* (Farris et al., 1996), com 100 replicações.

Análises dos Dados Moleculares

Análises moleculares foram realizadas como forma de se obter um resultado adicional e comparativo. Para a análise molecular, foram adotados setores específicos do marcador mitocondrial *citocromo b*. Os dados moleculares foram obtidos a partir do GenBank e encontram-se no Anexo 2. Para se obter o alinhamento das sequências moleculares e reconstruir uma das filogenias, foram utilizados, respectivamente, os programas MAFFT (*Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences*), versão 7, ePhyML: *new algorithms, methods and utilities*, versão 3.0 (Guindon et al., 2010), o qual forneceu estimativa de máxima verossimilhança, usando-se diferentes medidas estatísticas: *aLRT*, *bootstrap*, *teste chi-quadrado* e *tipo SH para suporte dos ramos*.

Resultados e Discussão

Análises comportamentais

Cada sequência comportamental levantada pelo programa EthoSeq e verificada nos dados originais pode indicar ou não alguma aleatoriedade na construção. Usando-se uma medida de *chi-quadrado*, o programa estima qual sequência foi observada em número igual, maior ou menor que o esperado. Foram retiradas das análises posteriores as espécies cujas sequências obtiveram observações abaixo do esperado. Com as sequências remanescentes, foi criada uma matriz filogenética, que foi submetida a análises pelo software WinClada. Os

resultados obtidos através da busca heurística com o programamostramas relações entre os terminais estudados, embora os suportes aos clados, nesse tipo de análise, não sejam conhecidos (Fig. 1):

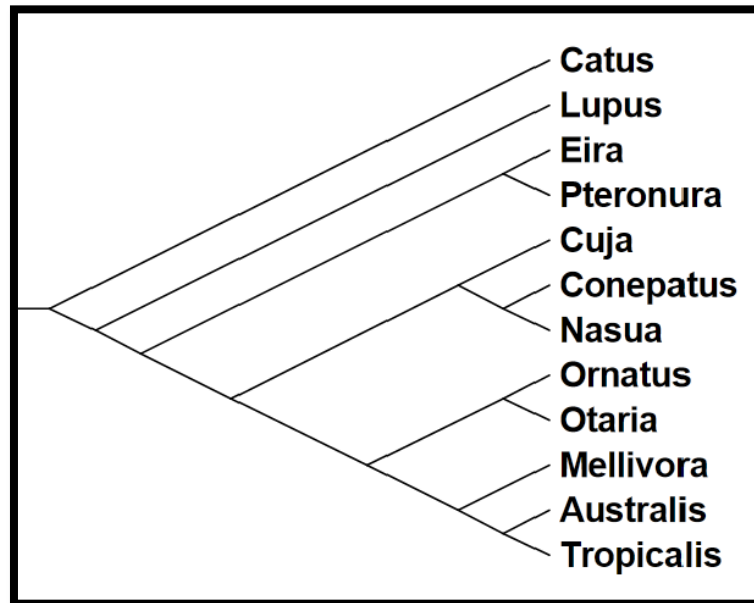


Fig. 1 Árvore mais parcimoniosa resultante da análise heurística de 3455 caracteres comportamentais (CI = 82, RI = 30) dos grupos de estudo: *F. silvestris catus* (Catus), *C. lupus* (Lupus), *P. brasiliensis* (Pteronura), *E. Barbara* (Eira), *G. cuja* (Cuja), *M. capensis* (Mellivora), *N. nasua* (Nasua), *O. byronia* (Otaria), *A. australis* (Australis), *A. tropicalis* (Tropicalis), *T. ornatus* (Ornatus), *C. semistriatus* (Conepatus).

As análises de *bootstrap* (Fig. 2) e *jackknife* (Fig. 3) indicam suporte máximo, de 100%, no ramo em que se separam o grupo interno dos externos. Excetuando-se os grupos externos, uma politomia é o resultado para os demais terminais analisados:

Fig. 2

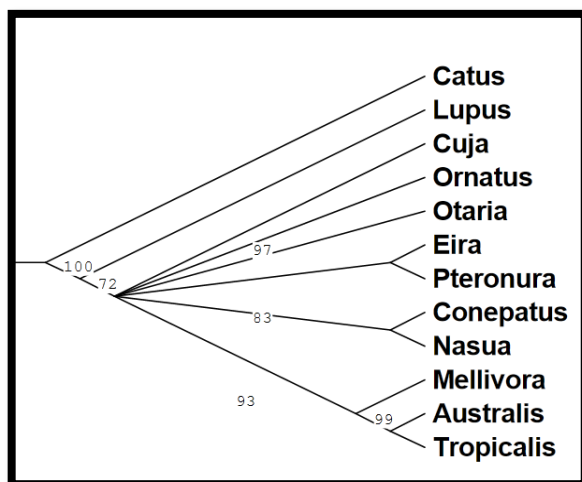
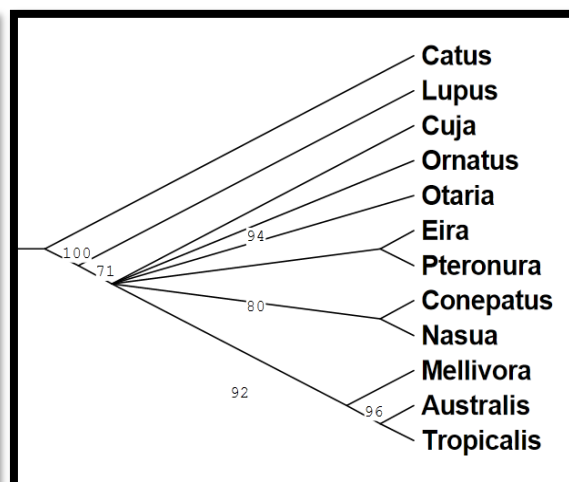


Fig. 3



Figs. 2 e 3 Valores de *bootstrap* e *jackknife* (CI = 81, RI = 25), respectivamente, da árvore mais parcimoniosa resultante da análise de 3455 caracteres comportamentais dos grupos de estudo: *F. silvestris catus* (Catus), *C. lupus* (Lupus), *P. brasiliensis* (Pteronura), *E. barbara* (Eira), *G. cuja* (Cuja), *M. capensis* (Mellivora), *N. nasua* (Nasua), *O. byronia* (Otaria), *A. australis* (Australis), *A. tropicalis* (Tropicalis), *T. ornatus* (Ornatus), *C. semistriatus* (Conepatus).

A politomia observada nas análises confirmam os resultados filogenéticos problemáticos verificados entre os caniformes presentes no estudo em outros trabalhos. Porém, apesar do grande número de caracteres analisados pelo programa WinClada (3455, sendo que 566 deles são informativos), observa-se que há suporte bom para alguns ramos, dentro da politomia.

As posições de dois pinípedes (Australis e Tropicalis) estão bem sustentadas (embora o número de eventos de comportamento de autolimpeza de *A. tropicalis* tenha sido consideravelmente inferior à de *A. australis*) e são consistentes com os resultados de outros autores. Em um clado separado e não resolvido a eles encontra-se outro pinípede, o leão-marinho (Otaria), sendo que desta forma nossa reconstrução não reconheceu o monofiletismo desse grupo. Além disso, foi

observado que ambas as espécies de lobo-marinho possuem um intenso comportamento de autolimpeza enquanto estão na água, com movimentos similares e bem característicos. O mesmo não aconteceu com os leões-marinhos, já que estes apenas se limpavam enquanto estavam fora da água. Enquanto estavam na água, eles apenas nadavam. Um dos lobos-marinhos (*A. australis*) encontrava-se em período reprodutivo, segundo seu tratador. Embora, por ação hormonal, o animal estivesse acima do peso e apresentando períodos mais longos de descanso, os surtos de autolimpeza não foram afetados.

A posição exata da Família Otariidae em relação aos demais caniformes não está resolvida. Análises combinadas de íntrons sugerem um clado Ursidae/Pinípedes (Yu et al., 2004; 2011). O trabalho de Yu e colaboradores (2011) aponta igualmente que a aglomeração de Ursidae e Pinípedes é congruente com o tradicional ponto de vista morfológico (e também com estudos com *citocromo b*), enquanto a colocação de Ursidae como um ramo basal é suportada em outras análises que adotam genomas mitocondriais.

A posição apresentada por nosso estudo para *Conepatus* e *Nasua* condiz com estudos apresentados anteriormente (Flynn et al., 2005; Yu et al., 2005; 2011), onde também foi demonstrado, através de análises sob máxima parcimônia e bayesiana, a posição filogenética (fortemente suportada) de Mephitidae como clado-irmão de Procyonidae + Mustelidae (Flynn et al., 2005; Koepfli et al., 2007).

O mustelídeo texugo-do-mel (*Mellivora*) encontra-se como grupo irmão dos lobos-marinhos. Tradicionalmente, no entanto, outra espécie de texugo, o texugo fétido asiático (gênero *Mydaus*), é colocado dentro da subfamília Melinae (Família Mustelidae), porém alguns pesquisadores consideram que esta subfamília é composta de indivíduos não relacionados por um ancestral comum (Pocock, 1921;

Simpson, 1945; Petter, 1971; Radinsky, 1973; Schmidt-Kittler, 1981; Bryant et al., 1993). Além disso, outras análises indicaram que o registro fóssil fornece suporte para que cangambás e texugos formem um grupo natural, reconhecendo, desta maneira, a estreita relação entre texugos fedidos e cangambás (Radinsky, 1973; Schmidt-Kittler, 1981). Em suas análises, Bryant et al. (1993) e Koepfli et al. (2008) apoiaram que o texugo fétido asiático não é um mustelídeo, e sim um membro da Família Mephitidae, diferente, portanto, de nosso resultado.

Análises moleculares

Por intermédio da técnica máxima verossimilhança do programa PhyML, é possível reconstruir a filogenia do grupo através do alinhamento de sequências de nucleotídeos ou aminoácidos. Um diferencial da técnica é que esta engloba várias opções para a pesquisa de topologias entre as árvores filogenéticas, além de sustentar números razoáveis de conjuntos de dados. Os resultados das análises moleculares são mostrados a seguir (Figs. 4, 5, 6 e 7). A sequência para o setor do gene *citocromo b* não foi encontrada para *A. tropicalis*.

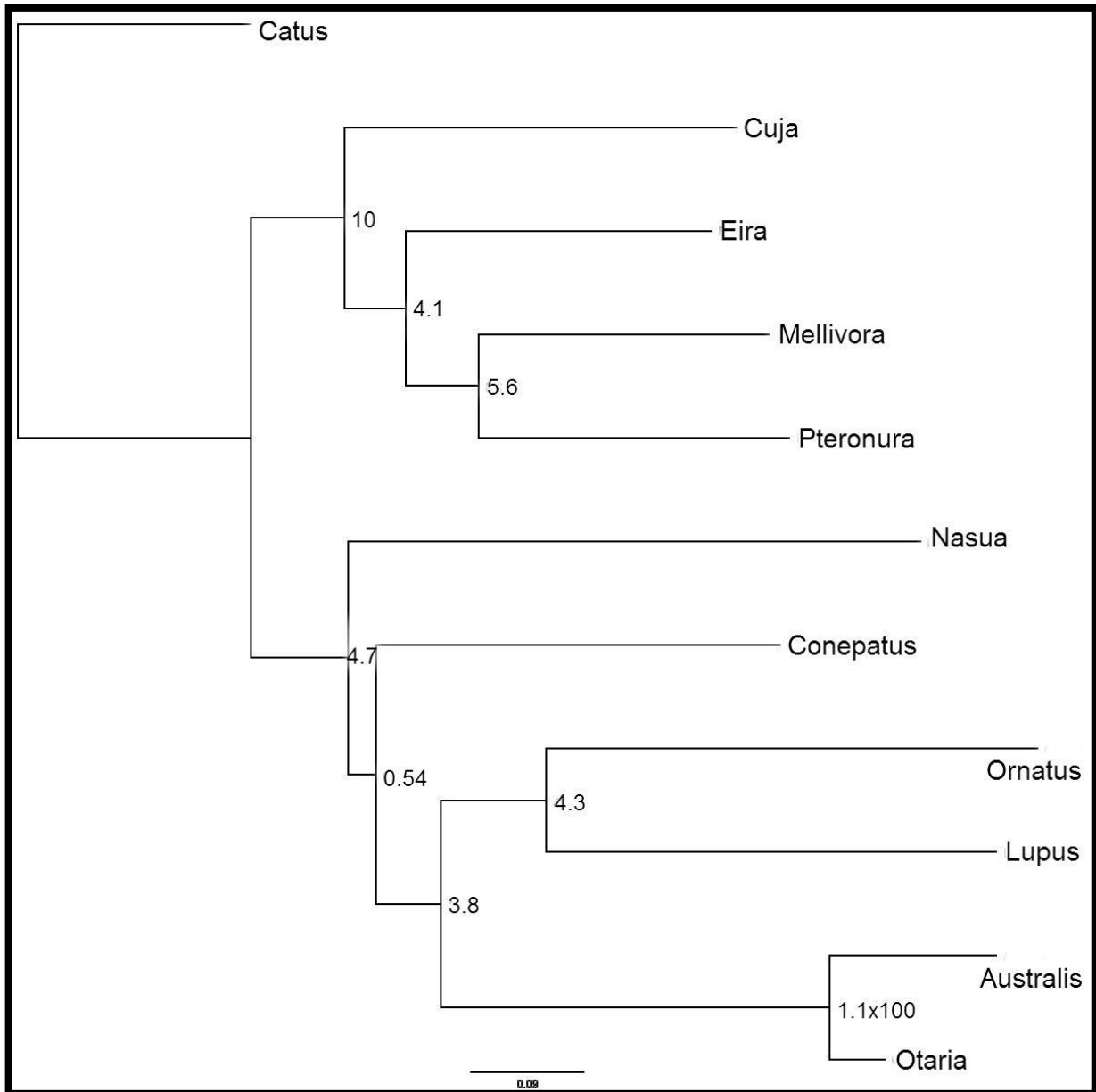


Fig. 4 Valores de *aLRT* da análise molecular utilizando um setor do marcador mitocondrial *citocromo b*, com 826 caracteres. Espécies incluídas nas análises: *F. silvestris catus* (Catus), *C. lupus* (Lupus), *P. brasiliensis* (Pteronura), *E. barbara* (Eira), *G. cuja* (Cuja), *M. capensis* (Mellivora), *N. nasua* (Nasua), *O. byronia* (Otaria), *A. australis* (Australis), *A. tropicalis* (Tropicalis), *T. ornatus* (Ornatus), *C. semistriatus* (Conepatus).

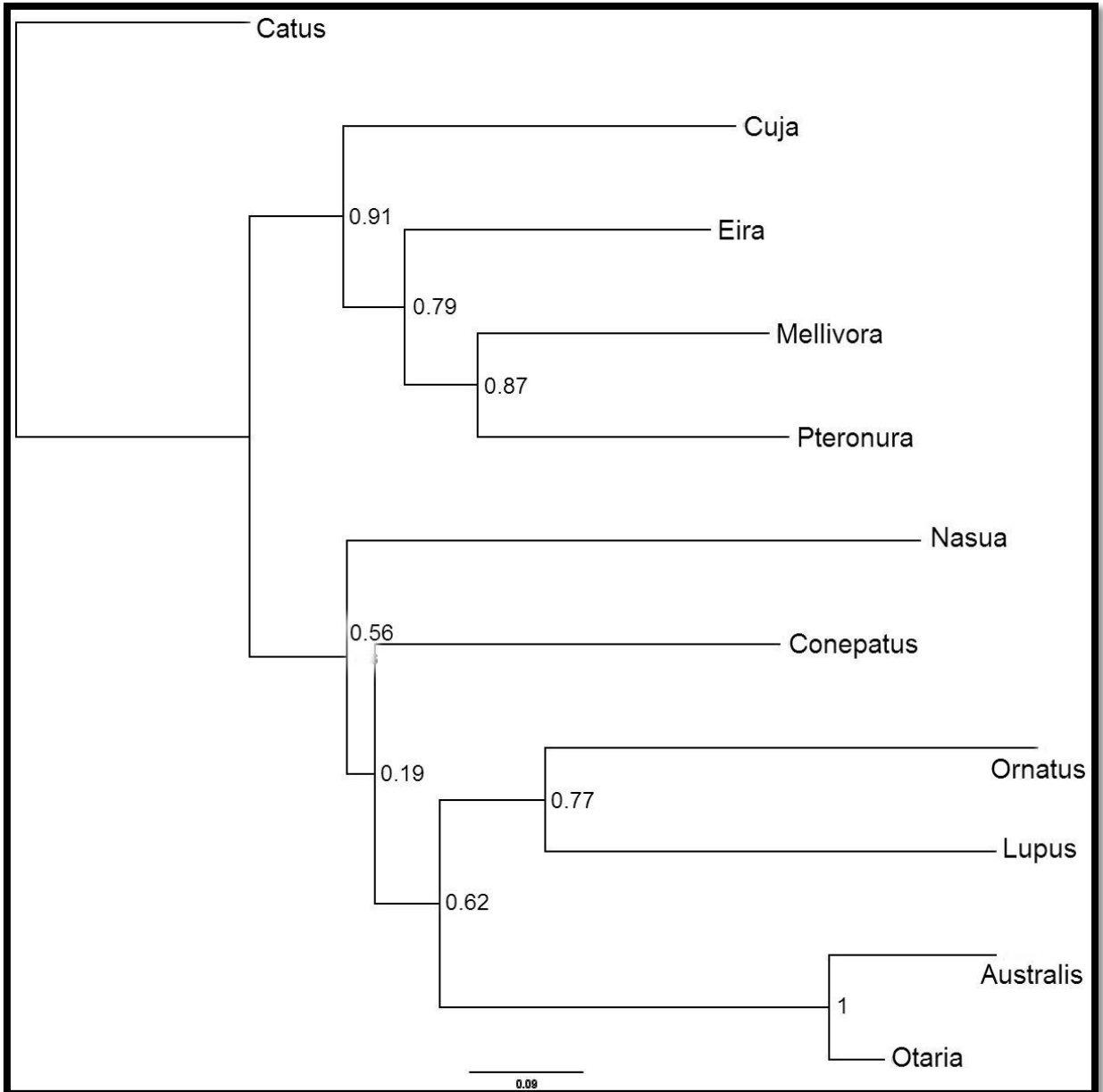


Fig. 5 Valores tipo SH para suporte dos ramos da análise molecular utilizando um setor do marcador mitocondrial *citocromo b*, com 826 caracteres. Espécies incluídas nas análises: *F. silvestris catus* (Catus), *C. lupus* (Lupus), *P. brasiliensis* (Pteronura), *E. barbara* (Eira), *G. cuja* (Cuja), *M. capensis* (Mellivora), *N. nasua* (Nasua), *O. byronia* (Otaria), *A. australis* (Australis), *A. tropicalis* (Tropicalis), *T. ornatus* (Ornatus), *C. semistriatus* (Conepatus).

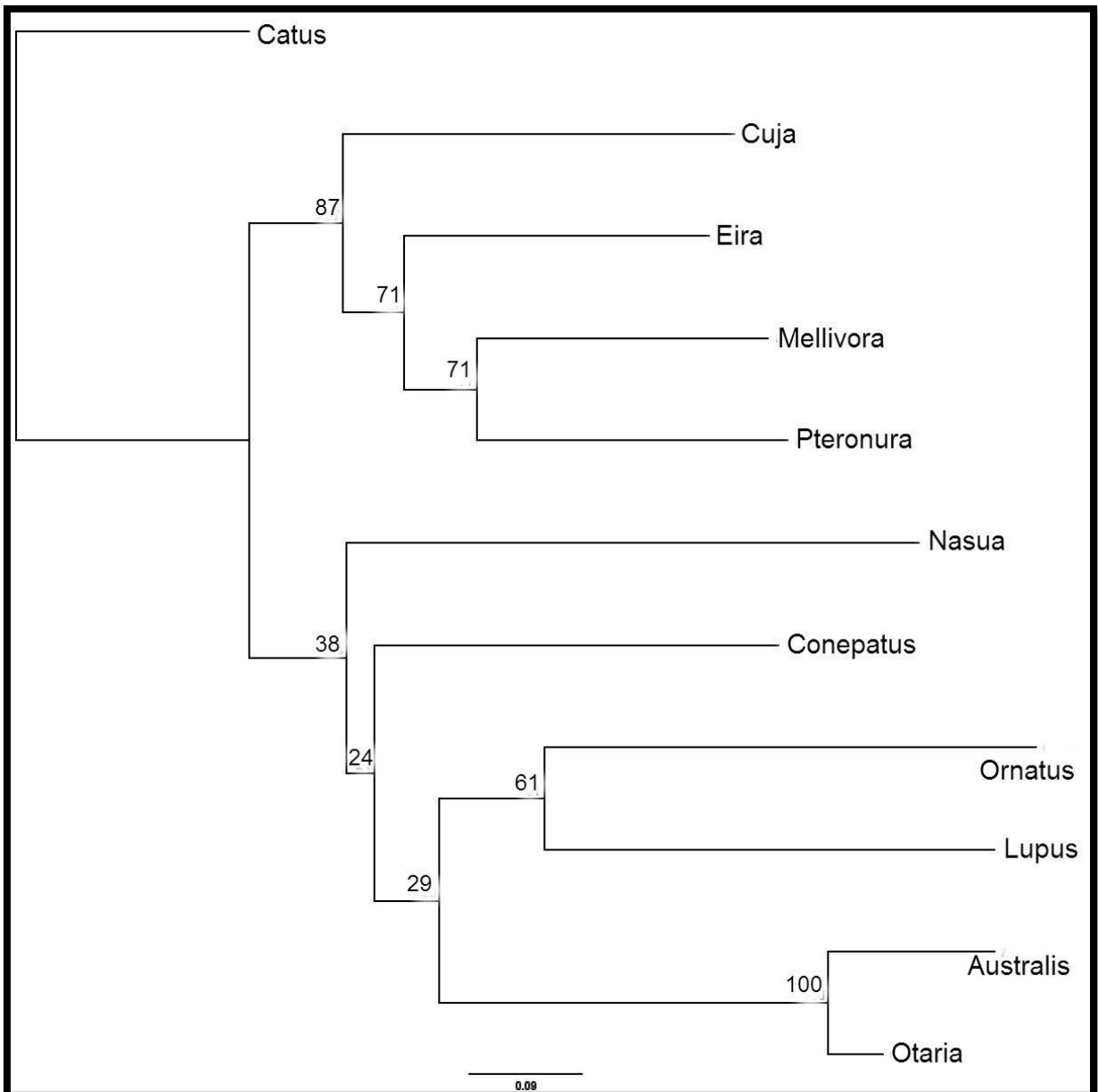
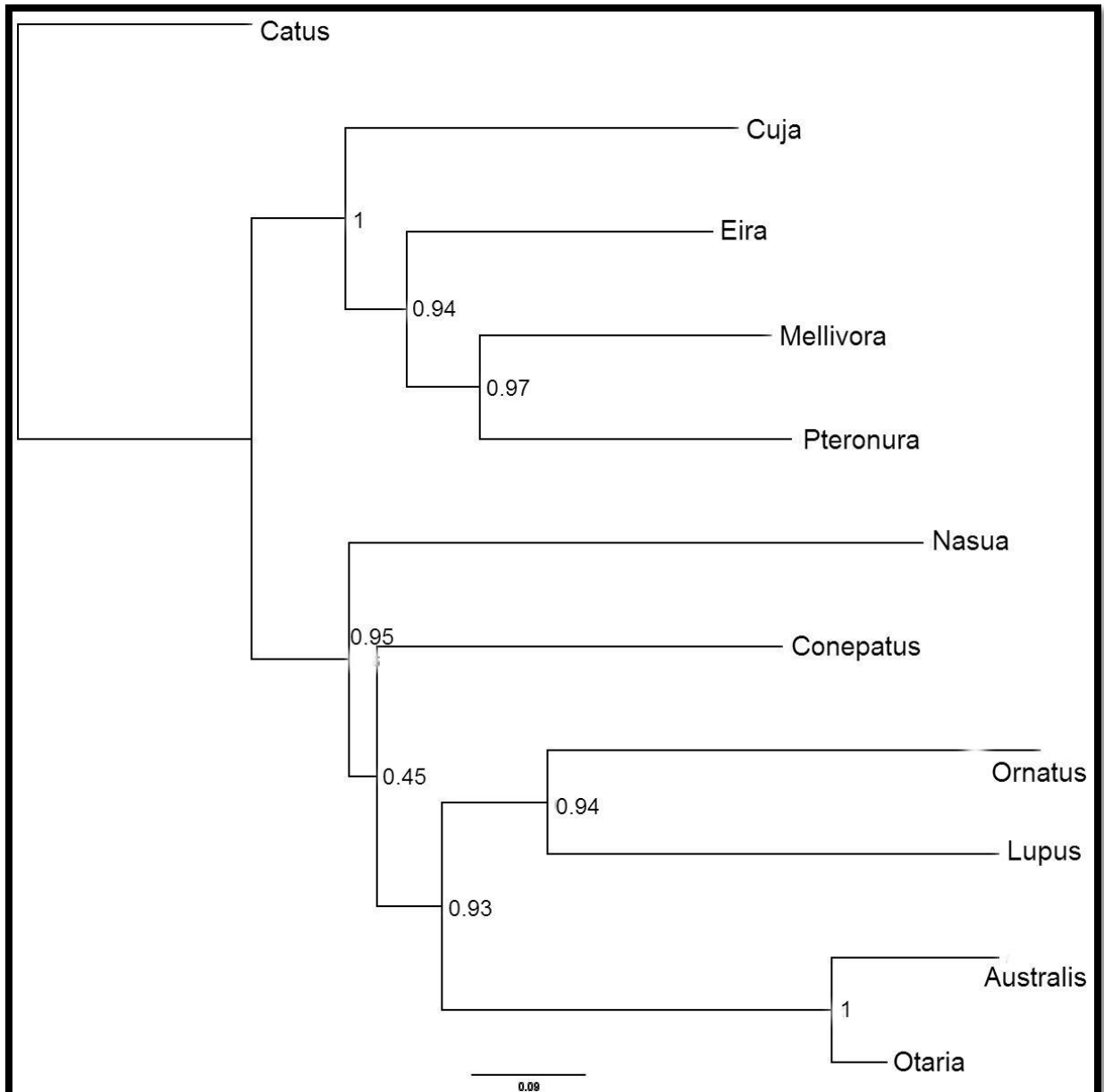


Fig. 6 Valores de *bootstrap* da análise molecular utilizando um setor do marcador mitocondrial *citocromo b*, com 826 caracteres. Espécies incluídas nas análises: *F. silvestris catus* (Catus), *C. lupus* (Lupus), *P. brasiliensis* (Pteronura), *E. barbara* (Eira), *G. cuja* (Cuja), *M. capensis* (Mellivora), *N. nasua* (Nasua), *O. byronia* (Otaria), *A. australis* (Australis), *A. tropicalis* (Tropicalis), *T. ornatus* (Ornatus), *C. semistriatus* (Conepatus).



L

Fig. 7 Valores do teste de *chi-quadrado* da análise molecular utilizando um setor do marcador mitocondrial *citocromo b*, com 826 caracteres. Espécies incluídas nas análises: *F. silvestris catus* (*Catus*), *C. lupus* (*Lupus*), *P. brasiliensis* (*Pteronura*), *E. barbara* (*Eira*), *G. cuja* (*Cuja*), *M. capensis* (*Mellivora*), *N. nasua* (*Nasua*), *O. byronia* (*Otaria*), *A. australis* (*Australis*), *A. tropicalis* (*Tropicalis*), *T. ornatus* (*Ornatus*), *C. semistriatus* (*Conepatus*).

Os resultados com dados moleculares, assim como os comportamentais, evidenciaram dificuldades em reconstruir a filogenia dos grupos estudados, retratando diferentes valores de suporte nos quatro testes estatísticos utilizados. As posições do furão-pequeno (Cuja) e dos pinípedes (Otaria e Australis), apresentaram os maiores valores de suporte, sendo que uma politomia pode ser considerada para o restante dos grupos.

Os testes utilizados para indicar a congruência entre os ramos (aLRT e SH) detectaram que, de alguma maneira, os mesmos se encontram muito distantes uns dos outros. O baixo suporte identificado nesta análise é justificado pelo fato de não haver amostras completas de terminais de cada grupo, pois foram utilizadas poucas espécies pertencentes a um número igualmente baixo de gêneros.

O teste paramétrico de *chi-quadrado* foi o que apresentou melhor resolução, fornecendo maior suporte em grande parte dos ramos, fornecendo, deste modo, informações coerentes dentro da matriz. Portanto, este teste mostra que, embora certas incongruências nas relações entre os grupos sejam encontradas, há consistência nos resultados. Esta consistência é reforçada mesmo com a utilização de setores moleculares restritos (apenas 826 caracteres) formando a matriz filogenética.

A posição do representante de Canidae, *Canis lupus*, o lobo, escolhido como um dos grupos externos encontra-se contraditória em relação a outros estudos com a filogenia do grupo. No nosso estudo, o lobo encontra-se ligado a representantes do grupo interno. Tal fato pode ter ocorrido devido à função do gene mitocondrial *citocromo b*, que é a regulação da temperatura corpórea. Sendo o lobo-europeu um animal que habita ambientes frios, acreditamos que esta função específica do gene

utilizado nas análises influencie consideravelmente sua fisiologia. Isso poderia explicar a posição encontrada para o canídeo dentro da matriz. Sendo assim, é de se esperar que o *citocromo b* não seja o melhor marcador a ser utilizado, pois o mesmo está sujeito a pressões externas. Isso demonstra a necessidade de se realizar análises com marcadores „neutros“, bem como a importância de se utilizar vários genes nas análises filogenéticas.

O uso de diferentes caracteres em filogenia: qual o melhor a ser escolhido?

Acreditamos que os caracteres comportamentais são a melhor opção para ser utilizada em estudos filogenéticos, pois o comportamento, ao contrário de outras fontes, é selecionado. Consideramos o comportamento como a junção de genes e morfologia, por exemplo – dessa forma, o comportamento é composto por todos os fatores biológicos que permitem ao animal „funcionar“.

Contudo, o uso do comportamento apresenta, assim como outras fontes biológicas, seu limite. E essa limitação se deve ao fato dos animais do nosso estudo apresentarem, sobretudo, grande variação morfológica e ambiental.

Quando existem diferentes tipos de suporte, há indicação de que determinado grupo de estudo é realmente problemático. As inúmeras tentativas de se estabelecer o exato relacionamento entre as espécies de carnívoros com base numa variedade de estudos moleculares têm sido desafiadoras. O principal problema é que os carnívoros representam um típico exemplo de rápida radiação evolutiva e especiação recente. Evidências fósseis indicam que a história biogeográfica desses animais é caracterizada por variadas e numerosas dispersões intercontinentais, sendo que, entre os membros dos Mustelidae, tais dispersões são principalmente originárias da Eurásia, onde estão os mais antigos restos fósseis da Família são

encontrados. Considera-se que a grande maioria da diversidade dos mustelídeos das Américas tenha se originado a partir de linhagens que repetidamente se dispersaram da Eurásia através do estreito de Bering (Baskin, 1998; Tedford et al., 2004). Os grupos de caniformes estudados apresentam também grande diversidade ecológica, diferente dos Felidae ou Canidae, por exemplo. Essa situação pode se refletir na diversidade de resultados obtidos, dependendo das técnicas e dos tipos de caracteres empregados.

O emprego do comportamento de autolimpeza na reconstrução filogenética

Neste estudo, foi confirmada a complexidade de se estudar sequências comportamentais, sendo que o maior desafio está no ato de extraí-las. Como ressaltado em outros estudos envolvendo filogenia comportamental, pesquisas com animais envolvem tempo longo para que haja a construção e interpretação do catálogo de comportamentos (Malange et al., 2013).

É perfeitamente possível se estabelecer categorias comportamentais de autolimpeza utilizando um único indivíduo. O problema encontrado se refere principalmente ao tempo de observações necessário para determinadas espécies. No estudo, foi necessário um tempo maior de observação para os espécimes de ursos, por exemplo. Isso se deve pelo fato desses animais apresentarem tamanho grande bem como serem considerados lentos em seus movimentos.

O comportamento de autolimpeza, além de apresentar um padrão estereotipado, parece ser um comportamento evolutivamente primitivo e é observado em diversos grupos de animais (Lorenz, 1958). Colonnese e colaboradores (1996) demonstraram que as regras de organização desse comportamento apareceram cedo na evolução dos mamíferos; supõe-se que há 60

a 100 milhões de anos, portanto, antes da divergência dos carnívoros. Berridge et al. (2005) referem-se à autolimpeza como sendo um comportamento espontâneo que ocorre como uma transição entre fases de atividade e repouso. Os movimentos desse comportamento são facilmente reconhecíveis. Contudo, os elementos desencadeadores e o modo como a estrutura se organiza têm sido alvo de inúmeras investigações no decorrer dos anos (Hawlena et al., 2007).

Número de categorias comportamentais

É possível que por termos nos decidido por organizar o estudo do comportamento de autolimpeza com um grande número de categorias comportamentais, devido à morfologia muito variada dos vários grupos do estudo, possa ter ocasionado situações em que nem todo o grupo partilhava das mesmas categorias. Assim, um grande número de categorias levou a um grande matriz comportamental com poucas transições. Outros estudos com sequências comportamentais usaram um número menor de categorias (Japyassú et al., 2003; Malange et al., 2013).

Comportamento social

Outra questão inesperada no presente estudo seria a de que muitas espécies entre os terminais são animais sociais. É possível que parte do comportamento exibido seja modificado para, além das outras funções da autolimpeza, exprimir mensagens a outros membros dos grupos em que convivam. Tais mensagens, se realmente existirem, podem ser (e provavelmente são, realmente) diferentes entre os diversos grupos e entre as diversas espécies sociais do grupo de interesse. Em acréscimo, espécies solitárias não têm porque alterar seu comportamento de

autolimpeza, a fim de incluir outra função. Sendo verdadeiro, é possível que algumas categorias possam não ser a melhor escolha para usar como caractere filogenético.

Alimentação dos animais estudados

Alguns dos animais estudados apresentavam surtos de autolimpeza após a alimentação, principalmente o felino e o canídeo, mas isso não foi uma regra.

Acreditamos que a alimentação não tenha influenciado nos surtos de autolimpeza entre as mesmas espécies presentes em locais diferentes, pois o alimento, bem como o horário de alimentação, era similar. Acreditamos que as condições de temperatura ambiental não tenham influenciado no comportamento de autolimpeza dos animais.

Conclusões

As reconstruções filogenéticas comportamentais e moleculares realizadas no estudo se mostraram diferentes. A politomia observada em ambas as análises, com diferentes tipos de suporte, evidenciam a problemática encontrada nas reconstruções filogenéticas dos carnívoros caniformes. Porém, as análises comportamentais resultaram em suportes satisfatórios para alguns ramos dentro da politomia. Contudo, embora o uso do comportamento se mostre satisfatório em análises filogenéticas, dificuldades ao se registrar os eventos comportamentais no estudo podem proporcionar problemas nas análises. Determinados comportamentos dos animais sociais envolvidos, bem como o uso de muitas categorias comportamentais podem ter contribuído para os resultados obtidos.

Agradecimentos

Nós agradecemos a todos os funcionários das instituições nas quais as filmagens foram realizadas: Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Parque Ecológico Municipal de Paulínia, Parque Ecológico Municipal de Americana, Zoológico Municipal de Piracicaba, Parque Ecológico Municipal de Sorocaba, Parque Ecológico de São Carlos, Zoológico do Rio de Janeiro, Zoológico de Itatiba, Aquário do Guarujá e Tiepark Berlin. Todos os biólogos, veterinários e tratadores contribuíram de forma significativa para a realização da pesquisa. Agradecemos também ao Prof. Dr. Sérgio Nascimento Stampar, que gentilmente nos auxiliou nas análises moleculares, e à Pró-Reitoria de Pós-Graduação da UNESP (PROPG) pelo auxílio financeiro concedido para as viagens de campo.

Referências

Agnarsson, I., Kuntner, M., May-Collado, L. J., 2010. Dogs, cats, and kin: A molecular species-level phylogeny of Carnivora. *Mol. Phylog. Evol.* 54, 726-745.

Annable, A., Wearden, J. H. 1979., Grooming movements as operantes in the rat. *J. Exp. Anal. Behav.* 32, 297-304.

Atz, J. W., 1970. The application of the idea of homology to behavior. In: Aronson, L. R., Tobach, E., Lehrman, D. S., Rosenblatt, J. S. (Eds.). *Development and evolution of behavior: Essays in honor of T. C. Schneirla* San Francisco: Freeman, pp. 53-74.

Baskin, J. A., 1998. Mustelidae. In: *Evolution of Tertiary Mammals of North America Volume 1*. Edited by: Janis, C. M.; Scott, K. M.; Jacobs, L. L. Cambridge: Cambridge University Press, pp.152-173.

Berridge, K. C., Aldridge, J. W., Houchard, K. R., Zhuang, X., 2005. Sequential superstereotypy of an instinctive fixed action pattern in hyper-dopaminergic mutant mice: a model of obsessive compulsive disorder and Tourette"s. *BMC. Biol.* 4, 1-16.

Berta, A., Adam, P., 2001. The evolutionary biology of pinnipeds. In: Secondary Adaptation of Tetrapods to Life in the Water Edited by: de Buffrenil V, Mazin J-M. Germany: Verlag Dr. Frederich Pfeil, pp. 235-260

Bryant, H. N., Anthony, P., Russell, F. L. S.; Fitch, W. D., 1993. Phylogenetic relationships within the extant Mustelidae (Carnivora): appraisal of the cladistic status of the Simpsonian subfamilies. *Zool. J. of the Linnean Society*. 108, 301-334.

Colonnese, M. T., Stallman, E. L., Berridge, K. C., 1996. Ontogeny of action syntax in altricial and precocial rodents: grooming sequence of rat and guinea pig pups. *Behav.* 133, 1165-1195.

Delisle, I., Strobeck, C., 2005. A phylogeny of the Caniformia (order Carnivora) based on 12 complete protein-coding mitochondrial genes. *Mol. Phylog. Evol.* 37, 192-201.

De Pinna, M. C. C., 1997. Behavioral characters in phylogeny reconstruction. *Anais de Etologia*. 15, 109-124.

De Queiroz, A., Wimberger, P. H., 1993. The usefulness of behavior for phylogeny estimation: Levels of homoplasy in behavioral and morphological characters. *Evol.* 47, 46-60.

Edwards, S. V., Naeem, S. 1993., The phylogenetic component of cooperative breeding in perching birds. *The American Naturalist*. 141, 754-789.

Farris, J. S., Albert, V. A., Källersjö, M., Lipscomb, D., Kluge, A. G., 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighborjoining. *Clad.* 12, 99-124.

Felsenstein, J. 1985., Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evol.* 39, 783-791.

Fentress, J. C. 1973., Development of Grooming in Mice with Amputated Forelimbs. *Science*. 179, 704-705.

Flynn, J. J., Nedbal, M. A., 1998. Phylogeny of the Carnivora (Mammalia): congruence vs incompatibility among multiple data sets. *Mol. Phylog. Evol.* 9, 414-426.

Flynn, J. J., 1998. Early Cenozoic Carnivora ("Miacoidea"). In: Janis, C. M., Scott, K. M., Jacobs, L. L., (Eds.), *Evolution of Tertiary Mammals of North America*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 110-123.

Flynn, J. J., Nedbal, M. A., Dragoo, J. W., Honeycutt, R. L., 2000. Whence the red panda? *Mol. Phylog. Evol.* 17, 190-199.

Flynn, J. J., Finarelli, J. A., Zehr, S., Hsu, J., Nedbal, M. A., 2005. Molecular phylogeny of the Carnivora (Mammalia): assessing the impact of increased sampling on resolving enigmatic relationships. *Syst. Biol.* 54, 317-337.

Gittleman, J. L., 1989. Carnivore behavior, ecology, and evolution. Ithaca (NY): Cornell University Press.

Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O., 2010. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59, 307-321.

Hawlena, H., Bashary, D., Abramsky, Z., Krasnow, B. R., 2007. Benefits, costs and constraints of anti-parasitic grooming in adult and juvenile rodents. *Ethol.* 113, 394-402.

Japyassú, H. F., Alberts, C. C., Izar, P., Sato, T., 2003. Sinal filogenético em seqüências comportamentais longas: a plasticidade induz ruído na análise? IV Encontro de Aracnólogos do Cone Sul. *Anais, Águas de São Pedro*, 44-45.

Japyassú, H. F., Alberts, C. C., Izar, P., Sato, T., 2006. EthoSeq: A tool for phylogenetic analysis and data mining in behavioral sequences. *Behav. Res. Meth.* 38, 549-556.

Koepfli, K. P., Gompfer, M. E., Eiziric, E., Ho, C. C., Linden, L., Maldonado, J. E., Wayne, R. K., 2007. Phylogeny of the Procyonidae (Mammalia: Carnivora): Molecules, morphology and the Great American Interchange. *Molec. Phylog. Evol.* 43, 1076-1095.

Koepfli, K. P., Deere, K. A., Slater, G. J., Begg, C., Begg, K., Grassman, L., Lucherini, M., Veron, G., Wayne, R. K., 2008. Multigene phylogeny of the Mustelidae: Resolving relationships, tempo and biogeographic history of a mammalian adaptive radiation. *BMC. Biol.* 6, 1-22.

Legendre, F., D'haese, C. A., Deleporte, P., Pellens, R., Whiting, M. F., Schliep, K., Grandcolas, P., 2012. The evolution of social behavior in Blaberid cockroaches with diverse habitats and social systems: phylogenetic analysis of behavioural sequences. *Biol. J. Linn. Soc.* 111, 58-77.

Lorenz, K., 1941. Vergleichende Bewegungsstudien an Anatinen. *J. der Ornithol.* 89, 194-294.

Lorenz, K., 1958. The evolution of behavior. *Sci. Americ.* 199, 67-78.

Malange, J., Alberts, C. C., Oliveira, E. S., Japyassú, H. F., 2013. The evolution of behavioural systems: a study of grooming in rodents. *Behav.* 150, 1-30.

McLennan, D. A., Brooks, D. R., McPhail, J. D., 1988. The benefits of communication between comparative ethology and phylogenetic systematics: A case study using gasterosteid fishes. *Canad. J. of Zool.* 66, 2177-2190.

Nixon, K. C., 2002. WinClada, version 1.00.08. Publicado pelo autor, Ithaca, New York, USA.

Nyakatura, K., Bininda-Emonds, O. R. P., 2012. Updating the evolutionary history of Carnivora (Mammalia): a new species level supertree complete with divergence time estimates. *BMC Biology*. 10, 1-31.

Otoni, E. B., 2000. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*. 32, 446-449.

Paterson, A. M., Wallis, G. P., Gray, R. D., 1995. Penguins, petrels, and parsimony: Does cladistic analysis of behavior reflect seabird phylogeny? *Evol.* v. 49, p. 974-989.

Petter, G., 1971. Origine, phylogenie et systematique des blaireaux. *Mammal*. 35, 567-597.

Pocock, R. I., 1921. On the external characters and classification of the Mustelidae. *Proceedings of the Zoological Society of London*, pp. 803-837.

Prum, R. O., 1994. Phylogenetic analysis of the evolution of alternative social behavior in the manakins (Aves: Pipridae). *Evol.* 48, 1657-1675.

Radinsky, L., 1973. Are stink badgers skunks? Implications of neuroanatomy for mustelid phylogeny. *J. of Mammal*. 54, 585-593.

Sato, J. J., Wolsan, M., Suzuki, H., Hosoda, T., Yamaguchi, Y., Hiyama, K., Kobayashi, M., Minami, S., 2006. Evidence from nuclear DNA sequences sheds light on the phylogenetic relationships of Pinnipedia: single origin with affinity to Musteloidea. *Zoolog. Sci.* 23, 125-146.

Sato J. J., Wolsan, M., Minami, S., Hosoda, T., Sinaga, M. H., Hiyama, K., Yamaguchi, Y., Suzuki, H., 2009. Deciphering and dating the red panda's ancestry and early adaptive radiation of Musteloidea. *Mol. Phylog. Evol.* 53, 907-922.

Sato, J. J., Wolsan, M., Prevosti, F. J., D'Elía, G. D., Begg, C., Begg, K., Hosoda, T., Campbell, K. L., Suzuki, 2012. Evolutionary and biogeographic history of weasel-like carnivorans (Musteloidea). *Mol. Phylog. Evol.* 63, 745-757.

Schimidt-Kittler, N., 1981. Stammesgeschichte der marderverten Raubtiergruppen (Musteloidea, Carnivora). *Eclogae. Geolog. Helvet.* 74, 753-801.

Shettleworth, S. J., 1975. Reinforcement and the organization of behavior in golden hamsters: Hunger, environment, and food reinforcement. *J. of Exp. Psych.: Anim. Behav. Proces.* 1, 56-87.

Simpson, G. G., 1945. The principles of classification and a classification of mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 85, 1-350.

Slikas, B., 1998. Recognizing and testing homology of courtship display in storks (Aves: Ciconiiformes: Ciconiidae). *Evol.* 52, 884-893.

Tedford, R. H., Albright, B. L., Barnosky, D. A., Ismael, F., Hunt Jr, M. R., Storer, E. J., Swisher, C., Voorhies, M. R., Webb, S. D., Whistler, D. P., 2004. Mammalian biochronology of the Arikareean through Hemphillian interval (Late Oligocene through Early Pliocene epochs). In: Late Cretaceous and Cenozoic mammals of North America. Woodburne, M. O., (Ed.), New York: Columbia University Press, pp. 169-231.

Timbergen, N., 1959. Comparative studies of behavior of gulls (Laridae): a progress report. *Behav.* 15, 1-70.

Valkenburgh, B. V., Wang, X. M., Damuth, J., 2004. Cope's rule, hypercarnivory, and extinction in North American canids. *Science*. 306, 101-104.

Valkenburgh, B. V., 2007. Déjà vu: the evolution of feeding morphologies in the Carnivora. *Int. and Comp. Biol.* 47, 147-163.

Vrana, P. B., Milinkovitch, M. C., Powell, J. R., Wheeler, W. C., 1994. Higher level relationships of the arctoid Carnivora based on sequence data and total evidence. *Mol. Phylog. Evol.* 3, 47-58.

Wenzel, J. W., 1992. Behavioral homology and phylogeny. *Ann. Rev. of Ecol. System.* 23, 361-381.

Wenzel, J. W., Noll, F. B., 2006. Dados comportamentais na era genômica. *Revista de Etologia*. 8, 63-69.

Wyss, A. R., Flynn, J. J., 1993. A phylogenetic analysis and definition of the carnivora. In: Szalay, F. S., Novacek, M., McKENNA, M. (Eds.), *Mammal. Phylogeny*. Springer-Verlag, NY, pp. 32-52.

Yu, L., Li, Q., Ryder, O. A., Zhang, Y., 2004. Phylogenetic relationships within mammalian order Carnivora indicated by sequences of two nuclear DNA genes. *Molec Phylog Evol.* 33, 694-705.

Yu, L., Zhang, Y. P., 2006. Phylogeny of the caniform carnivora: evidence from multiple genes. *Gen.* 127, 65-79.

Yu, L., Liu, J., Luan, P. T., Lee, H., Lee, M., Min, M. S., Ryder, O. A., Chemnick, L., Davis, H., Zhang, Y. P., 2008. New insights into the evolution of intronic sequences of the beta fibrinogen gene and their application in reconstructing mustelid phylogeny. *Zoolog. Sci.* 25, 662-672.

Yu, L., Peng-Luan, T., Jin, W., Ryder, O. A., Chemnick, L. G., Davis, H. A., Zhang, Y. P., 2011. Phylogenetic Utility of Nuclear Introns in Interfamilial Relationships of Caniformia (Order Carnivora). *Syst. Biol.* 60, 175-187.

Yu, L., Peng, D., Liu, J., Luan, P., Liang, L., Lee, A., Lee, M., Ryder, O. A., Zhang, Y., 2011. On the phylogeny of Mustelidae subfamilies: analysis of seventeen nuclear non-coding loci and mitochondrial complete genomes. *BMC. Evol.* 11, 1-16.

Anexo 1

Etograma com 45 categorias comportamentais definido por meio da observação do comportamento de autolimpeza nos 12 taxa estudados

Algumas categorias foram fundidas por não se tratarem de autolimpeza

1. Raspar corpo no substrato (raspar_corpo_subs): O animal coça ou esfrega o corpo utilizando tronco, parede ou chão, muitas vezes ativamente.
2. Nadar (nadar): O animal nada na piscina existente no recinto.
3. Ingerir (ingerir): O animal ingere alimento ou água.
4. Social (social): O animal interage com outro(s) animal (is):brigando, brincando ou vocalizando.
5. Observação (obs): O animal permanece sentado, parado, com pouco ou nenhum movimento corporal, mantendo os olhos fixos em algum objeto ou organismo.
6. Pausa (pausa): Esta categoria foi registrada quando o animal realizava a mesma subunidade de autolimpeza mais de uma vez, seguidamente. Isto foi necessário, pois nossa análise exclui transições entre a mesma categoria e, assim, acreditamos ser importante o registro da repetição.
7. Parado (parado): O animal não apresenta nenhum movimento aparente, de qualquer parte do corpo. Foi considerado „parado“ quando o animal fez uma “pausa” por um período superior a 30 segundos.
8. Fora de visão (fdv): Esta categoria foi registrada quando o animal encontrava-se fora da visão do observador, muitas vezes escondido atrás da vegetação existente no recinto.
9. Movimento (mov): O animal realiza uma das seguintes ações: farejar, saltar, cavar, escalar, brincar sozinho e bocejar.
10. Deslocamento (desloc): O animal se desloca de um lado ao outro do recinto.
11. Chacoalhar o corpo (chaco): O animal sacode a cabeça, ou o corpo inteiro, de um lado para outro, apresentando movimentos rápidos e repetidos.
12. Limpar genitália com a boca (limpar_gen_boca): O animal apóia-se na região central da parte posterior, realiza uma curvatura dorso-ventral e flexiona o pescoço até tocar a parte genital com a língua, realizando fricções rápidas ou não.

13. Limpar cauda com a boca (limpar_cau_boca): O animal gira o corpo e cabeça para um dos lados, apoiando as patas anteriores perto da região proximal, mediana ou distal da cauda, friccionando a língua ou mordiscando a região.
14. Limpar costas com a boca (limpar_cos_boca): O animal gira o tronco e a cabeça de maneira que possa alcançar, com a boca, a região das costas. O animal pode lambe ou beliscar o local.
15. Limpar peito com a boca (limpar_pei_boca): O animal, partindo ou não da região do pescoço, lambe ou mordisca a região peitoral repetidas vezes, realizando movimentos com a cabeça.
16. Limpar pata anterior com a boca (limpar_p_a_boca): O animal, apoiado em suas patas posteriores, lambe ou mordisca a pata anterior.
17. Limpar pata posterior com a boca (limpar_p_p_boca): O animal eleva a pata posterior até a região da boca e a limpa, lambendo ou mordiscando.
18. Limpar palma com a boca (limpar_pal_boca): Com a pata anterior levantada, e com a palma virada em direção à face, o animal move a cabeça partindo de perto para distante do corpo, lambendo a palma.
19. Limpar sola com a boca (limpar_sola_boca): O animal ergue sua pata posterior e move a cabeça repetidas vezes, lambendo ou mordiscando a planta da pata.
20. Limpar face com a pata anterior (limpar_face_p_a): O animal coça ou esfregar a face utilizando a pata anterior.
21. Limpar face (limpar_face): O animal lambe a pata anterior e a passa repetidas vezes na face.
22. Lamber boca (lamber_boca): O animal lambe a região da boca repetidas vezes.
23. Limpar região abdominal com a boca (limpar_abd_boca): O animal, apoiado sobre sua parte posterior, realiza uma curvatura dorso-ventral do corpo, de modo que possa lambe ou mordiscar os pelos da região ventral.
24. Limpar região lateral com a boca (limpar_lat_boca): O animal realiza uma curvatura da cabeça e tronco e atinge a região lateral de seu corpo (flanco), lambendo ou mordiscando os pelos desta região.
25. Limpar nuca (limpar_nuca): O animal, apoiado sobre uma de suas patas posteriores, esfrega ou coça a região da nuca com a outra pata posterior.

26. Limpar lateral (limpar_lat): O animal coça ou esfrega a região lateral do corpo com uma ou ambas as patas anteriores.
27. Limpar pata anterior com a outra pata anterior (limpar_a_a): O animal, apoiado sobre ambas as patas ou até mesmo sentado, coça uma das patas anteriores com a outra pata anterior ou esfrega uma das patas anteriores na outra.
28. Limpar pata anterior com a pata posterior (limpar_a_p): O animal, apoiado sobre ambas as patas, coça uma das patas anteriores com a pata posterior ou esfrega uma das patas posteriores na anterior.
29. Limpar pata posterior com a pata anterior (limpar_p_a): O animal, apoiado sobre ambas as patas ou até mesmo sentado, coça uma das patas posteriores com a pata anterior ou esfrega uma das patas anteriores na posterior.
30. Limpar pata posterior com a outra pata posterior (limpar_p_p): O animal, apoiado sobre ambas as patas, coça uma das patas posteriores com a outra pata posterior ou esfrega uma das patas posteriores na outra.
31. Limpar abdome com pata anterior ou nadadeira anterior (limpar_abd_a): O animal coça ou esfrega região abdominal com a nadadeira, pata ou ambas as patas anteriores.
32. Limpar abdome com pata posterior ou nadadeira posterior (limpar_abd_p): O animal coça a região abdominal com a pata posterior ou, no caso dos animais aquáticos, estes esfregam as nadadeiras posteriores na região ventral do corpo.
33. Esfregar face na cauda (esf_fa_cau): O animal faz uma curvatura dorso-ventral com o corpo e esfrega a face repetidas vezes na cauda.
34. Esfregar face na pata anterior (esf_fa_a): O animal esfrega a face repetidas vezes na pata anterior.
35. Esfregar face na pata posterior (esf_fa_p): O animal esfrega a face repetidas vezes na pata posterior.
36. Esfregar face no abdômen (esf_fa_abd): O animal, curvado e deitado de costas, esfrega a face repetidas vezes na região ventral.
37. Esfregar face na lateral (esf_fa_lat): O animal, deitado e curvado, esfrega a face repetidas vezes na região lateral do corpo.

38. Coçar face com a pata ou nadadeira posterior (coçar_face): O animal apóia-se e eleva uma das patas ou nadadeiras posteriores à região da face, coçando repetidas vezes a região.
 39. Coçar cabeça com a pata ou nadadeira posterior (coçar_cab): O animal apóia-se e eleva uma das patas ou nadadeiras posteriores à região da cabeça, coçando repetidas vezes a região.
 40. Coçar pescoço com pata ou nadadeira posterior (coçar_pesc): O animal apóia-se e eleva uma das patas ou nadadeiras posteriores à região do pescoço, coçando repetidas vezes a região.
 41. Coçar costas (coçar_cos): O animal, apoiado no chão, faz uma curvatura e coça a região das costas com as patas anteriores.
 42. Coçar peito (coçar_pei): O animal, apoiado sobre ambas as patas, eleva uma das patas posteriores em direção à região ventral do corpo e coça a região peitoral.
 43. Coçar queixo (coçar_quei): O animal eleva uma das patas posteriores em direção à região do pescoço e coça repetidas vezes o queixo.
 44. Coçar região anogenital (coçar_gen): O animal apóia-se de costas e coça repetidas vezes a região genital com as patas anteriores.
 45. Coçar lateral do corpo com pata ou nadadeira posterior (coça_lat_p): O animal coça a região lateral do corpo com umas das patas posteriores.
-

Anexo 2

Números de acesso do GenBank para dados moleculares de acordo com cada táxon e cada gene mitocondrial utilizado neste estudo

Espécies	setor do gene <i>citocromo b</i>
<i>Felis silvestris catus</i>	AB004238.1
<i>Canis lupus</i>	AJ441334.1
<i>Pteronura brasiliensis</i>	AF057126.1
<i>Eira barbara</i>	AF498154.1
<i>Galictis cuja</i>	EF987754.1
<i>Mellivora capensis</i>	EF987755.1
<i>Tremarctos ornatus</i>	U23554.1
<i>Nasua nasua</i>	GQ214530.1
<i>Conepatus semistriatus</i>	JQ979136.1
<i>Otaria byronia</i>	AY377328.1
<i>Arctocephalus australis</i>	AY377329.1
<i>Arctocephalus tropicalis</i>	n/d

n/d, não disponível

5. CONCLUSÕES GERAIS

A reconstrução filogenética do grupo de interesse através de dados comportamentais e moleculares confirmou a dificuldade em estabelecer a evolução dos Caniformia. Problemas ao se tentar estabelecer o exato relacionamento entre os membros da Subordem se devem, sobretudo, a especiação recente sofrida por esses animais, bem como grande diversidade de dispersões sofridas ao longo do tempo e diversidade ecológica entre as diferentes espécies viventes.

Os cladogramas obtidos pelas análises comportamentais e moleculares mostram politomias e algumas concordâncias e/ou incongruências com trabalhos anteriores, porém as análises comportamentais resultaram em suportes satisfatórios para alguns ramos dentro da politomia, evidenciando o uso do comportamento de autolimpeza em sistemática. Os resultados moleculares obtidos foram consistentes, porém o uso do gene *citocromo b* em nossos tipos de análises pode não ser a melhor opção.

Estudos filogenéticos futuros envolvendo comportamento de autolimpeza dos caniformes mostram-se promissores, desde que haja maior coleta de dados e uma possível reanálise de categorias envolvidas, além de um melhor esclarecimento em relação a determinados comportamentos observados nos animais sociais.

Nossa pesquisa mostrou-se pioneira no sentido de tentar usar o comportamento de autolimpeza para o estabelecimento de relações de parentesco entre espécies morfologicamente tão diferentes e para o grupo de interesse. Embora os dados moleculares representem uma contribuição importante à pesquisa, é interessante se pensar nas possibilidades de uso de outras fontes biológicas para se estudar a história evolutiva dos caniformes. Perspectivas futuras envolvem o aumento do tempo de captura do comportamento de autolimpeza, o que poderá

gerar um melhor esclarecimento a respeito das categorias e também o envolvimento de um número maior de indivíduos pertencentes a outras espécies.

ANEXO A

Normas de publicação da revista *Cladistics* (Editada por Dennis Stevenson, fator de impacto: 5.043). Atualizado em fevereiro de 2014.

Os trabalhos devem estar de acordo com o seguinte esquema:

Título:

O título deve ser conciso, mas informativo e, se for o caso, deve incluir a menção de um táxon superior. Um subtítulo pode ser incluído. Nomes de táxons novos não devem ser incluídos nos títulos.

Resumo:

Todos os artigos de revisão ou artigos regulares devem ter um resumo. O resumo deve ser apresentado em uma página separada e é de grande importância, uma vez que pode ser produzido em outros lugares, e é tudo o que muitos vêem do trabalho publicado. Ele deve ter entre 100 a 200 palavras para artigos regulares. Ele deve estar em uma forma compreensível e deve ser publicado isoladamente, em conjunto com o título. Não deve incluir referências.

Nomes científicos

O uso de nomes científicos deve ser feito de acordo com a organização relevante para cada organismo. Nomes científicos completos deverão ser dados quando os organismos são mencionados pela primeira vez, com o nome do gênero sendo posteriormente abreviado pela letra inicial.

Todos os nomes de genes e *loci* devem estar em itálico; proteínas devem estar na posição vertical.

Referências

As referências devem ser citadas no texto pelo autor e data, por exemplo, Hennig (1966). Co-autores devem ser referido por et al. Se houver mais do que dois autores, a citação deve seguir o exemplo: Farris et al. (1970) A lista de referências no texto deve ser cronológica, por exemplo: Hennig,1966; Farris et al ,1970). No final do estudo, as referências devem estar em ordem alfabética de acordo com o primeiro autor citado.

As citações no texto devem ter a seguinte forma: Nelson e Platnick, 1981; Nixon, 1999). Os nomes dos co-autores devem se ligados por "e" no texto e literatura citada.

Outras informações relevantes: O artigo deve ser dividido em seções, apresentando títulos curtos. Os códigos relevantes da nomenclatura devem ser rigorosamente seguidos. O uso de unidades e símbolos deve ser apropriado (por exemplo, mm, não milímetros). Deve-se evitar colocar matrizes de dados elaborados, listas de espécies e listas de caracteres dentro do texto, mas incluí-los como anexos.