

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Ecologia**

Dissertação de Mestrado

**Mudanças ambientais e competição: o papel de fatores
bióticos e abióticos na evolução de Canidae**

Lucas Marafina Vieira Porto

**Porto Alegre
2017**

Mudanças ambientais e competição: o papel de fatores bióticos e abióticos na evolução de Canidae

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientador:

Prof. Dr. Leandro da Silva Duarte (UFRGS)

Banca Examinadora

Titulares:

Prof. Dr. Eduardo Eizirik (PUCRS)

Prof. Dr. Thales Renato Ochotorena de Freitas (UFRGS)

Prof. Dr. Marcio Pie (UFPR)

**Porto Alegre
2017**

Agradecimentos

Agradeço a minha família por todo o carinho e inspiração que me proporcionam desde a infância. Agradeço aos meus pais por todos os sacrifícios que fizeram por mim, me fazendo chegar onde cheguei. Agradeço as minhas avós, que mesmo com todas as dificuldades, sempre tinham um sorriso no rosto, como exemplo de simplicidade. Agradeço ao meu irmão, por ser um ótimo amigo que passou por tantas coisas comigo, sempre estando ao meu lado. Obrigado por me ensinarem a valorizar os estudos.

Agradeço imensamente aos meus amigos do LEFF, por terem me acolhido tão bem quando cheguei a Porto Alegre, quando tudo era tão novo para mim.

Agradeço aos meus colegas de mestrado, por compartilharem todos os momentos bons e ruins que tivemos ao longo destes dois anos, onde aprendemos muitas coisas e amadurecemos juntos.

Obrigado a todos os amigos que fiz durante o mestrado. Agradeço por serem como uma segunda família para mim, onde eu sempre pude buscar um ombro amigo e companhia para compartilhar todas as alegrias e as decepções que a vida acadêmica traz. Agradeço especialmente ao Gabriel, Thiago, Dirlle, Elisa, Arielli, Luiza, Crisla, Matheus, Rômulo, Vander, Raíssa, Guilherme, Ricardo, Pedro, Taís, Aline, Vivi e Ceará. Vocês são grandes amigos para mim, e por mais que a vida acadêmica venha a nos separar, sempre levarei comigo as recordações das viagens, trilhas, cervejas, risadas, almoços no RU, e vários outros momentos que passamos juntos.

Agradeço a Luiza, minha namorada, que me proporcionou muito carinho e conforto durante os momentos onde eu estava cheio de dúvidas e preocupações, além de sempre acreditar em mim e me depositar confiança. Obrigado por aguentar meus dengos e dividir tantos momentos bons comigo.

Agradeço ao Guilherme por ter me ajudado muito, logo quando entrei no laboratório, me dando diversas dicas para que eu conseguisse realizar minhas análises filogenéticas e desse início neste trabalho.

Agradeço imensamente ao Leandro, que com o tempo passei a considerar não apenas como orientador, mas também um amigo. Obrigado por ter tido paciência comigo e principalmente por ter confiado em mim e no meu trabalho, sempre me dando segurança quando os problemas surgiam. Obrigado também pela sua excelente orientação, sempre com ótimas sacadas que certamente me fizeram aprender muito e amadurecer bastante nestes dois anos de convívio.

Resumo

Métodos filogenéticos comparativos utilizam informações sobre as relações de ancestralidade entre as espécies para testar hipóteses evolutivas. Neste contexto, a Reconstrução de Caracteres Ancestrais (RCA) pode nos esclarecer muito a respeito dos organismos já extintos. A família Canidae apresenta variada gama de comportamentos, distribuída por quase todo o planeta. Sua rica história fóssil demonstra processos que nos dão pistas sobre a evolução e diversificação destes comportamentos ao longo de 46 Ma. Entender a importância de fatores bióticos e abióticos na evolução de carnívoros tem sido um dos grandes desafios em estudos macroevolutivos nos últimos anos. Aqui foram abordados aspectos evolutivos de Canidae com o intuito de demonstrar o papel de fatores ambientais e comportamentais, além de interações, na diversificação do grupo. Para isso, construiu-se a filogenia para todas as espécies vivas de canídeos e uma espécie recentemente extinta. No total, 37 espécies foram incluídas na árvore filogenética. Foram obtidos 23 marcadores moleculares usados na construção da filogenia. Utilizou-se também 68 caracteres morfológicos. A construção da filogenia foi feita utilizando inferência Bayesiana. O modelo evolutivo escolhido nessa etapa foi GTR + G + I. Também foi utilizado o algoritmo de *Monte Carlo Markov Chain* (MCMC) para obter a distribuição *a posteriori*, com 50×10^6 iterações. A datação da árvore filogenética foi feita através do método de *Penalized Likelihood*, onde foram utilizados 11 registros fósseis de nós conhecidos da filogenia. Após a filogenia feita, obteve-se os dados comportamentais para realização da RCA a respeito dos quatro atributos avaliados. As quatro reconstruções foram criadas com inferência em 1000 árvores cada. Todas análises de RCA foram realizadas com o método de parcimônia. Com o intuito de entender de que maneira os atributos se correlacionam ao longo da filogenia, foi calculada a correlação de Pagel além de *Phylogenetic Generalized Least Squares* (PGLS). A topologia obtida aqui foi diferente das demais árvores filogenéticas já criadas para Canidae. Além disso, a calibração temporal indica que o *split* entre Canini e Vulpini se deu há 12.6 Ma, diferente do que é apontado na literatura. A respeito das reconstruções, as linhagens ancestrais dos lobos e das raposas desenvolveram o hábito de viver em áreas abertas. Já os canídeos sulamericanos desenvolveram preferência por áreas florestais. Em relação à dieta, o ancestral de Caninae, assim como os ancestrais diretos das tribos Canini e Vulpini, apresentavam comportamento alimentar hipocarnívoro. O ancestral de todos os canídeos existentes hoje apresentou baixa organização social, enquanto que os lobos desenvolveram alto comportamento social, coincidindo com o surgimento do hábito hipercarnívoro. A respeito do tamanho corporal, o nó ancestral a todos os canídeos possuía tamanho médio, e as duas tribos que surgiram a partir desta linhagem divergiram seus tamanhos. O teste de Pagel demonstrou que há correlação entre dieta e socialidade, mostrando que a alimentação levou a modificações no comportamento Social. Os PGLSs mostram que três tipos de modelos evolutivos explicam as mudanças nos atributos ao longo do tempo. As mudanças no uso de habitat dos canídeos acompanharam as mudanças climáticas no planeta ao longo dos últimos 13 Ma. Já a alimentação meso e hipocarnívora dos sulamericanos se deve ao cenário encontrado na América do Sul ao chegarem, e como reflexo, não desenvolveram alto grau de socialidade. Os resultados sugerem que raposas tentaram evitar a competição com os lobos para não sobrepuem seus nichos, sendo o fator fundamental para sua diversificação.

Palavras-chave: Macroevolução, habitat, dieta, socialidade, reconstrução de caracteres ancestrais, métodos filogenéticos comparativos

Abstract

Phylogenetic comparative methods use information on ancestral relationships between species to test evolutionary hypotheses. In this context, the Ancestral Characters Reconstruction (ACR) can shed light on the already extinct organisms. The Canidae family has a wide range of behaviors, distributed throughout most of the planet. Its rich fossil history demonstrates processes that give us clues about the evolution and diversification of these behaviors over 46 Ma. Understanding the importance of biotic and abiotic factors in the evolution of carnivores has been one of the major challenges in macroevolutionary studies in recent years. Here we discuss the evolutionary aspects of Canidae with the purpose of demonstrating the role of environmental and behavioral factors, as well as interactions, in the diversification of the group. For this, the phylogeny was constructed for all living species of canids and a recently extinct species. In total, 37 species were included in the phylogenetic tree. A total of 23 molecular markers were used to construct the phylogeny. We also used 68 morphological characters. The construction of the phylogeny was done using Bayesian inference. The evolutionary model chosen in this step was GTR + G + I. The *Monte Carlo Markov Chain algorithm* (MCMC) was also used to obtain the posterior distribution, with 50×10^6 iterations. The phylogenetic tree was dated using the Penalized Likelihood method, where eleven fossil records of nodes known from the phylogeny were used. After the phylogeny, the behavioral data were obtained to perform the ACR in relation to the four attributes evaluated. The four reconstructions were created with inference in 1000 trees each. All ACR analyzes were performed using the parsimony method. In order to understand how the attributes correlate throughout the phylogeny, the Pagel correlation was calculated in addition to Phylogenetic Generalized Least Squares (PGLS). The topology obtained here was different from the other phylogenetic trees already created for Canidae. In addition, the time calibration indicates that the split between Canini and Vulpini occurred 12.6 Ma ago, different from what is pointed out in the literature. Concerning reconstructions, the ancestral lineages of wolves and foxes have developed the habit of living in open areas. South American canids have developed preference for forest areas. Regarding diet, Caninae's ancestor, as well as the direct ancestors of the Canini and Vulpini tribes, presented hypocarnivorous feeding behavior. The ancestor of all canids present today had a low social organization, while the wolves developed a high social behavior, coinciding with the emergence of the hypercarnivore habit. Regarding the body size, the ancestral node to all canids had medium size, and the two tribes that have emerged from this lineage diverged their sizes. The Pagel test demonstrated that there is a correlation between diet and sociality, showing that diet led to changes in social behavior. The PGLSs show that three types of evolutionary models explain changes in attributes over time. The changes in the habitat use of the canids have accompanied the climatic changes in the planet during the last 13 Ma. The meso and hypocarnivorous feeding of the South Americans is due to the scenario found in South America when they arrived, and as a reflex, they did not develop high degree of Sociality. The results suggest that foxes tried to avoid competition with the wolves to avoid overlapping their niches, being the fundamental factor for their diversification.

Keywords: Macroevolution, habitat, diet, sociality, ancestral characters reconstruction, phylogenetic comparative methods

Sumário

1. Introdução Geral	1
1.1- Métodos comparativos.....	1
1.2- História evolutiva de Canidae.....	2
1.2.1- Surgimento e diversificação.....	2
1.2.2- Relações filogenéticas.....	3
1.2.3- Atributos ecológicos de Canidae.....	4
1.2.3.1- Uso de habitat.....	5
1.2.3.2- Dieta.....	5
1.2.3.3- Socialidade.....	6
1.3 - Lacunas no conhecimento sobre a ecologia evolutiva de Canidae.....	6
1.3.1- Objetivos.....	7
1.3.2- Hipóteses.....	7
2- Material e Métodos	8
2.1- Construção da árvore filogenética.....	8
2.1.1- Compilação e preparação dos dados.....	9
2.1.2- Inferência Bayesiana.....	11
2.1.3- Calibração temporal.....	12
2.2- Reconstrução de Caracteres Ancestrais (RCA).....	12
2.2.1- Compilação de atributos comportamentais.....	12
2.2.2- Reconstrução.....	13
2.3- Correlação entre os atributos.....	15
2.3.1- Correlação de Pagel.....	15
2.3.2- Phylogenetic Generalized Least Squares (PGLS).....	16
3- Resultados	17
3.1- Árvore filogenética.....	17
3.2- Reconstrução de caracteres ancestrais.....	20
3.2.1- Habitat.....	20
3.2.2- Dieta.....	21
3.2.3- Socialidade.....	21
3.2.4- Tamanho corporal.....	22
3.3- Correlação de Pagel.....	24
3.4- PGLS.....	25
4- Discussão	27
5- Conclusão	33
6- Referências	33
Apêndice	39

1. Introdução Geral

1.1- Métodos comparativos

Os Métodos Filogenéticos Comparativos (MFCs) são aqueles que utilizam informações sobre as relações de ancestralidade entre as espécies para testar hipóteses evolutivas, focando não apenas em espécies existente na história recente, como também em táxons extintos (Harvey & Pagel 1991; Pennell & Harmon 2013). O ponto principal para o desenvolvimento dessa ampla gama de MFCs vem através de previsões teóricas e observações empíricas, onde espécies intimamente relacionadas são mais prováveis de serem semelhantes do que espécies distantes filogeneticamente. Isso fez com que em estudos comparativos, espécies não possam ser tratadas como pontos independentes, através de nós ancestrais (Felsenstein 1985; Garland & Ives 1999). Nas últimas décadas, há cada vez mais estudos comparativos interespecíficos, e atualmente os bancos de dados comparativos são analisados continuamente por métodos filogenéticos (Eggleton & Vane-Wright 1994; Losos & Miles 1994; Martins & Hansen 1997; Garland & Ives 2000). Entre esses métodos, encontram-se muitos que usam informações filogenéticas de maneira puramente estatística, dando pouca atenção para o real sentido evolutivo que tais métodos representam (Grafen 1989; Harvey & Pagel 1991; Garland et al. 1993; Miles & Dunham 1992; Schluter et al. 1997; Pagel 1997).

Atualmente existem dois grupos nos quais os MFCs podem ser divididos: aqueles que inferem a história evolutiva de caracteres ao longo da filogenia, e aqueles que inferem correlações entre atributos ao longo do tempo, fazendo o uso de correções filogenéticas (Maddison et al. 2007). Dentre eles, os mais importantes são: *Ancestral Character Reconstruction* (ACR), *Phylogenetically Independent Contrasts* (PICs) e *Phylogenetic Generalized Least Squares* (PGLS), que servem como importantes ferramentas no entendimento de como processos evolutivos agem na diversificação das linhagens (Felsenstein 1985; Grafen 1989; Martins & Hansen 1997).

Para entender a evolução, não basta apenas ter o conhecimento sobre as características das espécies atuais, mas também de seus ancestrais. Mesmo que os registros fósseis contenham muito sobre a história dos organismos, nem sempre estão disponíveis para muitas espécies e tipos de atributos (Swofford & Maddison 1987; Maddison & Maddison 1992). Dentre as abordagens citadas anteriormente, a Reconstrução de Caracteres Ancestrais (RCA) é a única que permite inferir o estado de um atributo em linhagens ancestrais a partir de informações das espécies atuais.

Analisar dados comparativos em um contexto filogenético através de MFCs permite avaliar processos históricos envolvidos na evolução fenotípica, onde conseguimos relacionar a evolução de dois ou mais atributos ao longo da história de clados, entender tanto sobre padrões gerados quanto sobre o tempo na diversificação das linhagens, e assim distinguir entre mecanismos adaptativos e não-adaptativos que atuaram neste processo (Omland 1999; Cai et al. 2004, Pagel 1999a, Diniz-Filho 2001).

1.2- História evolutiva de Canidae

1.2.1- Surgimento e diversificação

Entre as famílias vivas atualmente da ordem Carnivora, Canidae é a mais antiga. Sua história teve início na América do Norte há cerca de 46 milhões de anos (Ma) no final do Eoceno, sendo originada a partir de um grupo arcaico de carnívoros, a família Miacidae (Wang et al. 2008). Foi também neste continente que ocorreu a primeira diversificação do grupo, pelo que indica a rica história fóssil das espécies, onde através de eventos de dispersão sucessivos, três subfamílias se originaram até o final do Oligoceno, Hesperocyoninae, Borophaginae e Caninae (Wang et al. 2008; Wang & Tedford 2007).

As duas primeiras subfamílias foram endêmicas da América do Norte até sua extinção na metade do Mioceno e início do Pleistoceno respectivamente. Depois de 30 Ma isolada, a família Canidae teve sua dispersão pelo mundo através da subfamília Caninae (Wang & Tedford 2007; Sillero-Zubiri et al. 2004; Geffen et al. 1996). Seu processo de dispersão foi possível pelo surgimento do estreito de Bering permitindo que Caninae atingisse a Eurásia e posteriormente a África através do gênero *Eucyon* (Wang & Tedford 2007). E posteriormente, o surgimento do Istmo do Panamá permitiu sua dispersão para a América do Sul. Estes eventos proporcionaram aos canídeos o contato com novos recursos e ambientes, levando a uma grande radiação adaptativa no grupo (Berta 1987).

Nessa época, o clima no planeta entrou em um processo longo de resfriamento, há cerca de 33 Ma (Wang et al. 2008; Potter & Szatmari 2009). Essa mudança global foi desencadeada por intensos processos tectônicos, que culminaram no fechamento de canais equatoriais de circulação de correntes marítimas, o que levou ao isolamento dos oceanos. Esta mudança no fluxo dos oceanos deu início à formação de uma camada de gelo sobre a Antártida, fazendo com que a temperatura do planeta caísse cerca de 5°C em um intervalo de um milhão de anos (Potter & Szatmari 2009; Zachos et al. 2001).

Esse resfriamento gradual do planeta influenciou sua vegetação, onde as grandes florestas de angiospermas foram progressivamente sendo substituídas por florestas de gimnospermas. Posteriormente, com o clima ficando cada vez mais frio e seco, as florestas ficaram fragmentadas, dando oportunidade para o surgimento de áreas abertas, que mesmo em pouca proporção, começavam a fazer parte da paisagem no momento (Wang et al. 2008; Potter & Szatmari 2009; Eronen et al. 2012).

Após esse primeiro momento de resfriamento do planeta, a temperatura global teve um acréscimo há 15 Ma, período conhecido como Médio-Mioceno ótimo termal. Porém ao final desse período, novamente houve um declínio na temperatura, gerado pela formação de outra camada de gelo sobre a Antártida, o que levou a sérias implicações a comunidade vegetal (Potter & Szatmari 2009; Zachos et al. 2001). Isto fez com que áreas abertas se tornassem a vegetação dominante no hemisfério norte há cerca de oito Ma. Fato que foi acompanhado por um *turnover* na comunidade vegetal, onde as plantas de metabolismo C3 foram substituídas por plantas C4, mais eficientes em ambientes com baixas concentrações de CO₂. Esta mudança de vegetação teve grande influência na fauna, principalmente nas guildas de herbívoros, onde os *browsers* foram substituídos por *grazers* (Strömberg 2005; Strömberg, 2011; Zachos et al. 2001).

1.2.2- Relações filogenéticas

Analisar as relações de descendência entre os indivíduos da família Canidae não é algo relativamente novo. Análises evolutivas em Canidae vêm sendo realizadas utilizando desde abordagens filogenéticas clássicas, baseadas em similaridades morfológicas entre espécies (Tedford et al. 1995, 2009) até análises moleculares (Wayne et al. 1997, Bininda-Emonds et al. 1999, Zrzavy & Ricánková 2003, Bardeleben et al. 2005, Lindblad-Toh et al. 2005, Perini et al. 2010, Fuentes-González & Muñoz-Durán 2012 e Nyakatura & Bininda-Emonds 2012).

Embora congruentes até certo ponto, essas diferentes abordagens geram contradições sobre a posição das espécies na topologia das árvores construídas. Há diversas discordâncias em relação a esses trabalhos, a começar pelo número de espécies de canídeos atuais a serem consideradas nas filogenias, devido às confusões que o uso de determinados marcadores moleculares ou técnicas de construção filogenética vêm acarretar, muitas vezes considerando espécies distintas como subespécies e vice-versa. Soma-se a isso o fato de várias espécies possuírem poucos dados moleculares disponíveis em bases de dados, principalmente devido ao baixo tamanho populacional e

dificuldade no sequenciamento de determinados marcadores. Trabalhos como o de Wayne et al. (1997) consideram 23 espécies na construção de sua árvore, enquanto Perini et al. (2010) definem 27, Bardeleben et al. (2005) consideram 36 espécies, Fuentes-González & Muñoz-Durán (2012) e Nyakatura & Bininda-Emonds (2012) consideram 35 espécies. Por fim, Bininda-Emonds et al. (1999) e Zrzavy & Ricánková (2003) consideram 34 espécies.

Um efeito colateral dessa divergência entre o real número de canídeos, a escassez de dados para algumas espécies, e diferentes técnicas para estabelecer suas relações de parentesco, é o fato das árvores que temos hoje apresentam baixos valores de nós, sendo estes os valores que trazem confiabilidade a estrutura da filogenia criada. Por isso que ainda não se sabe com total certeza as relações entre e dentro dos grandes clados de Canidae (Wang et al. 2004; Wayne et al. 1997). Por exemplo, não se tem clareza sobre as relações entre os clados mais basais de canídeos, *Urocyon*, *Otocyon* e *Nyctereutes*. Também não se entende ao certo monofilia no grupo dos lobos devido à presença dos gêneros *Cuon* e *Lycaon* inseridos entre o gênero *Canis*, e nem das relações entre o clado dos canídeos sulamericanos, além das posições terminais do gênero *Vulpes* (Wayne et al. 1997; Bininda-Emonds et al. 1999; Zrzavy & Ricánková 2003; Bardeleben et al. 2005; Lindblad-Toh et al. 2005; Perini et al. 2010; Fuentes-González & Muñoz-Durán 2012; Nyakatura & Bininda-Emonds 2012).

1.2.3- Atributos ecológicos de Canidae

Atualmente a família Canidae é composta por 36 espécies existentes no planeta, agrupadas em três diferentes clados, os lobos-verdadeiros, as raposas e os canídeos sulamericanos. Sua distribuição é bem ampla, ocupando todos os continentes com exceção da Antártida. Em relação aos seus aspectos morfológicos, a variação de peso, por exemplo, se distribui desde espécies com menos de 1kg, até espécies com mais de 60kg (Sillero-Zubiri et al. 2004; Geffen et al. 1996; Wang et al. 2008; Wilson & Mittermeier 2009).

Em relação a aspectos comportamentais, a maioria dos canídeos com tamanho corporal pequeno apresenta hábito noturno, diferente dos canídeos maiores, cuja sua atividade é diurna. Todos os canídeos existentes hoje são oriundos de apenas uma subfamília, das três que surgiram ao longo da história, a subfamília Caninae. E pelo fato deste clado ter sobrevivido todo esse tempo, as espécies apresentam hoje uma grande variedade de atributos comportamentais que refletem os processos de radiação

adaptativa que ocorreram nas linhagens ancestrais (Sillero-Zubiri et al. 2004; Wang et al. 2008; Wilson & Mittermeier 2009). Alguns destes atributos são o foco deste estudo.

1.2.3.1- Uso de habitat

Embora sua história demonstre que os canídeos evoluíram em áreas abertas, sua grande flexibilidade os permite viver em diversos tipos de ambientes ao longo do planeta. Canídeos são encontrados em florestas tropicais, desertos, savanas, bosques, montanhas e até mesmo em cidades (Sillero-Zubiri et al. 2004; Wilson & Mittermeier 2009).

Apesar de estarem distribuídas em diferentes tipos de ambientes, algumas espécies são generalistas em relação a habitar mais de um ambiente durante sua vida, como exemplo da raposa-vermelha e do coiote, que devido a sua plasticidade comportamental, conseguem sobreviver e prosperar em diferentes ambientes, inclusive em locais com intensa atividade antrópica. Pelo fato da família Canidae ter uma ampla distribuição pelo planeta, populações de algumas espécies vêm a apresentar sobreposição geográfica, porém sua alta plasticidade comportamental os permite particionar seus nichos e coexistir (Vieira & Port, 2007; Geffen et al. 1996; Jácamo et al. 2004).

1.2.3.2- Dieta

Como dito anteriormente, canídeos desenvolveram ao longo de sua história adaptações que os proporcionaram ter grande flexibilidade em suas dietas. Isto torna o grupo distribuído homogeneamente ao longo de um gradiente entre hipo, meso e hipercarnivoria, sendo a dieta mais versátil dentre todos os carnívoros (Wilson & Mittermeier 2009).

Sua alimentação pode ser relacionada muitas vezes com seu tamanho corporal, pois a maioria das espécies pequenas são generalistas oportunistas, consumindo pequenos mamíferos, répteis, anfíbios, insetos, frutos e carcaças. Já as espécies maiores são mais carnívoras, que caçam presas muitas vezes maiores do que elas mesmas. Mas há exceções, como é o caso do lobo-guará, que apesar do tamanho corporal elevado, sua alimentação é baseada em frutos (Jácamo et al. 2004; Sillero-Zubiri et al. 2004).

Avaliando o gasto de energia que a alimentação dos canídeos requer, as espécies maiores não conseguem se manter caçando presas pequenas, pelo contrário, elas necessitam caçar grandes presas. Para isso, vivem em grandes grupos, onde a

organização social os proporciona mecanismos para tal, gerando maior sucesso na caça. Já as demais espécies, tanto frugívoras quanto generalistas, despendem mais tempo durante seu forrageamento, deslocando-se por grandes áreas em busca dos recursos em maior abundância (Muñoz-Durán & Fuentes 2012; Geffen et al. 1996; Schoener 1974).

1.2.3.3- Socialidade

A característica mais notável na família Canidae é seu comportamento social. Há um gradiente de socialidade entre as espécies, onde há aquelas solitárias como alguns canídeos sul-americanos, que formam pares apenas na época reprodutiva. Também há espécies que formam pequenos grupos com baixa organização social, como as raposas, onde os integrantes muitas vezes são seus filhotes ou irmãos do par dominante. E por fim, existem os canídeos com alta organização social, os lobos, formando grupos que podem chegar a 30 indivíduos, com distribuições de funções entre os mesmos (Kleiman 1967). Esta capacidade de formar grupos requer complexos processos de colaboração entre os indivíduos (Dunbar 1998). Isto torna os canídeos um grupo de destaque entre os carnívoros, pois tal comportamento permitiu que algumas linhagens desenvolvessem a capacidade de caçar grandes presas, percorrendo extensas distâncias para perseguir seu alimento e armar emboscadas, o que tornou a caça mais eficiente. (Wang & Tedford 2007; Macdonald 1983).

Essa alta capacidade social está confinada apenas no clado dos lobos verdadeiros, dentro da tribo Canini. E como comportamentos não ficam preservados em registros fósseis, apenas especulações podem ser feitas, mas acredita-se que tal comportamento tenha surgido mais recentemente na história de milhões de anos do clado (Wang & Tedford 2007; Van Valkenburgh 2007; Macdonald 1983).

1.3 - Lacunas no conhecimento sobre a ecologia evolutiva de Canidae

Diante desse cenário apresentado aqui, fica evidente que há sérias problemáticas envolvidas que implicam em barreiras quando tentamos estudar o passado da família Canidae. Isto porque os métodos para as devidas análises necessitam de relações filogenéticas bem definidas entre as espécies (Harvey & Pagel 1991; Pennell & Harmon 2013), algo que ainda estamos distantes.

Além disso, o que se sabe sobre como o comportamento dos canídeos vem se modificando desde sua origem até a atualidade, e é baseado em análises de estruturas preservadas em registros fósseis (Silvestro et al. 2015; Slater 2015; Van Valkenburgh

1999; Pardi & Smith 2016; Anderson & Werdelin 2003; Van Valkenburgh 2007; Figueirido et al. 2015), o que não é ruim, pelo contrário, é a partir destas informações que conseguimos saber boa parte de sua história. Porém, inferir como atributos comportamentais evoluíram, como dieta, uso de habitat e socialidade, apenas em registros fósseis, se torna uma tarefa quase que impossível, pois comportamento não fica preservado em rochas (Wang & Tedford 2007). Apesar de haver uma ampla gama de estudos descrevendo o estado ancestral de diversos atributos, todos focam apenas nas em registros fósseis, negligenciando a maneira que estes mesmos atributos se manifestam nas espécies atuais.

E por fim, o entendimento de como atributos se relacionam, um em função de outro, não é a prova definitiva de como mecanismos evolutivos ocorrem, porém oferecem fortes indícios de processos biológicos que permeiam esses atributos. Dependendo da maneira como essa influência se dá, pode-se até mesmo inferir coevolução entre caracteres ao longo da história evolutiva (Paradis et al. 1998; Purvis et al. 2000; Pagel 2005). Diversos trabalhos que focam no estado ancestral de atributos exploram apenas um único fenótipo, de forma independente, sem considerar outras características que estão se modificando ao mesmo passo, e que poderiam elucidar bem mais os motivos pelo qual isso ocorre (Casewell et al. 2012; Brischoux et al. 2010).

1.3.1- Objetivos

Este trabalho teve três principais objetivos, buscando elucidar alguns aspectos sobre a história evolutiva da família Canidae. O primeiro objetivo foi esclarecer como são as relações de parentesco entre todos os canídeos existentes hoje no planeta. O segundo objetivo foi inferir como o tipo de alimentação, a forma de uso de habitat, a socialidade e o tamanho corporal evoluíram ao longo da árvore filogenética criada. E por fim, o terceiro objetivo foi demonstrar como estes atributos avaliados se correlacionam durante a história evolutiva de Canidae, verificando se mudanças em determinado nó da árvore influenciaram no estado de outros atributos, e quais foram as consequências desta influência durante a diversificação dos clados.

1.3.2- Hipóteses

Frente ao cenário de mudanças climáticas e ambientais que o planeta passou nos últimos 13 Ma, foram formuladas três hipóteses a respeito da maneira pela qual acredita-se que a família Canidae se comportou neste período (Tabela 1).

Tabela 1. Hipóteses que foram testadas nesse trabalho, mostrando as predições esperadas baseadas no processo histórico apresentado.

Hipótese	Predição	Evidência	Referências
Hipótese 1: A utilização de habitat se modificou de acordo com as mudanças climáticas.	I - Linhagens ancestrais apresentarão preferência às áreas abertas.	Entre o Mioceno e Plioceno, ocorreram diversos processos tectônicos que mudaram a circulação dos oceanos. Isto guiou a terra à um intenso regime de mudanças climáticas, levando grande parte do planeta a um clima frio e seco. Estas condições fizeram com que grandes florestas de Angiospermas começassem a ficar esparsas, sendo gradativamente substituídas por áreas abertas. Porém, no continente sulamericano, a temperatura não teve um grande decaimento, proporcionando a manutenção de grandes áreas florestais.	Eronen et al. 2012; Figueirido et al. 2015; Janis et al. 1993; Salzmann et al. 2011; Strömberg 2005; Wang et al. 2008.
	II - Enquanto se aproximam da topologia, linhagens que viviam em áreas frias irão apresentar preferências por ambientes abertos. Enquanto aquelas que migraram para áreas mais quentes, apresentarão hábitos mais florestais.		
Hipótese 2: Os canídeos adaptaram suas dietas para obtenção de recursos disponíveis nos novos tipos de ambientes que surgiram.	I - Com o soerguimento do Istmo do Panamá, a linhagem de Canini que migrou para a América do Sul permanecerá generalista.	Com os soerguimentos do Estreito de Bering e Istmo do Panamá, os canídeos, que antes estavam isolados nas grandes planícies norte americanas, puderam colonizar outras regiões do planeta, com novos recursos a serem explorados. O clima no hemisfério norte e na África era muito similar, e a grande maioria das presas disponíveis eram ungulados de grande porte. Porém, na América do Sul, ainda existiam grandes florestas.	Figueirido et al. 2015; Janis et al. 1993; Salzmann et al. 2011; Strömberg 2005; Wang et al. 2008; Zachos et al. 2001.
	II - Já a linhagem de Canini, que originou os lobos, permanecerá nas áreas abertas do hemisfério norte, desenvolvendo hábito hipercarnívoro.		
Hipótese 3: A socialidade é um reflexo tanto das mudanças no tipo de alimentação, quanto no habitat.	I - Maior grau de socialidade surgirá em linhagens com hábito hipercarnívoro.	O resfriamento do planeta levou ao surgimento de áreas abertas, sendo um ambiente favorável ao desenvolvimento do comportamento de perseguições a grandes distâncias. Porém, no continente sulamericano, o cenário era diferente e paisagem dominante era florestal.	Andersson 2005; Dunbar 1998; Janis et al. 1993; Macdonald 1983; Strömberg 2005; Wang et al. 2008.
	II - Nós com maior socialidade também serão relacionados a grandes planícies abertas.		

2- Material e Métodos

2.1- Construção da árvore filogenética

2.1.1- Compilação e preparação dos dados

Para atender ao primeiro objetivo do trabalho, foi construída uma árvore filogenética com todas as espécies de Canidae atuais. Primeiramente chegou-se a um consenso do número de canídeos a serem considerados, que realmente são espécies distintas e não subespécies. Foram definidas 37 espécies na filogenia (Tabela 2), das quais 36 são existentes na atualidade, além de uma espécie fóssil, *Dusicyon australis*, que por ter sido extinta na história recente (1876) (Flannery & Schouten 2001), também foi inserida na montagem da árvore. Além disso, dentre as 37 espécies, há uma nova espécie, *Canis anthus*, que foi separada de *Canis aureus* (Koepfli et al. 2015). Os dados moleculares para essa nova espécie foram cedidos pelos autores do artigo. Durante a construção filogenética, utilizou-se o Panda-gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) como grupo externo.

Após esse delineamento, foram obtidos 23 marcadores moleculares através do *Genbank* para o máximo de espécies possível. O critério pela busca destes dados se deu pela informação que cada uma representa sobre a história evolutiva do grupo, tanto da história mais antiga, quanto a mais recente. Dentre estes marcadores, 20 são nucleares e três mitocondriais (Tabela 3). Como base para obtenção das sequências, foram utilizados os trabalhos de Lindblad-Toh et al. (2005), Bardeleben et al. (2005) e Wayne et al. (1997), também foram realizadas buscas na literatura e em bases de dados com o intuito de obter novos marcadores moleculares disponíveis. Os números de identificação dos marcadores estão disponíveis na Tabela 4 (Apêndice).

Cada marcador foi manipulado no *software MEGA 6* (Tamura et al. 2013), e foram alinhados de forma independente no servidor *MAFFT*. Posteriormente, cada alinhamento foi inspecionado visualmente no *software MESQUITE* (Maddison & Maddison 2011), onde as partes iniciais e finais das sequências foram cortadas para cada espécie, enquanto que os *gaps* no interior dos alinhamentos não foram alterados. Todas os marcadores alinhados foram concatenados pelo *software FASconCAT* (Kück & Meusemann 2010), gerando uma matriz de dados moleculares.

Pelo fato de que algumas espécies possuíam mais marcadores moleculares disponíveis do que outras, o que poderia causar algum viés na construção filogenética, optou-se por utilizar também dados morfológicos de todos os canídeos, para compensar este fato. Os atributos morfológicos das espécies foram obtidos dos trabalhos de Tedford et al. (1995) e Zrzavy & RicanKova (2004), contabilizando 68 caracteres morfológicos representando estruturas do crânio dos canídeos. Estes dados foram

adicionados juntamente com a matriz de dados moleculares, resultando em uma matriz mista, com 24 partições (23 moleculares e uma morfológica), totalizando 15.946 caracteres informativos. Dados moleculares e morfológicos faltantes foram codificados na matriz com o símbolo “?”, enquanto que gaps entre os marcadores foram codificados com o símbolo “-”.

Tabela 2. Lista das 37 espécies de canídeos incluídos no estudo, juntamente com seus nomes populares, suas áreas de distribuição pelo planeta e o descritor de cada espécie.

Espécie	Nome popular	Distribuição	Descritor
<i>Canis adustus</i>	Side-striped jackal	África	Sundevall, 1847
<i>Canis aureus</i>	Eurasian-golden jackal	Europa e Ásia	Linnaeus, 1758
<i>Canis anthus</i>	African-golden wolf	África	Cuvier, 1820
<i>Canis lupus</i>	Grey wolf	Hemisfério norte	Linnaeus, 1758
<i>Canis latrans</i>	Coyote	América do Norte e Central	Say, 1823
<i>Canis mesomelas</i>	Black-backed jackal	África	Schreber, 1775
<i>Canis rufus</i>	Red wolf	América do Norte	Audubon & Bachman, 1851
<i>Canis simensis</i>	Ethiopian wolf	África	Rüppell, 1840
<i>Cuon alpinus</i>	Dhole	Ásia	Pallas, 1811
<i>Lycaon pictus</i>	African wild dog	África	Temminck, 1820
<i>Nyctereutes procyonoides</i>	Raccoon dog	Europa e Ásia	Gray, 1834
<i>Vulpes bengalensis</i>	Indian fox	Ásia	Shaw, 1800
<i>Vulpes cana</i>	Blanford's fox	Ásia	Blanford, 1877
<i>Vulpes chama</i>	Cape fox	África	A. Smith, 1833
<i>Vulpes corsac</i>	Corsac fox	Ásia	Linnaeus, 1768
<i>Vulpes ferrilata</i>	Tibetan fox	Ásia	Hodgson, 1842
<i>Vulpes macrotis</i>	Kit fox	América do Norte	Merriam, 1888
<i>Vulpes pallida</i>	Pale fox	África	Cretzschmar, 1826
<i>Vulpes rueppellii</i>	Rüppel's fox	África e Ásia	Schinz, 1825
<i>Vulpes velox</i>	Swift fox	América do Norte	Say, 1823
<i>Vulpes vulpes</i>	Red fox	Hemisfério norte	Linnaeus, 1758
<i>Vulpes zerda</i>	Fennec fox	África	Zimmermann, 1780
<i>Vulpes lagopus</i>	Arctic fox	Hemisfério norte	Linnaeus, 1758
<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	Grey fox	América do Norte e Central	Schreber, 1775
<i>Urocyon littoralis</i>	Island fox	América do Norte	Baird, 1857
<i>Otocyon megalotis</i>	Bat-eared fox	África	Desmarest, 1822
<i>Atelocynus microtis</i>	Small-eared zorro	América do Sul	Sclater, 1883
<i>Cerdocyon thous</i>	Crab-eating fox	América do Sul	Linnaeus, 1766
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	Maned wolf	América do Sul	Illiger, 1815
<i>Dusicyon australis</i> †	Falkland Island wolf	América do Sul	Kerr, 1792
<i>Lycalopex culpaeus</i>	Culpeo	América do Sul	Molina, 1782
<i>Lycalopex fulvipes</i>	Darwin's fox	América do Sul	Martin, 1837
<i>Lycalopex griseus</i>	South American grey fox	América do Sul	Gray, 1837
<i>Lycalopex gymnocercus</i>	Pampas fox	América do Sul	G. Fischer, 1814
<i>Lycalopex sechurae</i>	Sechura fox	América do Sul	Thomas, 1900
<i>Lycalopex vetulus</i>	Hoary fox	América do Sul	Lund, 1842
<i>Speothos venaticus</i>	Bush dog	América do Sul	Lund, 1842

Tabela 3. Lista dos 23 marcadores moleculares utilizados na construção filogenética, indicando os seus respectivos tipos.

Marcador	Tipo
APOB 1	Nuclear
APOB 2	Nuclear
BDNF	Nuclear
BRCA1	Nuclear
CH14	Nuclear
CH21	Nuclear
CH24	Nuclear
Nicotinic alpha polypeptide 1	Nuclear
Carbohydrate sulfotransferase 12	Nuclear
CMKOR1	Nuclear
Cytochrome P450	Nuclear
Feline sarcoma protooncogene gene	Nuclear
Growth factor receptor	Nuclear
Growth hormone receptor	Nuclear
RAG1	Nuclear
TMEM20	Nuclear
TRSP	Nuclear
VANGL2	Nuclear
Vitronectin gene	Nuclear
Von Willebrand factor	Nuclear
COI	Mitochondrial
COII	Mitochondrial
CYTB	Mitochondrial

2.1.2- Inferência Bayesiana

Para a construção da árvore filogenética foi utilizado o *software Mr. Bayes* (Ronquist & Huelsenbeck 2003), através de estatística bayesiana. O modelo evolutivo escolhido foi GTR + G + I, indicado para o conjunto de marcadores pelo *software MEGA*. Também foi utilizado o algoritmo de *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) para obter a distribuição *a posteriori*, onde duas árvores foram geradas independentemente com quatro cadeias cada. O número de iterações foi definido em 50×10^6 , onde foram obtidas 500 amostras de árvores pela distribuição *a posteriori* a cada ciclo, enquanto que o diagnóstico da inferência filogenética foi gerado a cada 5.000 gerações.

Adotou-se o desvio padrão para a divisão das frequências como ≤ 0.001 . Além disso, para verificar se a árvore gerada atingiu a convergência, foi realizada uma

inspeção visual pelo *software TRACER* 1.6 (Rambaut et al. 2014), onde 20% das amostras foram removidas pelo *burn-in*. Com isso, a árvore final foi obtida através da probabilidade *a posteriori* de 20×10^6 árvores ($10 \times 10^6 * 2$ cadeias independentes).

2.1.3- Calibração temporal

Após a construção da árvore ter sido finalizada, realizou-se a calibração temporal da mesma através do método de *Penalized-likelihood*. Este método permite contornar os problemas relacionados à estabilidade na estimativa de parâmetros, o que surge quando a probabilidade é fixa, dificultando as estimativas por *maximum-likelihood*. Com isso, este método de datação permite ajustar os dados, delimitando as flutuações através de penalizações.

Foram utilizados os pacotes *ape* (Paradis et al. 2004) e *phytools* (Revell 2012) do *software R* (R Development Core Team 2016) para realizar a datação através de dados fósseis. A estimativa de tempo foi realizada com $\lambda = 1$ para o processo de penalização. Um total de 11 registros fósseis de nós conhecidos da filogenia foram utilizados para estimar o tempo dos demais nós. Estas informações foram obtidas pelo banco de dados online *TimeTree* (Disponível em: <http://www.timetree.org/>). Os tempos são na escala de milhões de anos (Ma), sendo: 46.6, 12.6, 11.6, 10.4, 6.5, 4.9, 3.7, 3.5, 3.3, 1.7, 0.9.

2.2- Reconstrução de Caracteres Ancestrais (RCA)

2.2.1- Compilação de atributos comportamentais

Informações sobre uso de habitat, alimentação, socialidade e tamanho corporal foram compilados para as 37 espécies de Canidae. Os dados sobre atributos foram obtidos na literatura através dos trabalhos de Nowak et al. (2004), Sillero-Zubiri et al. (2004), Glittleman (1986), Wilson & Mittermeier (2009) e Kissling et al. (2014).

Em relação a dieta, os dados foram divididos em três categorias: hipocarnívora (0) quando a espécie consome menos de 30% de carne em sua dieta; Mesocarnívora (1), quando o animal possui dieta com cerca de 50-70% de carne; Hipercarnívora (2), quando mais de 70% da dieta é baseada em proteína animal. Já para a socialidade, os canídeos também foram agrupados em três categorias: solitários (0), referente as espécies que permanecem sozinhas durante o ano, exceto na época reprodutiva para o acasalamento; Socialidade média (1), capazes de formar pequenos grupos compostos pelo casal dominante e seus filhotes e irmãos; Alta socialidade (2), espécies capazes de

formar grandes grupos com cerca de 20 indivíduos e com divisões sociais dentro do grupo. E por fim, o tamanho corporal dos canídeos foi obtido na forma de dados contínuos em Kg.

Também foram compilados atributos *proxys* que representassem em dados contínuos estes dois atributos categóricos. Os *proxys* foram o coeficiente de força de mordida, representando a dieta, enquanto que o coeficiente do volume encefálico representou a socialidade. Estes dados foram obtidos para a maioria das 37 espécies através de Damasceno et al. (2013), enquanto que para as demais espécies que os autores não consideraram em seu estudo, foram feitos os cálculos assim como proposto no trabalho citado.

Para obtenção do uso de habitat, foram utilizados os valores de cobertura da vegetação presentes nos polígonos de distribuição geográfica das espécies. A obtenção dos polígonos (*shapefiles*) foi com base a partir dos dados da IUCN (IUCN 2012. *IUCN Red List of Threatened Species*). A partir dos *shapes* foi obtida a variável ambiental, através da camada de cobertura da terra (*Land cover*) em dados *raster* de 300 metros de resolução de pixel oriunda da base de dados digital *Global Land Cover Facility*. Os *rasters* continham um valor para cada pixel de uma dada resolução, resultando em uma matriz de dados espaciais. A variável de cobertura da paisagem representa o tipo de ambiente encontrado em cada área, de acordo com os biomas globais. Já para extrair a informação do tipo de ambiente preferencial de cada espécie, foram extraídos os valores de quantidade de pixel para cada tipo de hábitat da variável de cobertura da terra presentes nos polígonos de distribuição de cada espécie através da ferramenta *Zonal Statistics* no *ArcMap* (ESRI 2011).

Por fim, foi realizada uma soma do número de pixels para cada categoria do ambiente presente na camada de cobertura da terra, tendo como base o polígono de distribuição de cada espécie. Os valores de cobertura da vegetação foram transformados em um dado contínuo que variava de 0 a 100%, relacionado a cobertura da vegetação, ou seja, quanto mais próximo de 100, mais relacionada a áreas florestais é a espécie, e quanto mais próxima de 0, mais relacionada a áreas abertas.

2.2.2- Reconstrução

A Reconstrução de Caracteres Ancestrais (RCA) foi realizada através do *software Mesquite* (Maddison & Maddison, 2011). Todos os dados comportamentais

foram agrupados de acordo com as espécies e inseridos no *software*, juntamente com a árvore filogenética criada, informando as relações de parentesco entre elas.

Foram realizadas, quatro reconstruções com inferência em 1.000 árvores cada. Todas análises de RCA foram realizadas com o método de parcimônia (Fitch 1971), onde posteriormente se aplicou o método de *most parsimonious reconstruction*. Utilizou-se também um *ordered states model*, onde a mudança do estado *i* para o estado *j* é *i-j*, considerando o número total de passos. Para a RCA, foram utilizados apenas dados contínuos como: dados de cobertura da vegetação (uso de habitat), o *proxy* de dieta (força de mordida), o *proxy* de socialidade (tamanho do encéfalo) e o tamanho corporal. Os *proxys* representam fielmente, de forma contínua, os valores dos atributos categóricos, como demonstram as figuras 1 e 2.

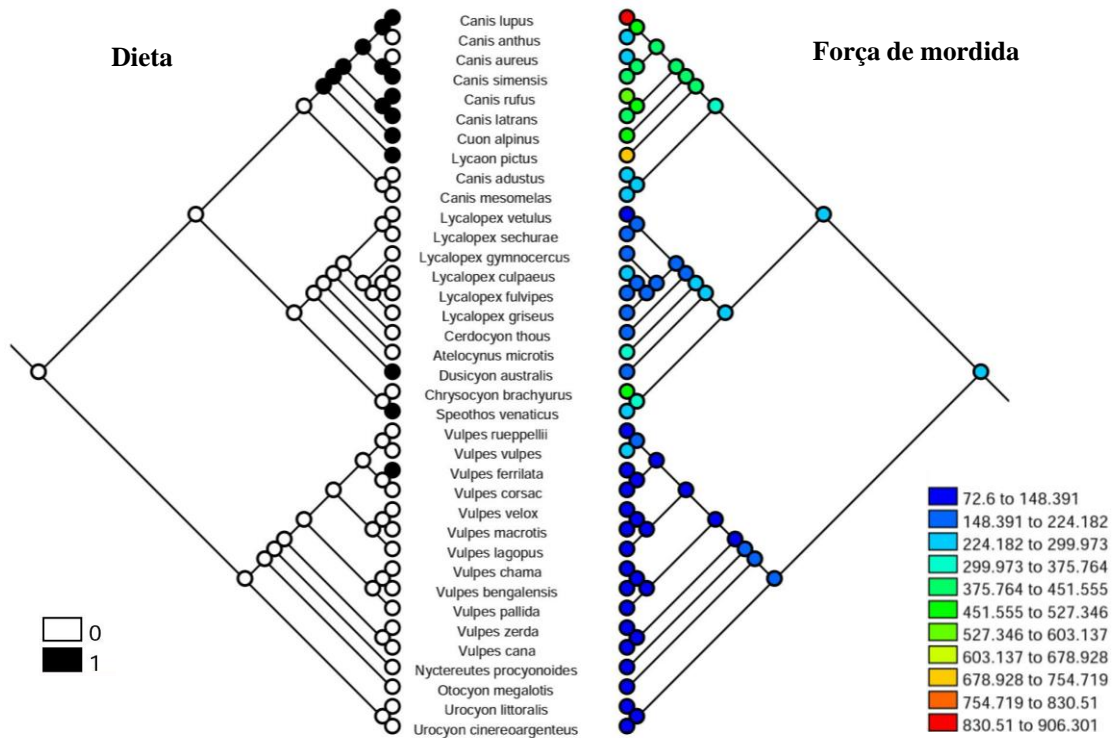


Figura 1. Representação *mirror tree* da força de mordida como *proxy* da dieta dos canídeos. A esquerda se encontra a árvore binária de dieta e a direita se encontra a árvore contínua de força de mordida. A legenda a esquerda da imagem indica valores de (0) representando espécies com dieta meso e hipocarnívora, e valores de (1) representando espécies com dieta hipercarnívora. A legenda a direita da imagem indica a distribuição dos valores contínuos do *Squared Length* calculados através da força de mordida.

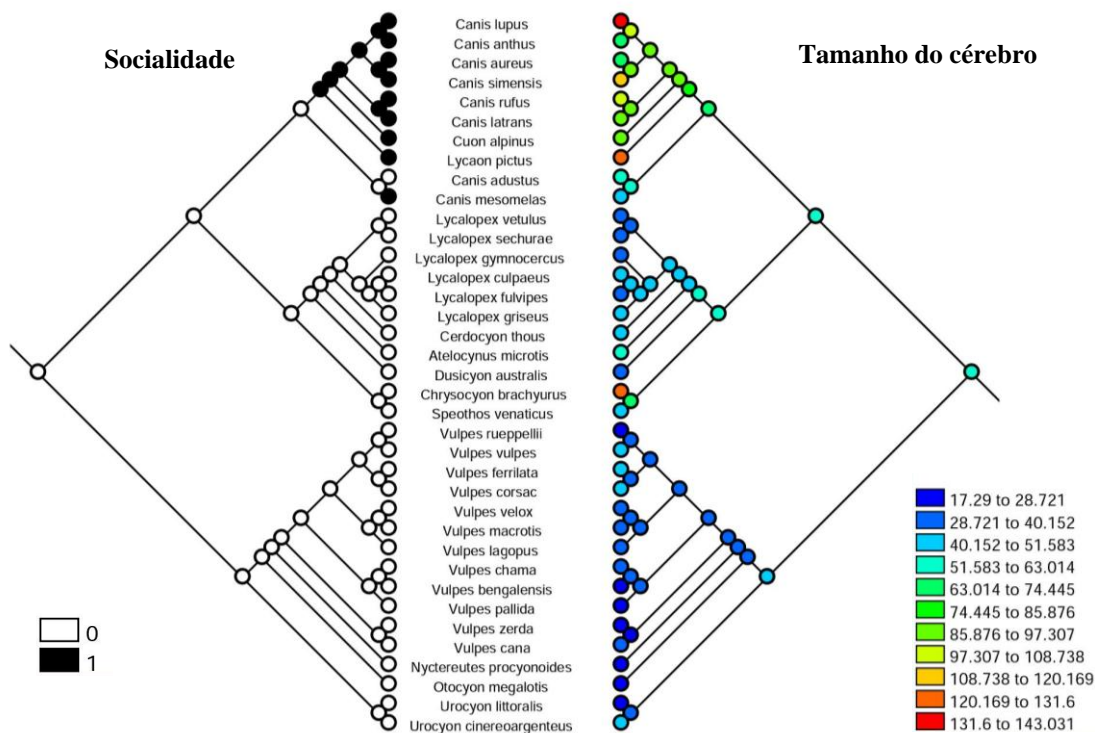


Figura 2. Representação *mirror tree* do tamanho do cérebro como *proxy* da socialidade dos canídeos. A esquerda se encontra a árvore binária de socialidade e a direita se encontra a árvore contínua de tamanho de cérebro. A legenda a esquerda da imagem indica valores de (0) representando espécies solitárias ou que formam pequenos grupos familiares sem estrutura social, e valores de (1) representando espécies com alto grau de organização social. A legenda a direita da imagem indica a distribuição dos valores contínuos do *Squared Length* calculados através do volume encefálico.

2.3- Correlação entre os atributos

2.3.1- Correlação de Pagel

As correlações entre atributos comportamentais ao longo da história evolutiva da família Canidae foram analisadas utilizando o teste de Pagel (Pagel 1994), implementado no pacote *correl* (Midford et al. 2002) no próprio *software Mesquite*. Através deste método, pode-se testar por máxima-verossimilhança se a evolução de dois atributos binários é correlacionada ou não, e caso seja, qual atributo influenciou na mudança do outro.

Como essa análise pode ser feita apenas usando dados binários, dieta e socialidade foram transformadas de forma que para dieta, (0) estão contidos os canídeos hipo e mesocarnívoros e em (1) estão os hipercarnívoros. Já para socialidade, (0) representa as espécies solitárias e de socialidade média, e (1) representa os canídeos de socialidade alta. Foram utilizadas 1×10^6 iterações para testar o efeito duplo de um

atributo sobre o outro, ou seja, qual o sentido da influência, com a hipótese nula que os atributos não estejam correlacionados.

2.3.2- Phylogenetic Generalized Least Squares (PGLS)

Como o teste de Pagel permite analisar apenas dados binários, foi utilizado o PGLS para correlacionar o uso de habitat com dieta e socialidade. Usamos os *proxys* de força de mordida e tamanho do encéfalo para representar de forma contínua os dados binários de dieta e socialidade. Porém, o PGLS demonstra apenas de que maneira os atributos se correlacionam, considerando o efeito da filogenia, mas não demonstra o efeito de um atributo sobre a mudança do outro.

A fim de entender de maneira mais detalhada sobre a dinâmica de evolução dos atributos, foram implementados nos PGLSs cinco modelos evolutivos que representam diferentes maneiras pelas quais os fenótipos se comportam ao longo da história, além de um modelo sem nenhuma informação filogenética, são eles: Bloomberg (ACDC), que descreve processos de radiação adaptativa como importantes na evolução dos atributos (Bloomberg et al. 2003), Pagel, o qual demonstra o aumento ou a diminuição na amplitude da variação dos atributos ao longo da filogenia (Pagel 1999b), *Brownian Motion* (BM), o qual mostra que a variação dos atributos é proporcional ao tempo de divergência entre as linhagens (Felsenstein 1985), Ornstein - Uhlenbeck (OU), que representa um processo de seleção estabilizadora agindo na diversificação dos fenótipos (Butler & King 2004), e Grafen, o qual indica a dependência entre processos de radiação adaptativa na evolução dos atributos (Grafen 1989), além do modelo linear, que não leva em consideração nenhuma informação filogenética. Entre estes cinco modelos de correlação testados, realizou-se uma seleção por *Akaike Information Criterion* (AIC) para escolher o melhor modelo que explique como os atributos se comportaram durante a diversificação de Canidae.

Cada um dos modelos testados acima apresenta parâmetros que descrevem a dinâmica na evolução dos atributos. Para o modelo ACDC, o parâmetro g indica a similaridade da árvore testada à uma filogenia estrela. O modelo BM tem o parâmetro σ (sigma), o qual indica a intensidade nas flutuações do valor do atributo. O modelo de Pagel possui o parâmetro Δ (delta) onde valores < 1 indicam que a variação dos atributos ocorreu no início da filogenia e diminuiu até o presente, já valores > 1 indicam um aumento na variação dos atributos até o presente, enquanto que valores $= 0$ indicam um processo idêntico ao modelo BM. O modelo OU possui dois parâmetros, σ (sigma)

assim como o modelo BM, e α (alfa) que indica a intensidade da força de seleção atuando nos atributos. O modelo de Grafen apresenta o parâmetro ρ (rô) o qual indica a dependência entre processos de radiação adaptativa dos atributos. Após a seleção por AIC ter sido realizada, os parâmetros dos melhores modelos foram avaliados.

Antes de calcular as correlações, a árvore de RCA foi verificada visualmente *a posterior*, onde notou-se que o clado Vulpini possuía características de habitat, dieta e socialidade que poderiam mascarar a verdadeira relação entre os atributos, se comparados juntamente com Canini. Por isso, as análises de PGLS foram feitas de duas maneiras. Na primeira parte, foi testada a correlação entre os atributos, utilizando todos os três clados. Na segunda parte, a correlação foi testada apenas dentro de Canini. Apesar de lobos e canídeos sul-americanos nunca terem coexistido, estes clados partilham um ancestral comum, o que pode revelar padrões biogeográficos mascarados pela presença do clado das raposas nas análises.

3- Resultados

3.1- Árvore filogenética

A topologia obtida aqui (Figura 3) foi diferente das demais árvores filogenéticas já criadas para a família Canidae (Perini et al. 2010; Lindblad et al. 2005; Bardeleben et al. 2005; Zrzavy & Ricánková 2003; Bininda-Emonds et al. 1999; Fuentes-González & Muñoz-Durán 2012; Nyakatura & Bininda-Emonds 2012; Wayne et al. 1997). A inserção de novas espécies na árvore modificou relações de parentesco entre algumas linhagens terminais que são tratadas de maneira diferente pelos estudos anteriores. Em toda a filogenia, apenas três nós apresentam valores de suporte abaixo de 90, o valor mínimo para ser considerado como confiável pela inferência bayesiana. A calibração temporal por dados fósseis indicou que a divergência entre as tribos Canini e Vulpini se deu há 12.6 Ma, diferente do que é apontado nos estudos de Lindblad et al. (2005), Perini et al. (2010) e Nyakatura & Bininda-Emonds (2012).

A monofilia em Canini possui suporte estatístico significativo, apresentando 100% de probabilidade para a inferência bayesiana (Figura 4), diferente dos estudos de Nyakatura & Bininda-Emonds (2012), Bininda-Emonds et al. (1999) e Zrzavy & Ricánková (2003), que independentemente do método de construção utilizado, apresentam baixos valores de confiança para esse clado. Dentro de Canini, foram obtidos altos valores de suporte para dois grupos, (*Chrysocyon* + *Speothos*) e (*Cerdocyon* + *Lycalopex* + *Atelocynus*) ambos com 100% de probabilidade. A linhagem

de *Dusicyon*, a espécie extinta inserida nesta abordagem, apresentou valor de suporte de 76%, e diferente de Perini et al. (2010), os resultados demonstraram *Dusicyon* como uma linhagem isolada. Ainda que na literatura as relações entre os canídeos sulamericanos não sejam claras, a topologia criada aqui apresentou altos valores de suporte para este clado, algo que não foi obtido nos estudos já citados. A árvore também demonstrou que as espécies mais basais entre os sulamericanos são *Dusicyon australis* e *Atelocynus microtis*, com surgimento há 9.2 e 8 Ma respectivamente. Já as mais recentes são as espécies do gênero *Lycalopex* que surgiram entre 4.9 a 3 Ma.

Na árvore criada, o gênero *Canis* não é monofilético, pois houve a formação de um grupo (*C. mesomelas* + *C. adustus*) mais próximos do grupo (*Lycaon* + *Cuon*) do que das demais espécies do gênero *Canis*. Além disso, todos esses grupos apresentaram valores suporte significativos entre 100 a 92%. O resultado foi similar ao encontrado por Perini et al. (2010), mas divergiu em relação aos demais estudos já citados. Em relação à escala temporal, a calibração fóssil demonstrou que as linhagens mais antigas neste clado são as que deram origem aos gêneros *Lycaon* e *Cuon* há 8,7 e 7,3 Ma respectivamente. Já para as demais espécies de Canini, os *Canis*, mesmo não sendo um grupo monofilético, tiveram surgimento relativamente próximo em um intervalo de 3.6 a 2.6 Ma.

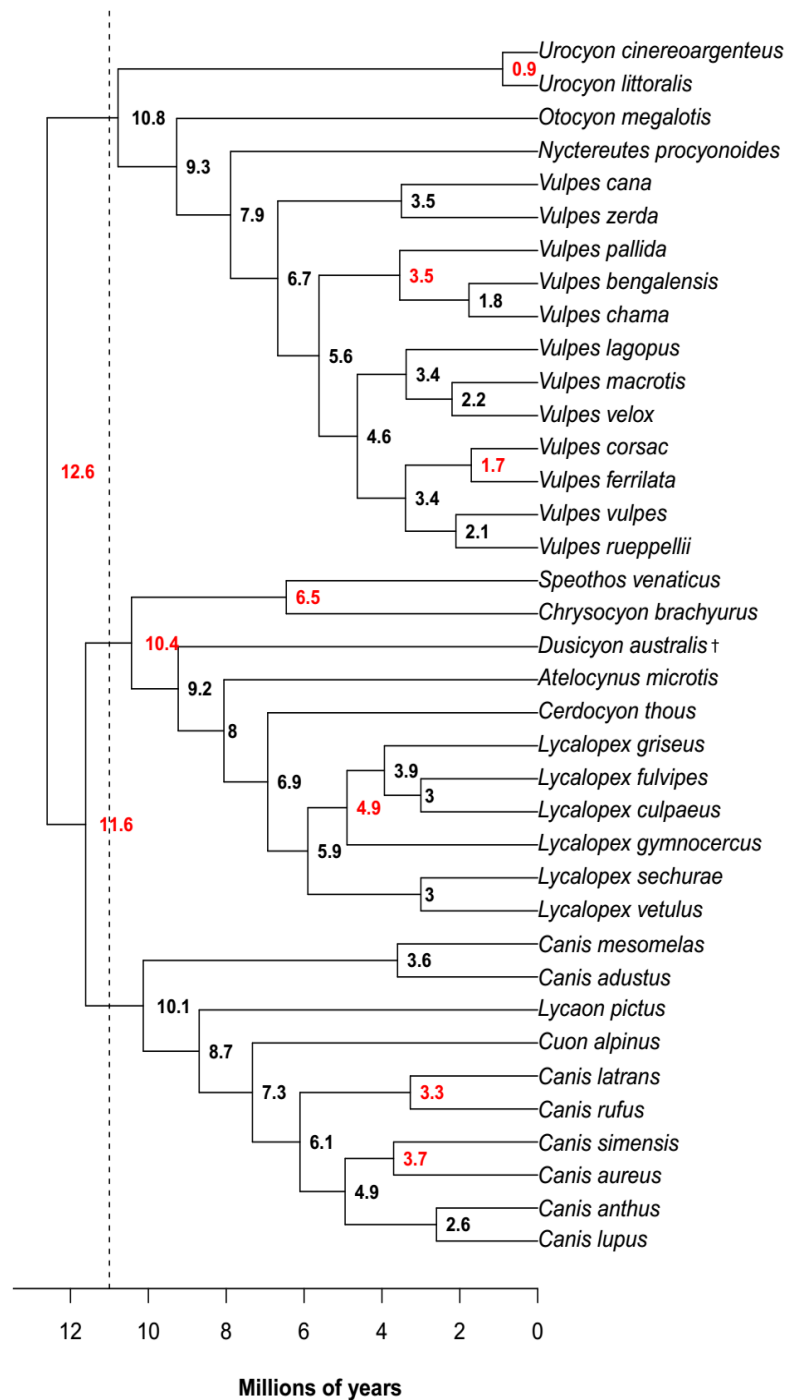


Figura 3. Árvore filogenética construída usando inferência bayesiana contabilizando 37 espécies de canídeos. Ao lado de cada nó estão suas respectivas idades (números em vermelho são os valores fósseis utilizados na calibração temporal e números pretos são os valores estimados no processo). A linha tracejada indica a nova idade de soerguimento do istmo do Panamá, segundo Montes et al. (2015).

Na tribo Vulpini foi registrada a monofilia no gênero *Vulpes* com altos valores de suporte entre os nós. Outros estudos também apresentam *Vulpes* como um grupo monofilético, porém incorporam menos espécies pertencentes ao clado na filogenia, com exceção de Fuentes-González & Muñoz-Durán (2012), além de valores de suporte

baixos (Perini et al. 2010; Zrzavy & Ricánková 2003; Bininda-Emonds et al. 1999; Nyakatura & Bininda-Emonds 2012). Também registrou-se a formação de três linhagens independentes: *Urocyon*, *Otocyon* e *Nyctereutes*, com valores suporte de 100, 100 e 90 respectivamente. O grupo mais basal dentro de Vulpini é o gênero *Otocyon*, que surgiu há 9.3 Ma, enquanto que o gênero *Urocyon* é o mais terminal, com seu surgimento há 0.9 Ma.

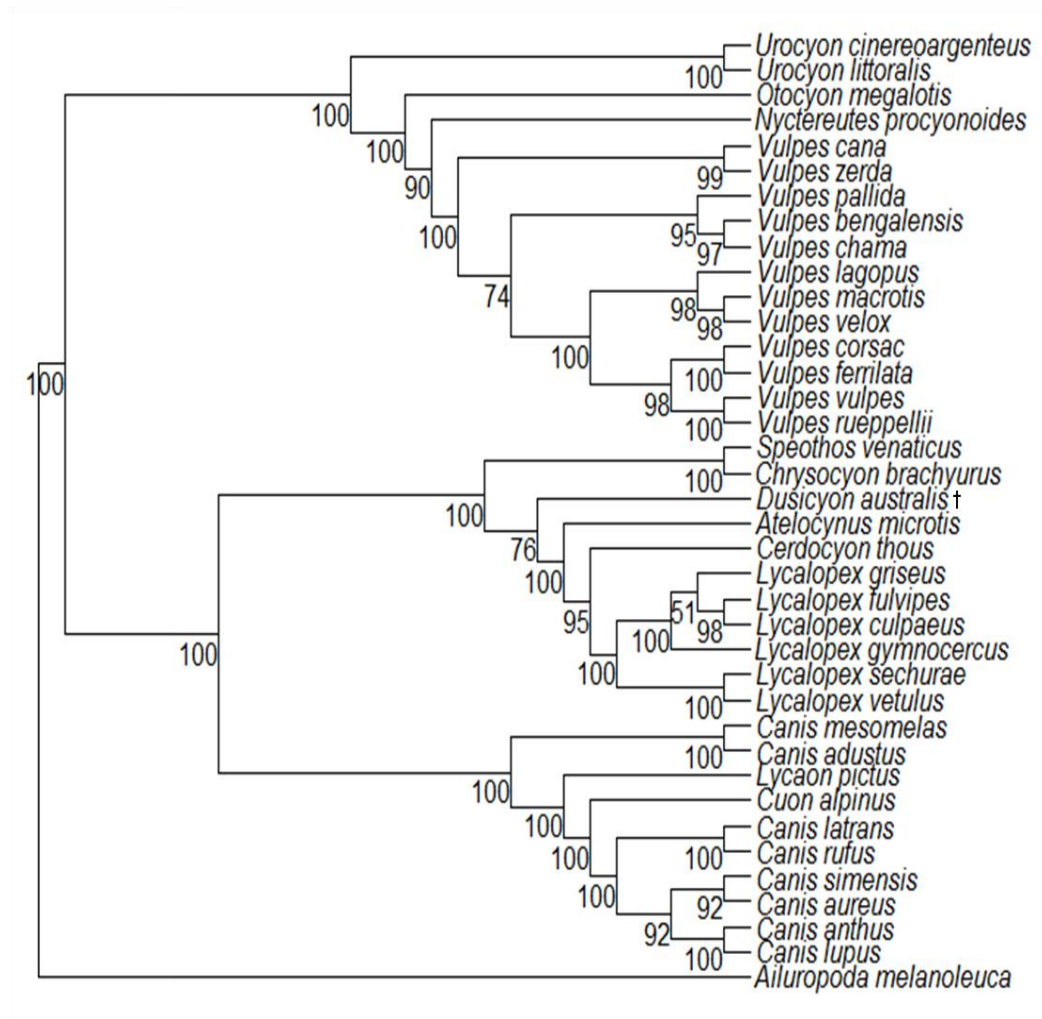


Figura 4. Árvore filogenética criada, onde ao lado de cada nó estão os valores de confiança (%) associados, obtidos através de inferência bayesiana, os quais demonstram a precisão na estrutura da árvore.

3.2- Reconstrução de caracteres ancestrais

3.2.1- Habitat

A reconstrução demonstrou que canídeos atuais habitam uma grande diversidade de ambientes, em um gradiente de vegetação entre desertos a interior de florestas. A

RCA também mostrou que tanto o ancestral de Caninae, quanto os ancestrais diretos das tribos Canini e Vulpini foram espécies que habitavam áreas abertas (Figura 5).

As linhagens ancestrais de lobos e raposas continuaram expressando o hábito de viver em áreas abertas, e em alguns momentos desenvolveram preferências por áreas ainda mais abertas, como as raposas. Já os canídeos sulamericanos desenvolveram preferências de habitat completamente diferentes. Com a vinda de linhagens para o continente sulamericano, seus ancestrais se adaptaram ao modo de vida em áreas com maior cobertura de vegetação, e até mesmo no interior de florestas, como são os casos de *Lycalopex fulvipes* e *Atelocynus microtis*. Este contraste nas preferências de habitat que lobos e raposas apresentam em relação aos sulamericanos evidencia um forte padrão biogeográfico atuando na evolução deste atributo, o que torna o clado sulamericano um grupo tão distinto dos demais canídeos.

3.2.2- Dieta

A RCA da dieta demonstrou diferentes padrões nas espécies atuais, onde o clado parafilético (raposas + canídeos sulamericanos) apresentou força de mordida baixa, o que indica um tipo de dieta hipocarnívora. Já o clado monofilético dos lobos, desenvolveu força de mordida alta, indicando dietas meso e hipercarnívoras (Figura 5).

O ancestral de Caninae, assim como os ancestrais diretos das tribos Canini e Vulpini, apresentaram comportamento alimentar similar, sendo hipocarnívoros. O momento onde o hábito hipercarnívoro surgiu foi há 10.1 Ma, com *Lycaon pictus*, a espécie mais basal do clado, e juntamente com *Canis lupus*, apresentam as dietas mais carnívoras entre os canídeos. No clado dos lobos o hábito generalista surgiu duas vezes de forma independente, com *C. anthus* e *C. aureus*, pelo fato de apresentarem força de mordida baixa.

3.2.3- Socialidade

A reconstrução para socialidade (Figura 5) demonstrou dois padrões entre as espécies atuais que emergem novamente entre os grupos (raposas + canídeos sulamericanos) e (lobos). O primeiro apresenta comportamento social baixo, onde os indivíduos são solitários ou formam pequenos grupos familiares, enquanto que os lobos formam grandes grupos com alto comportamento social.

O ancestral de todos os canídeos vivos apresentava há 12.6 Ma baixa organização social, como indica a reconstrução, o que foi mantido para seus

descendentes diretos, as linhagens que originaram Canini e Vulpini. Dentro de Vulpini e dos canídeos sulamericanos há uma forte conservação de nicho filogenético. Porém foi com os lobos, há 10.1 Ma que as linhagens começaram a desenvolver alto comportamento social, coincidindo com o surgimento do hábito hipercarnívoro.

3.2.4- Tamanho corporal

Na reconstrução do tamanho corporal, observou-se um gradiente entre os clados (Figura 5), onde as raposas apresentam os menores tamanhos, enquanto que lobos os maiores, já os sulamericanos possuem tamanho médio.

O ancestral de todos os canídeos vivos possuía tamanho corporal médio, porém com o tempo as duas tribos que surgiram a partir desta linhagem, começaram a divergir seus tamanhos. Isto levou a um extremo no clado das raposas, com diminuição no tamanho corporal. Já o clado dos lobos foi para outro extremo, onde cada vez mais as linhagens ancestrais apresentavam acréscimo no tamanho.

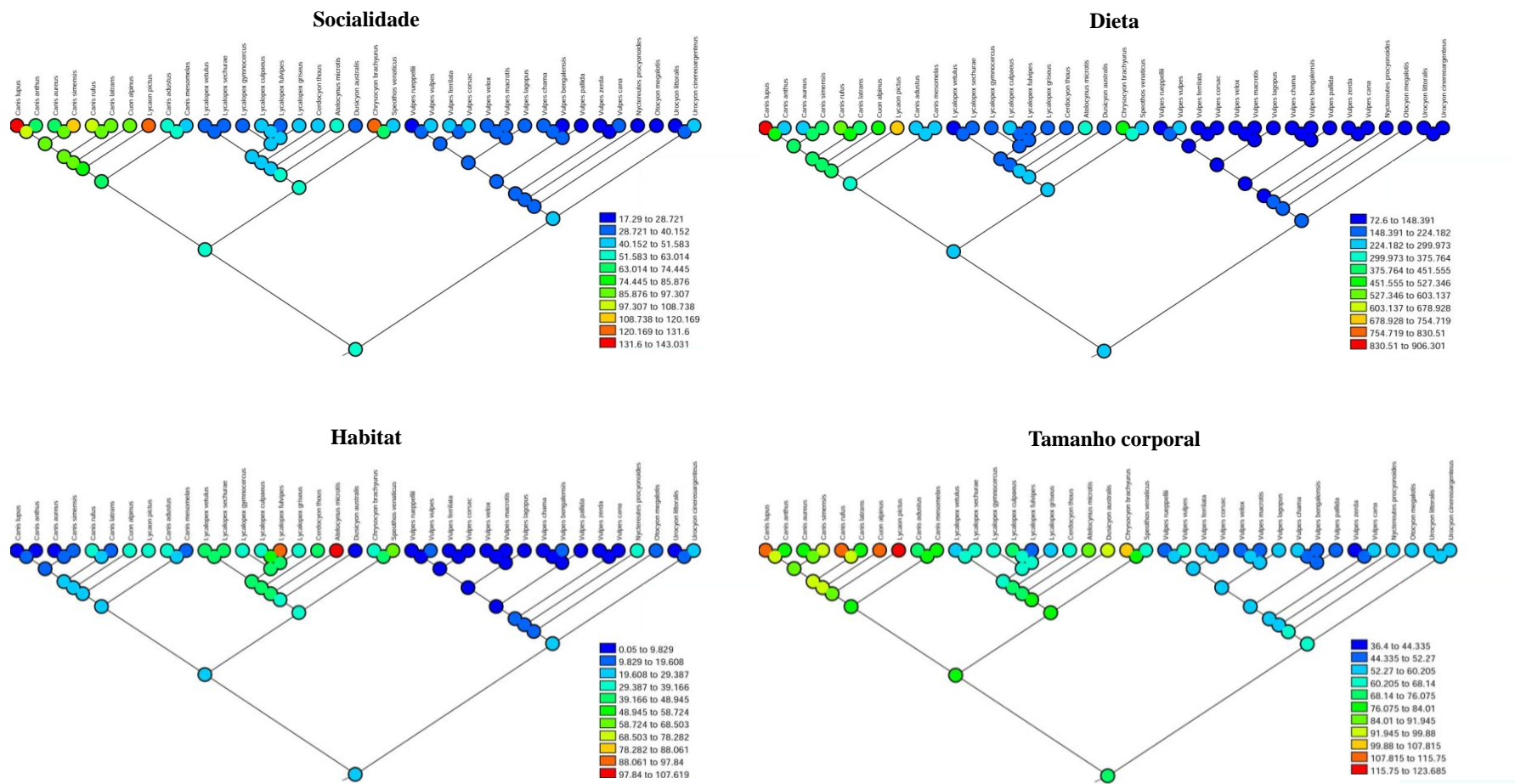


Figura 5. Árvores de RCA das quatro reconstruções realizadas entre socialidade, dieta, uso de habitat e tamanho corporal. As respectivas legendas de cada RCA representam a distribuição do valor contínuo de *Squared Length* obtidos ao final da reconstrução através dos valores contínuos de cada atributo analisado.

3.3- Correlação de Pagel

O teste de Pagel entre dieta e socialidade demonstrou que há correlação entre estes dois atributos ao longo da história evolutiva de Canidae. Os resultados demonstram que o valor do modelo de dependência ($\log \text{Likelihood} = -21.59$) é maior do que o de independência ($\log \text{Likelihood} = -23.06$) entre os dois atributos. Em relação ao teste de influência, através de 1×10^6 iterações, a hipótese nula do teste, onde não há correlação, foi rejeitada ($P < 0.01$), demonstrando que o tipo de alimentação foi o que levou a modificações na formação de grupos entre os canídeos. Essa influência da dieta sobre a socialidade em canídeos pode ser bem visualizada de forma heurística através da árvore binária entre os dois atributos (Figura 6).

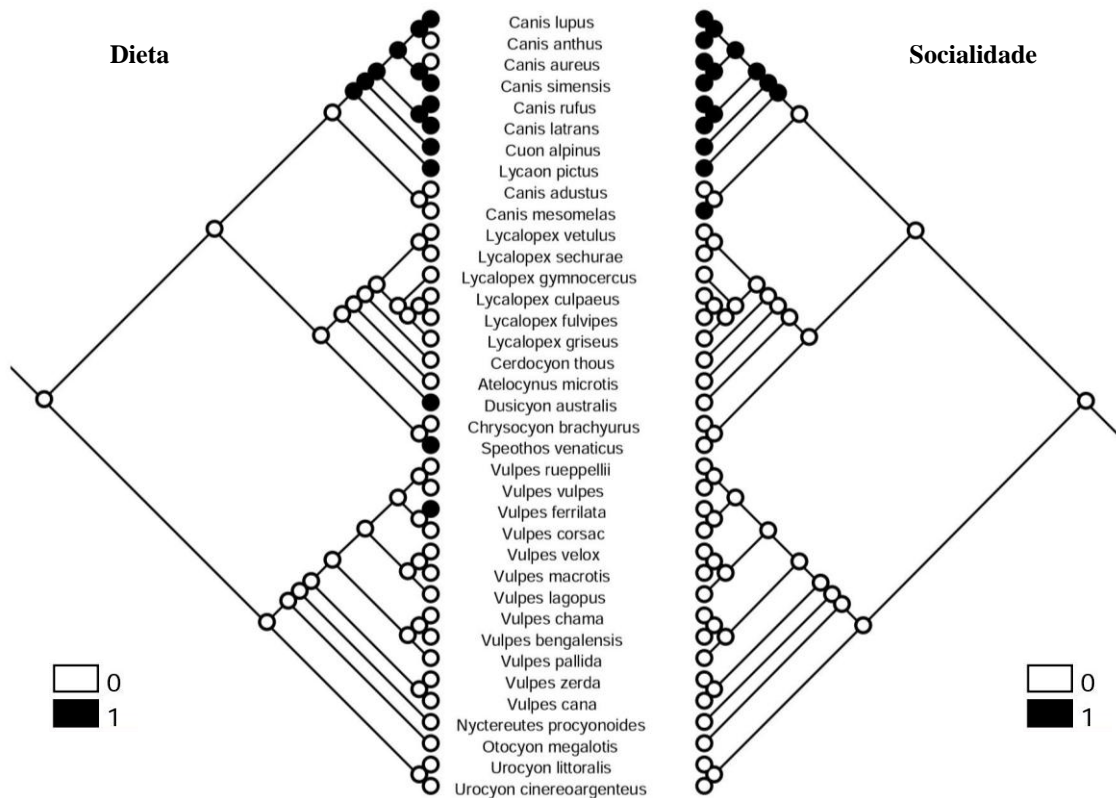


Figura 6. *Mirror tree* entre as reconstruções binárias de dieta e socialidade representando a maneira pela qual os dois atributos são correlacionados segundo o teste de Pagel. A esquerda da imagem se encontra a árvore da dieta e a direita se encontra a árvore de socialidade. A legenda a esquerda demonstra valores de (0) representando espécies com dieta meso e hipocarnívora e valores de (1) representando espécies com dieta hipercarnívora. A legenda a direita da imagem indica valores de (0) representando espécies solitárias ou que formam pequenos grupos familiares sem estrutura social e valores de (1) representando espécies com alto grau de organização social.

3.4- PGLS

O PGLS realizado considerando todos os clados demonstrou que o modelo evolutivo que melhor explica a correlação entre dieta e socialidade é o OU, seguido pelo Grafen, porém este último mesmo que informativo, apresentou peso menor (Tabela 5). O modelo OU indica que os atributos variam ao longo do tempo por um processo de seleção estabilizadora. Os parâmetros do modelo indicaram força de seleção baixa ($\alpha = 0.334$), que representa a intensidade na qual os atributos são puxados a um valor ótimo, além de baixas flutuações dos atributos ($\sigma = 0.195$), o que demonstra que não se distancia do valor ótimo. Este modelo apresentou valor significativo ($P < 0.01$). O gráfico de correlação entre os atributos mostra um gradiente entre os tipos de comportamentos apresentados, onde os três clados se distribuem (Figura 7).

As correlações entre dieta-habitat e socialidade-habitat indicaram que para ambos os testes, o melhor modelo evolutivo é o BM, seguido pelo Pagel para dieta-habitat, porém com peso menor (Tabela 5). O modelo indica que os atributos variam em função do tempo, onde a partir de um ancestral comum espera-se que a diferença fenotípica entre linhagens aumente. Os valores do parâmetro σ são respectivamente 0.535 e 0.407, demonstrando baixa amplitude na variação dos atributos ao longo da filogenia. A correlação dos atributos sob este modelo apresentou ($P < 0.01$). Os gráficos de correlação entre os atributos demonstram segregação entre os lobos com os demais canídeos por apresentarem valores de encefalização e força de mordida maiores (Figura 7).

O PGLS entre lobos e sulamericanos indicou que o melhor modelo entre socialidade-dieta é o ACDC, seguido pelo modelo BM, porém este último obteve menor peso entre os dois AICs (Tabela 6). O parâmetro g do modelo foi 0.5, indicando que momentos de radiação adaptativa foram importantes na diversificação destes atributos. A correlação dos atributos através de ACDC apresentou ($P < 0.01$). O gráfico de correlação entre os comportamentos demonstrou segregação entre os dois clados, onde os sulamericanos se concentram em valores baixos de socialidade e dieta, enquanto os lobos se distribuem entre valores mais altos (Figura 8).

Os PGLSs entre dieta-habitat e socialidade-habitat apresentaram o BM como o modelo que melhor explica a relação entre esses atributos, seguido por ACDC para dieta-uso de habitat, porém com menor peso (Tabela 6). O parâmetro σ encontrado foi de 0.56 e 0.44 respectivamente, o que indica a amplitude de variação dos atributos com o tempo. Ambas as correlações não obtiveram valores significativos, 0.39 e 0.79

respectivamente. Porém houve uma pequena segregação entre os dois clados causada pela força de mordida e encefalização, onde os lobos apresentam valores maiores do que os sulamericanos (Figura 8).

Tabela 5. Ranking dos modelos evolutivos testados nos PGLSs entre socialidade, dieta e uso de habitat, considerando os três clados de canídeos. São apresentados os valores do coeficiente de AIC de cada modelo, além do delta AIC e de seus respectivos pesos em cada teste de correlação. Blomberg (ACDC); *Brownian Motion* (BM); Grafen; Ornstein-Uhlenbeck (OU); Pagel e *Linear Model* (LM).

Socialidade x Dieta				Socialidade x Habitat				Dieta x Habitat			
Modelo	AICc	Delta	Weight	Modelo	AICc	Delta	Weight	Modelo	AICc	Delta	Weight
OU	-7.80	0.00	0.623	BM	22.4	0.00	0.914	BM	42.7	0.00	0.536
Grafen	-6.40	1.33	0.320	OU	28.5	6.15	0.042	Pagel	44.6	1.87	0.211
Blomberg	-1.40	6.38	0.026	Blomberg	29.1	6.67	0.033	Grafen	45.7	2.97	0.121
BM	-1.40	6.38	0.026	Pagel	32.1	9.67	0.007	Blomberg	46.4	3.70	0.084
Pagel	1.80	9.53	0.004	Grafen	33.3	10.95	0.002	OU	47.5	4.85	0.042
LM	2.20	9.91	0.001	LM	38.4	16.02	0.002	LM	49.5	6.86	0.005

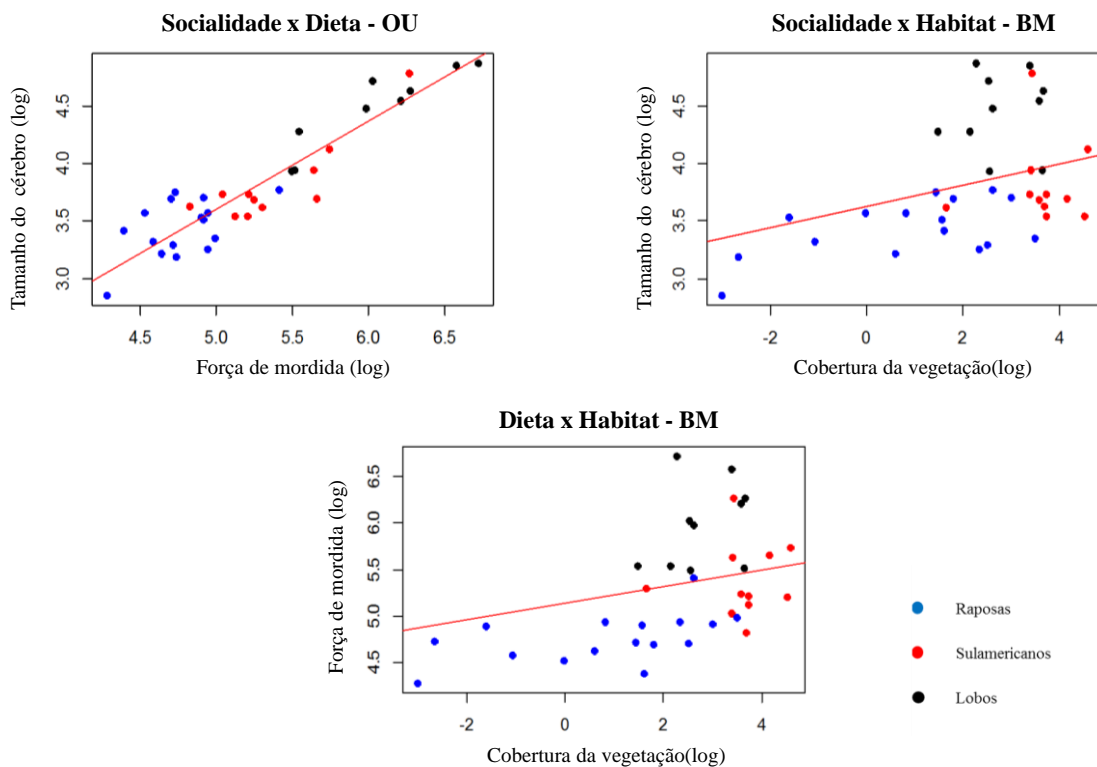


Figura 7. Gráficos de correlação dos PGLSs realizados entre socialidade, dieta e uso de habitat, avaliando os três clados de canídeos. Cada ponto no gráfico representa uma espécie. Acima de cada gráfico está indicado o melhor modelo que explica a correlação entre os atributos testados. A linha vermelha indica o ajuste do modelo. Os eixos X e Y dos gráficos representam valores contínuos de cobertura da vegetação, força de mordida e volume encefálico em escala de logaritmos. Diferentes cores são utilizadas para diferenciar os três clados utilizados nos PGLSs.

Tabela 6. Ranking dos modelos evolutivos testados nos PGLSs entre socialidade, dieta e uso de habitat, considerando apenas os clados de lobos e dos canídeos sulamericanos. São apresentados os valores do coeficiente de AIC de cada modelo, além do delta AIC e de seus respectivos pesos em cada teste de correlação. Blomberg (ACDC); *Brownian Motion* (BM); Grafen; Ornstein-Uhlenbeck (OU); Pagel e *Linear Model* (LM).

Socialidade x Dieta				Socialidade x Habitat				Dieta x Habitat			
Modelo	AICc	Delta	Weight	Modelo	AICc	Delta	Weight	Modelo	AICc	Delta	Weight
Blomberg	-5.70	0.00	0.482	BM	23.5	0.00	0.664	BM	34.2	0.00	0.316
BM	-4.70	1.08	0.279	Blomberg	25.6	2.05	0.239	Blomberg	34.6	0.39	0.25
Grafen	-2.90	2.80	0.119	OU	28.7	5.15	0.051	Pagel	34.9	0.65	0.228
OU	-2.90	2.88	0.114	Grafen	29.8	6.21	0.03	Grafen	35.9	1.70	0.135
Pagel	3.50	9.25	0.005	Pagel	30.8	7.35	0.013	OU	37.5	3.27	0.061
LM	5.50	11.27	0.001	LM	38.5	15.02	0.005	LM	39.6	5.34	0.01

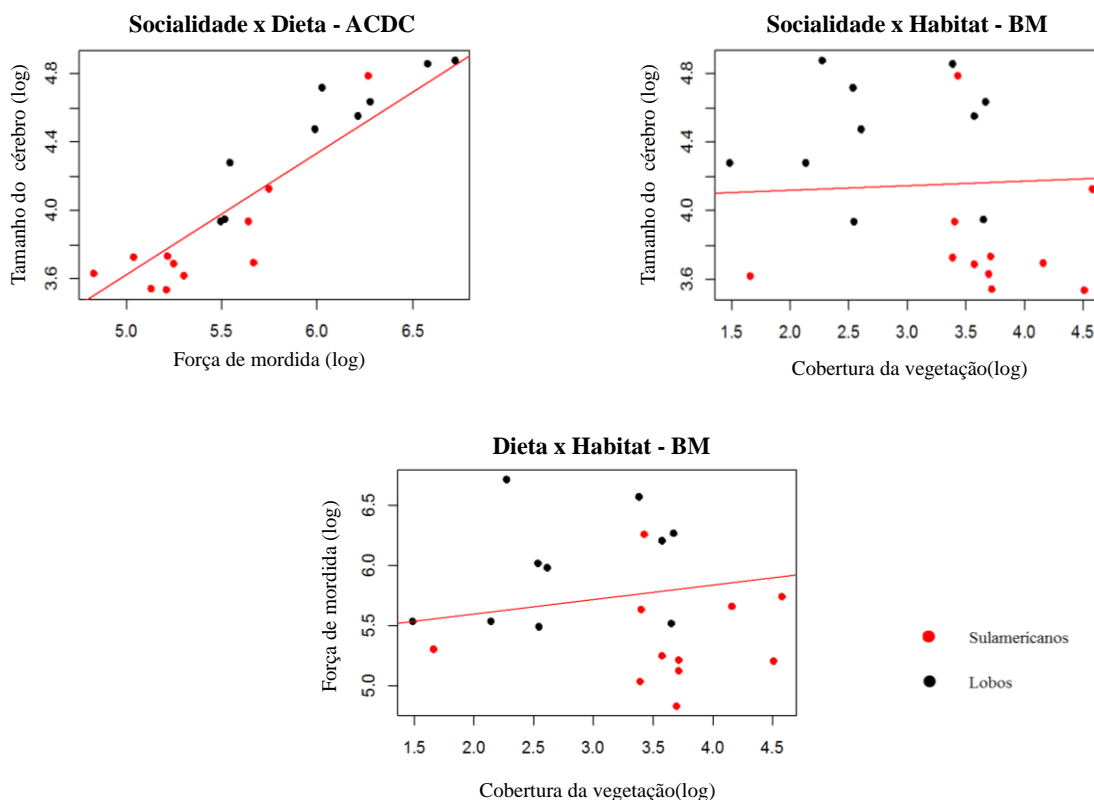


Figura 8. Gráficos de correlação dos PGLSs realizados entre socialidade, dieta e uso de habitat, avaliando apenas os clados dos lobos e dos canídeos sulamericanos. Cada ponto no gráfico representa uma espécie. Acima de cada gráfico está indicado o melhor modelo que explica a correlação entre os atributos testados. A linha vermelha indica o ajuste do modelo. Os eixos X e Y dos gráficos representam valores contínuos de cobertura da vegetação, força de mordida e volume encefálico em escala de logaritmos. Diferentes cores são utilizadas para diferenciar os dois clados utilizados nos PGLSs.

4- Discussão

A filogenia apresentada aqui trouxe uma hipótese filogenética bem robusta e confiável, que representa todos os canídeos vivos hoje no planeta, o que só foi possível devido aos altos valores de suporte encontrados para grande parte dos nós da filogenia. Esta confiabilidade da árvore é atrelada ao seu método de construção, além dos 23 marcadores moleculares utilizados no processo, número muito maior do que já se foi utilizado em outros trabalhos. O grande número de sequências moleculares não indica apenas quantidade, mas principalmente qualidade, pois representou tanto o passado quanto o presente das linhagens. A precisão da árvore foi fundamental para a boa execução das demais etapas, como a calibração temporal e a reconstrução.

A árvore construída aqui apresentou valores temporais que resolvem algumas problemáticas na história evolutiva de Canidae, como a discussão proposta por Munthe (1998) sobre fósseis de linhagens sulamericanas presentes na América do Norte antes do surgimento do istmo do Panamá. Toda esta discussão foi feita com o pressuposto que o istmo surgiu há 4 Ma. Porém o estudo recente de Montes et al. (2015) indicou uma novidade para o soergimento dessa “ponte” entre os continentes, mais antiga do que se imaginava. A escala de tempo da árvore criada demonstra o surgimento dos canídeos sulamericanos há 10.4 Ma, logo após o soergimento do istmo segundo sua nova data há 11 Ma. O que indica não apenas que este clado surgiu há muito mais tempo do que se imaginava, como também aponta que algumas linhagens fizeram o caminho oposto e saíram da América do Sul em direção ao continente norte-americano, deixando registros fósseis por lá.

Em relação aos testes de correlação de atributos, todas as hipóteses apresentadas foram corroboradas. O teste de Pagel mostrou correlação entre dieta e socialidade, e mostrou também o sentido da influência, onde modificações no modo de alimentação levaram a mudanças na socialidade. Este resultado vai contra o que se havia proposto antes na literatura pelos trabalhos de Wang et al. (2008) e Figueirido et al. (2015), que discutiam o surgimento de áreas abertas como o fator responsável pelo aumento no grau de socialidade dos canídeos, o que levou a modificações no comportamento alimentar.

Os modelos evolutivos testados através de PGLS para todos os canídeos mostraram que o OU foi o melhor modelo evolutivo para explicar a correlação entre dieta e socialidade. Este modelo apresentou força de seleção e intensidades de flutuações baixas. O valor de delta AIC do modelo de Grafen (Grafen 1989) foi de 1.33, portanto não podemos desconsiderá-lo, mas seu peso é quase a metade do peso de OU.

O modelo de Movimento Browniano foi o que melhor explicou as correlações entre dieta-habitat e socialidade-habitat. Assim, na medida em que os três clados de Caninae se distanciaram filogeneticamente ao longo do tempo, seus atributos foram variando cada vez mais, porém os parâmetros indicaram que as flutuações dos atributos não são altas.

Já os PGLSs entre lobos e sulamericanos, o modelo ACDC foi o melhor para explicar a correlação entre dieta e socialidade, o que faz sentido quando se observa o passado destes dois clados. Ambos passaram por no mínimo três grandes processos de radiação adaptativa em sua história, sendo o primeiro no continente norte americano, com a extinção das duas primeiras subfamílias Canidae. O segundo momento de radiação foi a migração de clados da América do Norte para a Eurásia, durante o surgimento do estreito de Bering. E o terceiro evento foi quando linhagens norte-americanas vieram para a América do Sul através do istmo do Panamá.

Para dieta-habitat e socialidade-habitat, novamente o modelo de Movimento Browniano foi o que melhor explicou a correlação entre os atributos. Porém as correlações não foram significativas. Vale ressaltar que em todos os ranqueamentos de AIC realizados, o modelo linear apresentou o menor AIC, e como é o modelo que não leva em consideração a estrutura filogenética, fica claro que a história evolutiva é importante para entender a correlação entre os atributos avaliados.

A análise de RCA mostrou que as mudanças no uso do habitat pelos canídeos acompanharam as mudanças climáticas no planeta ao longo dos últimos 13 milhões de anos. Os resultados sugerem que a linhagem ancestral para todos os canídeos atuais foi de área aberta, além das linhagens ancestrais das tribos Canini e Vulpini (Figura 5). Estes três nós ancestrais viveram entre 12.6 a 10.8 Ma, onde grande parte do planeta passava por um período de resfriamento, o que levou gradativamente o domínio de áreas abertas sob as florestas (Wang et al. 2008, Potter & Szatmari 2009; Zachos et al. 2001; Figueirido et al. 2015, Salzmann et al. 2011). Como ambientes abertos eram a paisagem dominante em grande parte do planeta, os canídeos tiveram que se adaptar a estas novas condições para poderem viver nestes ambientes que emergiram.

Entre as três linhagens que surgiram, duas delas apresentaram comportamento muito semelhante em relação ao seu uso de habitat. Lobos e raposas, mesmo sendo clados bem distintos, desenvolveram estilos de vida em áreas abertas desde suas primeiras linhagens ancestrais, o que sugere uma forte conservação de nicho em ambos os clados. Isto pode ser explicado pelo fato que ambos os clados tiveram seus centros de

diversificação no hemisfério norte (Wang et al. 2008), sendo a região mais afetada pelas mudanças climáticas que levavam ao domínio dos campos (Potter & Szatmari 2009; Zachos et al. 2001).

Já os canídeos sulamericanos desenvolveram um estilo de vida totalmente diferente em relação aos lobos e raposas, onde se adaptaram as áreas florestais. As reconstruções indicaram que o surgimento deste comportamento começou logo após o soerguimento do istmo do Panamá, evento que proporcionou a chegada dos canídeos no continente sulamericano. É provável que as linhagens ao chegarem à América do Sul, encontraram um ambiente muito diferente do que era o cenário no resto do planeta, pois a América do Sul não foi tão afetada pelas mudanças climáticas, mantendo grande abundância de áreas florestais (Potter & Szatmari 2009; Zachos et al. 2001, Wang et al. 2008; Strömberg 2005). Com um ambiente novo e inexplorado, as linhagens ancestrais começaram a modificar seu modo de vida e adentrar as áreas florestais.

A respeito do comportamento alimentar, a reconstrução mostrou que há dois padrões ao longo da história evolutiva do grupo. Os clados das raposas e dos canídeos sulamericanos preservaram o estado ancestral da origem de Caninae, mantendo tipos de alimentação hipo e mesocarnívoras, enquanto que os lobos há 10.1 Ma começaram a apresentar comportamento hipercarnívoro.

O comportamento social apresentou padrão similar a aquele obtido na RCA da dieta, onde raposas e sulamericanos partilham o mesmo comportamento. Ambos os clados desenvolveram hábitos solitários ou formação de pequenos grupos sociais, mantendo este comportamento desde a raiz da filogenia, e com alta conservação ao longo dos nós. Já no clado dos lobos, o alto grau de socialidade se desenvolveu ao passo que o modo de alimentação hipercarnívoro surgiu neste clado.

Ao comparar as reconstruções entre dieta e uso de habitat (Figura 5) é possível observar como ocorreu a diversificação entre estes atributos. Os lobos, que durante grande parte de sua existência viveram no hemisfério norte, encontravam-se em um ambiente com extensas áreas abertas. Esta paisagem levou a um grande *turnover* na fauna de herbívoros naquele momento (Strömberg 2005), e sendo está uma fonte de recurso abundante, os lobos começaram a se especializar no hábito hipercarnívoro (Wang et al. 2008). Atrelado a isso, ao mesmo momento em que dietas hipercarnívoras surgiram, a capacidade de formar grandes grupos surgiu também, e como a correlação de Pagel indicou, a dieta teve influência sobre as mudanças na socialidade. Assim, diferente do que foi proposto por Figueirido et al. (2015) onde os autores mostram que

as mudanças ambientais levaram ao maior grau de socialidade, é provável que a capacidade de formar grupos tenha surgido em resposta a dieta, o que proporcionou a caça dos grandes herbívoros (Wang et al. 2008; Figueirido et al. 2015; Tedford et al. 2009).

Como o teste de Pagel demonstrou, foi a dieta que levou ao surgimento de grupos sociais, porém as áreas abertas do hemisfério norte tiveram sua parcela de importância para este atributo no clado dos lobos. O comportamento que as linhagens ancestrais dos lobos se especializaram, perseguindo suas presas a grandes distâncias, só se desenvolveu graças aos ambientes abertos que eram o cenário dominante naquele período, pois proporcionam amplas áreas para tal comportamento (Figura 5) (Figueirido et al. 2015; Strömberg 2005; Wang et al 2008).

Já os canídeos sulamericanos desenvolveram dietas frugívoras e generalistas. É provável que quando suas linhagens ancestrais chegaram na América do Sul, encontraram muitas áreas florestais com abundância de frutos, servindo como recurso (Figura 5). Assim, se adaptaram a dietas meso e hipocarnívoras. Isto também está atrelado ao seu comportamento social, pois os sulamericanos não desenvolveram alto grau de socialidade devido ao seu modo de alimentação não requerer cooperação entre indivíduos. Sendo assim, a forrageio acaba sendo solitário assim como o estilo de vida de muitas dessas espécies, porém naquelas onde há formação de grupos, a estruturação social é baixa e feita apenas para cuidados com a prole (Wang et al. 2008).

Ao comparar as RCAs de habitat e socialidade (Figura 5), é possível observar a grande variação entre os sulamericanos e os lobos, causada pela diferença geográfica entre os grupos, onde diferentes tipos de ambientes levaram a histórias evolutivas completamente distintas. As raposas se assemelham aos dois outros clados em relação ao habitat e socialidade, pois assim como os lobos, desenvolveram modo de vida em áreas abertas, e se comportaram como os sulamericanos em relação ao comportamento de grupo, desenvolvendo baixa socialidade. Mas quando se observou as relações entre habitat-dieta e habitat-socialidade, este clado respondeu de forma totalmente diferente a os demais clados. Mesmo vivendo em áreas abertas, as raposas desenvolveram hábito alimentar meso e hipocarnívoro, além de baixa socialidade, dois comportamentos completamente opostos ao clado dos lobos, no qual coexistiram durante toda sua história, sofrendo as mesmas pressões evolutivas. Isto leva a crer que o ambiente, tão determinante na evolução dos lobos e dos sulamericanos, não teve a mesma influência para as raposas, e outro fator deve ter influenciado sua diversificação.

É provável que esse fator na diversificação das raposas tenha emergido através de seu tamanho corporal. Ao analisar a RCA deste atributo (Figura 5), com foco apenas nos clados das raposas e dos lobos, pois coexistiram ao longo de sua história evolutiva, o nó ancestral a ambos apresentava tamanho corporal médio. Ao observar as linhagens originadas deste primeiro ancestral, se evidencia uma diferenciação no tamanho corporal dos ancestrais diretos a Vulpini e lobos. A linhagem ancestral ao clado dos lobos aumento seu tamanho corporal, enquanto que o nó correspondente na linhagem das raposas diminuiu seu tamanho. Foi a partir destes dois nós que a diferenciação entre os clados começou a divergir para dois extremos durante a história do grupo.

Em um cenário onde lobos e raposas coexistiam há cerca de 11 Ma, uma provável explicação para esse comportamento distinto entre os dois clados seja pelo fato que os ancestrais dos lobos e das raposas tenham começado a explorar a fauna de herbívoros, como um novo tipo de recurso, porém as raposas apresentavam tamanho corporal menor do que os lobos, o que caracterizava uma desvantagem se chegassem a competir diretamente pelo recurso. Assumindo que interações bióticas, como a competição, podem alterar a dinâmica evolutiva, e de acordo com as ideias de Van Valkenburgh (1985, 1988) e Dayan & Simberloff (1996), a respeito de competição por interferência através de linhagens ancestrais, é plausível que os ancestrais das raposas evitaram a competição com os lobos, para não serem extintos. Desta forma, valores de atributos que minimizassem a competição foram favorecidos, o que levou a dietas meso e hipocarnívoras, como estratégia a não sobrepor seu nicho com os lobos. E como a dieta influenciou no grau de socialidade, os lobos ficaram cada vez mais sociais para abater suas presas, enquanto que as raposas desenvolveram baixa socialidade. Propõe-se aqui que este processo de “evitação de competição” explicou o fato das raposas apresentarem comportamentos alimentares e sociais diferentes dos lobos, mesmo sob as mesmas pressões ambientais.

Saber se linhagens aparentadas filogeneticamente competem, já é uma tarefa difícil ao tratar de espécies atuais (Cahill Jr. et al. 2008; Venail et al. 2014), e ainda mais complicada quando se tenta inferir o mesmo para linhagens ancestrais. Para deixar claro que não se evocou aqui a teoria do fantasma da competição passada (Conell 1980), esta ideia de evitação de competição se baseou em dois estudos que exploram as interações ancestrais entre linhagens. Tedford et al. (1995) demonstram a grande diferença de tamanho corporal entre as subfamílias de Canidae ainda na América do Norte, o que remete a ideia na qual essa diferenciação também pode ter ocorrido em

lobos e raposas, como indicam nossos dados. Em adição a isso, Silvestro et al. (2015) apresentam evidências de que realmente houve competição entre as espécies de clados de grande carnívoros, como Canidae, Felidae e Ursidae, durante sua dispersão pelo hemisfério norte, o que também nos leva a crer que a interação entre raposas e lobos foi possível.

Nosso trabalho concilia ideias propostas em outros estudos, levando a novas interpretações sobre a evolução dos canídeos e de seus atributos. As ideias apresentadas aqui vão de encontro ao proposto por Figueirido et al. (2015), onde discutem que aspectos comportamentais dos canídeos evoluíram acompanhando as mudanças climáticas, mostrando que o ambiente, foi a grande força seletiva na diversificação dos três clados. Já Silvestro et al. (2015) sugerem que a competição entre espécies teve papel mais importante na diversificação. Desta forma, nossos resultados sugerem que, diferente do proposto por estes estudos, não é apenas o fator biótico ou o abiótico, mas sim a junção entre os dois que foi responsável na história evolutiva dos canídeos, onde a tribo Canini foi mais influenciada por mudanças na vegetação, enquanto que em Vulpini o fator mais importante foram as interações.

5- Conclusão

Nossos resultados trouxeram um cenário muito mais complexo para a evolução dos canídeos do que Figueirido et al. (2015), Silvestro et al. (2015) e Wang et al. (2008) propuseram. Tanto fatores ambientais quanto interações foram fundamentais na diversificação dos clados pelo planeta. Além disso, três tipos de modelos evolutivos explicam as correlações entre atributos ao longo do tempo, mostrando que processos de radiação adaptativa, seleção estabilizadora e evolução neutra, foram as formas pelas quais os atributos se diversificaram através da filogenia do grupo, ficando claro que relações filogenéticas são realmente importantes para entender relações entre seus atributos.

6- Referências

- Andersson., K., and Werdelin., L. 2003. The evolution of cursorial carnivores in the Tertiary: implications of elbow-joint morphology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 270: 163-165.
- Bardeleben., C., Moore., R. L., and Wayne., R. k. 2005. A molecular phylogeny of the Canidae based on six nuclear loci. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 815-831.

- Berta., A. 1987. Origin, diversification, and zoogeography of the South American Canidae. *Fieldiana zoology* 39: 455-471.
- Bininda-Emonds., O. R. P., Gittleman., J. L., and Purvis., Andy. 1999. Building large trees by combining phylogenetic information: a complete phylogeny of the extant Carnivora (Mammalia). *Biological Reviews* 74: 143–175.
- Blomberg., S. P., Garland., T., and Ives., A. R. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* 57: 717-745.
- Brischoux., F., Pizzatto., L., and Shine., R. 2010. Insights into the adaptive significance of vertical pupil shape in snakes. *Journal of Evolutionary Biology* 23(9): 1878-1885.
- Butler., M. A., and King., A. A. 2004. Phylogenetic comparative analysis: a modeling approach for adaptive evolution. *The American Naturalist* 164: 683-695.
- Cahill., J. F. Jr., Kembela., S. W., Lamba., E. G., Keddyb., P. A. 2008. Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants?. *Plant Ecology, Evolution and Systematics* 10: 41-50.
- Cai., W., Pei., J., and Grishin., N. V. 2004. Reconstruction of ancestral protein sequences and its applications. *BMC Evolutionary Biology* 1(4): 1-33.
- Casewell., N. R., Huttley., G. A., and Wüster., W., Dynamic evolution of venom proteins in squamate reptiles. *Nature communications* 3: 1066-2012.
- Connell., J. H., 1980. Diversity and the coevolution of competitors, or the ghost of competition past. *Oikos* 35(2): 131-138.
- Damasceno., E. M., Hingst-Zaher., E., and Astúa., D. 2013. Bite force and encephalization in the Canidae (Mammalia: Carnivora) *Journal of Zoology* 290: 246-254.
- Dayan., T., Simberloff, D. 1996. Patterns of size separation in Carnivore communities. In: Gittleman, J. L. *Carnivore Behavior, Ecology and Evolution*, ed. Cornell University Press.
- Diniz-Filho., J. A. F. 2001. Phylogenetic autocorrelation under distinct evolutionary process. *Evolution* 55: 1104-1109.
- Dunbar., R. I. M. 1998. The social brain Hypothesis. *Evolutionary Anthropology* 6(5): 178-190.
- Eggleton, P., and Vane-Wright, R. I. eds. 1994. *Some principles of phylogenetics and their implications for comparative biology*. In: *Phylogenetics and ecology*. Academic Press.
- Eronen., J. R., Fortelius., M., Micheels., A., Portmann., F. T., Puolamäki., K., and Janis., C. M. 2012. Neogene aridification of the Northern Hemisphere. *Geology* 40: 823-836.
- ESRI. 2011. *ArcGIS Desktop: Release 10*. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Felsenstein., J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist* 125: 1-15.
- Figueirido., B., Martín-Serra., A., Tseng., Z. J., and Janis., C. M. 2015. Habitat changes and changing predatory habits in North American fossil canids. *Nature Communications* 6: 1-11.
- Fitch., W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20(4): 406-416.
- Flannery, T., and Schoute, P. eds. 2001. *A gap in nature: Discovering the world's extinct animals*. Atlantic Monthly Press.
- Fuentes-González., J. A. and Muñoz-Durán., J. 2012. Phylogeny of the extant canids

- (Carnivora: Canidae) by means of character congruence under parsimony. *Actual Biology* 34: 85-102.
- Garland., T. Jr., Dicker Man., A. W., Jan., C. M., and Jones., J. A. 1993. Phylogenetic analysis of covariance by computer simulation. *Systematic Biology* 42(3): 265-292.
- Garland., T. Jr., and Ives., A. R. 2000. Using the Past to Predict the Present: Confidence Intervals for Regression Equations in Phylogenetic Comparative Methods. *The American Naturalist* 155(3): 346-364.
- Geffen., E., Gompper., M. E., Gittleman., J. L., Luh., H. K., MacDonald., D. W., and Wayne., R. W. 1996. Size, Life-History Traits, and Social Organization in the Canidae: A Reevaluation. *The American Naturalist* 147 (1): 140-160.
- Gittleman., J. L. 1986. Carnivore life history patterns: allometric, phylogenetic, and ecological associations. *The American Naturalist* 127: 744-771.
- Grafen., P. A. 1989. The Phylogenetic Regression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 326: 119-157.
- Harvey, P. H., and Pagel, M. D. eds. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford: Oxford University Press.
- Jácomo., A. T. de A., Silveira., L., and Diniz-Filho., A. F. 2004. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab-eating fox (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brazil. *Journal of Zoology* 262: 99-106.
- Janis., C. M. 1993. Tertiary mammal evolution in the context of changing climates, vegetation, and tectonic events. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 24: 467-500.
- Kissling., W. D., Dalby., L., Fløjgaard., C., Lenoir., J., Sandel., B., Sandom., C., Trøjelsgaard., K., and Svenning., J. C. 2014. Establishing macroecological trait datasets: digitalization, extrapolation, and validation of diet preferences in terrestrial mammals worldwide. *Ecology and Evolution* 4(14): 2913-2930.
- Kleiman., D. G. 1977. Monogamy in mammals. *The Quarterly Review of Biology* 52(1): 39-69.
- Koepfli., K. P., Pollinger., J., Godinho., R., Robinson., J., Lea., A., Hendricks., S., Schweizer., R. M., Thalmann., O., Silva., P., Fan., Z., Yurchenko., A. A., Dobrynin., P., Makunin., A., Cahill., J. A., Shapiro., B., Álvares., F., Brito., J. C., Geffen., E., Leonard., J. A., Helgen., K. M., Johnson., W. E., O'Brien., S. J., Van Valkenburgh., B., and Wayne., R. K. 2015. Genome-wide evidence reveals that African and Eurasian Golden Jackals ate distinct species. *Current Biology* 25(16): 2158-2165.
- Koichiro., T., Stecher., G., Peterson., D., Filipski., A., and Kumar., S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Kück., P., and Meusemann., K. 2010. FASconCAT, Version 1.0, Zool. Forschungsmuseum A. Koenig.
- Lindblad-Toh., K., Wade., C. M., Mikkelsen., T. S., Karlsson., E. K., Jaffe., D. B., Kamal., M., Clamp., M., Chang., J. L., Kulbokas., J. E., Zody., M. C., Mauceli., E., Xie., X., Breen., M., Wayne., R. k., Ostrander., E. A., Ponting., C. P., Galibert., F., Smith., D. R., DeJong., D. J., Kirkness., E., Alvarez., P., Biagi., T., Brockman., W., Butler., J., Chin., C. H., Cook., A., Cuff., J., Daly., M. J., DeCaprio., D., Gnerre., S., Grabherr., M., Kellis., M., Kleber., M., Bardeleben., C., Goodstadt., L., Heger., A., Hitte., C., Kim., L., Koepfli., K. P., Parker., . G., Pollinger., J. P., Searle., S. M. J., Sutter., N. B., Thomas5., R., Webber8., C., and

- Lander., E. S. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438: 803-819.
- Losos, J. B., and Miles, D. B. eds. 1994. Adaptation, constraint, and the comparative method: phylogenetic issues and methods. *Ecological Morphology: Integrative Organismal Biology*. University of Chicago.
- Macdonald., D. W. 1983. The ecology of carnivore social behavior. *Nature* 301: 379-384.
- Maddison., W. P., and Maddison., D. R. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. Available at: <http://mesquiteproject.org>.
- Maddison., W., Midford., P., and Otto., S. 2007. Estimating a binary character's effect on speciation and extinction. *Systematic Biology* 56(5): 701-710.
- Maddison., W. P., and Maddison., D. R. 1992. MacClade: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 3.0, Sinauer.
- Martins., E. P., and Hansen., T. F. 1997. Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *The American Naturalist* 149(4): 646-667.
- Midford., P. E., Garland., T. Jr., and Maddison., W. 2002. PDAP:PDTREE package for Mesquite, version 1.00.
- Miles., D. B., And Dunham., A. E. 1992. Comparative analyses of phylogenetic effects in the life history patterns of iguanid reptiles. *The American Naturalist* 139: 848-869.
- Montes., C., Cardona., A., Jaramillo., C., Pardo., A., Silva., J. C., Valencia., V., Ayala., C., Pérez-Angel., L. C., Rodriguez-Parra., L. A., Ramirez., V., and Niño., H. 2015. Middle Miocene closure of the Central American Seaway. *Science* 348: 226-229.
- Muñoz-Durán., J., and Arturo-Fuentes., D. J. 2012. Evolution of sociality, diet, and craniodental anatomy in the subfamily Caninae. *Acta Biológica Colombiana* 17(1): 173-200.
- Munthe, K. 1998. Canidae. In: Janis, C. M. Scott, K. M., and Jacobs, L. L. eds. *Evolution of Tertiary Mammals of North America. Volume I: Terrestrial Carnivores, Ungulates, and Ungulate like Mammals*. Cambridge University Press.
- Nowak, R. M., Macdonald, D., and Kays, R. W., eds. 2004. *Walker's Carnivores of the World*. The John Hopkins University Press.
- Nyakatura., K. and Bininda-Emonds., O. R. P. 2012. Updating the evolutionary history of Carnivora (Mammalia): a new species-level supertree complete with divergence time estimates. *BioMed Central* 10: 12.
- Omland., K. E. 1999. The assumptions and challenges of ancestral state reconstructions. *Systematic Biology* 48(3): 604-611.
- Pagel., M. 1994. Detecting correlated evolution on phylogenies: a general method for the comparative analysis of discrete characters. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 255: 37-45.
- Pagel., M. 1997. Inferring evolutionary processes from phylogenies. *Zoologica Scripta* 26(4): 331-348.
- Pagel., M. 1999a. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401: 877-884.
- Pagel., M. 1999b. The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology* 48(3): 612-622.

- Pagel, M., and Meade, A. 2005. Bayesian estimation of correlated evolution across cultures: A case study of marriage systems and wealth transfer at marriage. In: Mace, R., Holden, C. J. and Shennan, S. eds. *The Evolution of Cultural Diversity: a phylogenetic approach*. University College London Press.
- Paradis., E., Baillie., S. R., Sutherland., W. J., and Gregory., R. D. 1998. Patterns of natal and breeding dispersal in birds. *Journal of Animal Ecology* 67: 518-536.
- Paradis., E., Claude., J., and Strimmer., K. 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289-290.
- Pardi., M. I., and Smith., F. A. 2016. Biotic responses of canids to the terminal Pleistocene megafauna extinction. *Ecography* 39: 141-151.
- Perini., F. A., Russo., C. A. M., and Schrago., C. G. 2010. The evolution of South American endemic canids: a history of rapid diversification and morphological parallelism. *Journal of Evolutionary Biology* 23: 311-322.
- Pennell., M. W., and Harmon., L. J. 2013. An integrative view of phylogenetic comparative methods: connections to population genetics, community ecology, and paleobiology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1289 (1): 90-105.
- Potter., P. E., and Szatmari., P. 2009. Global Miocene tectonics and the modern world. *Earth-Science Reviews* 96: 279-295.
- Purvis., A., Gittleman., J. L., Cowlshaw., G., and Mace., G. M. 2000. Predicting extinction risk in declining species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267:1947-1952.
- R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rambaut., A., Suchard., M. A., Xie., D., and Drummond., A. J. 2014. Tracer v1.6, disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Revell., L. J. 2012. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3: 217-223.
- Ronquist., F., and Huelsenbeck., J. P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Salzmann., U., Williams., M., Haywood., A. M., Johnson., A. L. A., Kender., S., and Zalasiewicz., J. 2011. Climate and environment of a Pliocene warm world. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 309: 1-8.
- Sillero-Zubiri, C., Hoffmann, M., and Macdonald, D. W. eds. 2004. *Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan*. Switzerland and Cambridge.
- Silvestro., D., Antonelli., A., Salamin., N., and Quental., T. 2015. The role of clade competition in the diversification of North American canids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(28): 8684-8689.
- Slater., G. J. 2015. Iterative adaptive radiations of fossil canids show no evidence for diversity-dependent trait evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(16): 4897-4902.
- Schluter., D., Price., T., Mooers., A. Ø., and Ludwig., D. 1997. Likelihood of Ancestor States in Adaptive Radiation. *Evolution* 51(6): 1699-1711.
- Schoener., T. W. 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185: 27-39.
- Strömberg., C. A. E. 2005. Decoupled taxonomic radiation and ecological expansion of open-habitat grasses in the Cenozoic of North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 11980-11984.

- Strömberg., C. A. E. 2011. Evolution of grasses and grassland Ecosystems Annual Review of Earth Planet 39: 517-544.
- Swofford., D. L., and Maddison., W. P. 1987. Reconstructing Ancestral Character States Under Wagner Parsimony. *Mathematical Biosciences* 87(2): 199-229.
- Tedford, R. W., Taylor, B. E., and Wang, X. 1995. Phylogeny of the Caninae (Carnivora: Canidae): The Living Taxa. *American museum of natural history*.
- Tedford., R. W., Wang., X., and Taylor., B. E. 2009. Phylogenetic systematics of the North American fossil Caninae (Carnivora: Canidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*.
- Van Valkenburgh., B. 1985. Locomotor diversity within past and present guilds of large predatory mammals. *Paleobiology* 11: 406-28.
- Van Valkenburgh., B. 1988. Trophic diversity in past and present guilds of large predatory mammals. *Paleobiology* 14: 155-73.
- Van Valkenburgh., B. 1999. Major patterns in the history of carnivorous mammals. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 27: 463-493.
- Van Valkenburgh., B. 2007. Deja vu: the evolution of feeding morphologies in the Carnivora. *Integrative and Comparative Biology* 47(1): 147-163.
- Venail., P. A., Narwani., A., Fritschie., K., Alexandrou., M. A., Oakley., T. H., and Cardinale., B. J. 2014. The influence of phylogenetic relatedness on species interactions among freshwater green algae in a mesocosm experiment. *Journal of Ecology* 102(5): 1288-1299.
- Vieira., E. M., and Port., D. 2007. Niche overlap and resource partitioning between two sympatric fox species in southern Brazil. *Journal of Zoology* 272: 57-63.
- Wang, X., and Tedford, R. H. 2007. Evolutionary history of canids. In: Jensen, P. eds. *The Behavioural Biology of Dogs*. Oxford.
- Wang, X., and Tedford, R. eds. 2008. *Dogs: Their Fossil Relatives and Evolutionary History*. Columbia University Press.
- Wayne., R. K., Geffen., E., Girman., D. J., Koepfli., K. P., Lau., L. M., and Marshall., C. R. 1997. Molecular Systematics of the Canidae. *Systematic Biology* 46(4): 622-653.
- Wilson., D. E., and Mittermeier, A. R. eds. 2009. *Handbook of the Mammals of the world-Carnivores*. Lynx Edicions.
- Zachos., J., Pagani., M., Sloan., L. Thomas., E., and Billups., K. 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 292(5517): 686-693.
- Zrzavy., J., and Ricankova., V. 2004. Phylogeny of recent Canidae (Mammalia, Carnivora): relative reliability and utility of morphological and molecular datasets. *Zoologica Scripta* 33: 311-333.

Apêndice

Tabela 4. Números de acesso do *GenBank* de todas as sequências moleculares de cada espécie utilizadas para a construção filogenética. (x) representam dados faltantes para as espécies.

Atelocynus microtis

DQ240290	DQ240323	DQ240357	DQ240425	DQ240459
DQ240493	DQ240526	AY885309	DQ240555	DQ240588
AY885333	AY885356	DQ240622	AY885380	DQ240688
DQ240722	AY609087	DQ240755	AY885404	DQ240789
AF028183	AF028207	AF028159		

Canis adustus

DQ240291	DQ240324	DQ240358	DQ240426	DQ240460
DQ240494	DQ240527	AY885310	DQ240556	DQ240589
AY885334	AY885357	DQ240623	AY885381	DQ240689
DQ240723	AY609088	DQ240756	AY885405	DQ240790
AF028184	AF028208	AF028160		

Canis aureus

DQ240292	DQ240325	DQ240359	DQ240427	DQ240461
DQ240495	DQ240528	AY885312	DQ240557	DQ240590
AY885336	AY885359	DQ240624	AY885383	DQ240690
DQ240724	AY609091	DQ240757	AY885407	DQ240791
AF028186	AF028210	AF028162		

Canis anthus (nova espécie)

x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

x	x	x	x	x	x	x	x	x		
---	---	---	---	---	---	---	---	---	--	--

KT378606	KT378606	KT378606								
----------	----------	----------	--	--	--	--	--	--	--	--

Canis lupus

DQ240294	DQ240327	DQ240361	DQ240429	DQ240463
DQ240497	DQ240530	AY885315	DQ240559	DQ240592
AY885339	AY885362	DQ240626	AY885386	DQ240692
DQ240726	AY609095	DQ240759	AY885410	DQ240793
AF028189	AF028213	AY928668		

Canis latrans

DQ240293	DQ240326	DQ240360	DQ240428	DQ240462
DQ240496	DQ240529	AY885314	DQ240558	DQ240591
AY885338	AY885361	DQ240625	AY885385	DQ240691

DQ240725	AY609094	DQ240758	AY885409	DQ240792
AF028188	AF028212	AF028164		

Canis mesomelas

DQ240295	DQ240328	DQ240362	DQ240430	DQ240464
DQ240498	DQ240531	AY885316	DQ240560	DQ240593
AY885340	AY885363	DQ240627	AY885387	DQ240693
DQ240727	AY609097	DQ240760	AY885411	DQ240794
AF028191	AF028214	AF028167		

Canis rufus

x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

U47037

Canis simensis

DQ240296	DQ240329	DQ240363	DQ240431	DQ240465
DQ240499	DQ240532	DQ239439	DQ240561	DQ240594
DQ239447	DQ239455	DQ240628	DQ239463	DQ240694
DQ240728	DQ239471	DQ240761	DQ239479	DQ240795
AF028192	AF028216	AF028168		

Cerdocyon thous

DQ240297	DQ240330	DQ240364	DQ240432	DQ240466
DQ240500	DQ240533	AY885317	DQ240562	DQ240595
AY885341	AY885364	DQ240629	AY885388	DQ240695
DQ240729	AY609099	DQ240762	AY885412	DQ240796
AF028193	AF028193	AF028169		

Chrysocyon brachyurus

DQ240298	DQ240331	DQ240365	DQ240433	DQ240467
DQ240501	DQ240534	AY885313	DQ240563	DQ240596
AY885337	AY885360	DQ240630	AY885384	DQ240696
DQ240730	AY609092	DQ240763	AY885408	DQ240797
AF028187	AF028211	AF028163		

Cuon alpinus

DQ240299	DQ240332	DQ240366	DQ240434	DQ240468
DQ240502	DQ240535	AY885311	DQ240564	DQ240597
AY885335	AY885358	DQ240631	AY885382	DQ240697
DQ240731	AY609090	DQ240764	AY885406	DQ240798
AF028185	AF028209	AF028161		

Dusicyon australis

X X X X X X X X X X X

x x x x x x x x x x

GQ485610 GQ485615

Lycaon pictus

DQ240300 DQ240333 DQ240367 DQ240435 DQ240469
DQ240503 DQ240536 AY885323 DQ240565 DQ240598
AY885347 AY885370 DQ240632 AY885394 DQ240698
DQ240732 AY609108 DQ240765 AY885418 DQ240799
AF028195 AF028219 AF028147

Nyctereutes procyonoides

DQ240301 DQ240334 DQ240368 DQ240436 DQ240470
DQ240504 x AY885324 DQ240566 DQ240599
AY885348 AY885371 DQ240633 AY885395 DQ240699
DQ240733 AY609111 DQ240766 AY885419 DQ240800
AF028197 AF028221 AB607938

Lycalopex culpaeus

DQ240303 DQ240336 DQ240370 DQ240438 DQ240472
DQ240506 DQ240537 DQ239440 DQ240568 DQ240601
DQ239448 DQ239456 DQ240635 DQ239464 DQ240701
DQ240735 DQ239472 DQ240768 DQ239480 DQ240802
AF028199 AF028223 AF028151

Lycalopex fulvipes

DQ240304 DQ240337 DQ240371 DQ240439 DQ240473
DQ240507 DQ240538 DQ239441 DQ240569 DQ240602
DQ239449 DQ239457 DQ240636 DQ239465 DQ240702
DQ240736 DQ239473 DQ240769 DQ239481 DQ240803
x x x

Lycalopex griseus

DQ240305 DQ240338 DQ240372 DQ240440 DQ240474
DQ240508 x AY885319 DQ240570 DQ240603
AY885343 AY885366 DQ240637 AY885390 DQ240703
DQ240737 AY609103 DQ240770 AY885414 DQ240804
AF028200 AF028224 AF028152

Lycalopex gymnocercus

DQ240306	DQ240339	DQ240373	DQ240441	DQ240475
DQ240509	DQ240539	AY885320	DQ240571	DQ240604
AY885344	AY885367	DQ240638	AY885391	DQ240704
DQ240738	AY609105	DQ240771	AY885415	DQ240805
AF028201	AF028225	AF028153		

Lycalopex sechurae

DQ240307	DQ240340	DQ240374	DQ240442	DQ240476
DQ240510	x	AY885321	DQ240572	DQ240605
AY885345	AY885368	DQ240639	AY885392	DQ240705
DQ240739	AY609100	DQ240772	AY885416	DQ240806
AF028202	AF028226	AF028154		

Lycalopex vetulus

DQ240308	DQ240341	DQ240375	DQ240443	DQ240477
DQ240511	DQ240540	DQ239442	DQ240573	DQ240606
DQ239450	DQ239458	DQ240640	DQ239466	DQ240706
x	DQ239474	DQ240773	DQ239482	DQ240807
AF028196	AF028220	AF028148		

Speothos venaticus

DQ240309	DQ240342	DQ240376	DQ240444	DQ240478
DQ240512	DQ240541	AY885326	DQ240574	DQ240607
AY885350	AY885373	DQ240641	AY885397	DQ240707
DQ240740	AY609116	DQ240774	AY885421	DQ240808
AF028203	AF028227	AF028155		

Urocyon cinereoargenteus

DQ240310	DQ240343	DQ240377	DQ240445	DQ240479
DQ240513	DQ240542	AY885327	DQ240575	DQ240608
AY885351	AY885374	DQ240642	AY885398	DQ240708
DQ240741	AY609118	DQ240775	AY885422	DQ240809
AF028204	AF028228	AF028156		

Urocyon littoralis

DQ240311	DQ240344	DQ240378	DQ240446	DQ240480
DQ240514	DQ240543	DQ239443	DQ240576	DQ240609
DQ239451	DQ239459	DQ240643	DQ240675	DQ240709
DQ240742	DQ239475	DQ240776	DQ239483	DQ240810
x	KP129082			x

Otocyon megalotis

DQ240302	DQ240335	DQ240369	DQ240437	DQ240471
DQ240505	x	AY885325	DQ240567	DQ240600

AY885349	AY885372	DQ240634	AY885396	DQ240700
DQ240734	AY609114	DQ240767	AY885420	DQ240801
AF028198	AF028222	AF028150		

Vulpes bengalensis

x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x										

Vulpes cana

DQ240312	DQ240345	DQ240379	DQ240447	DQ240481
DQ240515	DQ240544	DQ239444	DQ240577	DQ240610
DQ239452	DQ239460	DQ240644	DQ239468	DQ240710
DQ240743	DQ239476	DQ240777	DQ239484	DQ240811
x	x			x

Vulpes chama

DQ240313	DQ240346	DQ240380	DQ240448	DQ240482
DQ240516	DQ240545	DQ239445	DQ240578	DQ240611
DQ239453	DQ239461	DQ240645	DQ239469	DQ240711
DQ240744	DQ239477	DQ240778	DQ239485	DQ240812
x	x			x

Vulpes corsac

DQ240314	DQ240347	DQ240381	DQ240449	DQ240483
DQ240517	DQ240546	AY885328	DQ240579	DQ240612
AY885352	AY885375	DQ240646	AY885399	DQ240712
DQ240745	AY609120	DQ240779	AY885423	DQ240813
AY894422	AY609156	NC_023958		

Vulpes ferrilata

x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x		KT033906.1
KT033906.1		KT033906.1								

Vulpes macrotis

DQ240315	DQ240348	DQ240382	DQ240450	DQ240484
DQ240518	DQ240547	AY885329	DQ240580	DQ240613
AY885353	AY885376	DQ240647	AY885400	DQ240713

DQ240746 AY609121 DQ240780 AY885424 DQ240814
 AF028205 AF028229 AF028157

Vulpes pallida

x x x x x x x x x x x
 x x x x x x x x x x x

KJ597964

Vulpes rueppellii

DQ240316 DQ240349 DQ240383 DQ240451 DQ240485
 DQ240519 DQ240548 DQ239446 DQ240581 DQ240614
 DQ239454 DQ239462 DQ240648 DQ239470 DQ240714
 DQ240747 DQ239478 DQ240781 DQ239486 DQ240815 x
 x KJ597969

Vulpes velox

x x x x x x x x x x x x
 x DQ205838 x x x x x x JF443555 x x
 x

Vulpes vulpes

DQ240317 DQ240350 DQ240384 DQ240452 DQ240486
 DQ240520 DQ240549 AY885330 DQ240582 DQ240615
 AY885354 AY885377 DQ240649 AY885401 DQ240715
 DQ240748 AY609122 DQ240782 AY885425 DQ240816
 AF028206 AF028230 AY928669

Vulpes zerda

DQ240318 DQ240351 DQ240385 DQ240453 DQ240487
 DQ240521 DQ240550 AY885322 x DQ240616
 AY885346 AY885369 DQ240650 AY885393 DQ240716
 DQ240749 AY609106 DQ240783 AY885417 DQ240817
 AF028194 AF028218 AF028146

Vulpes lagopus

DQ240289 DQ240322 DQ240356 DQ240424 DQ240458
 DQ240492 DQ240525 AY885308 DQ240554 DQ240587
 AY885332 AY885355 DQ240621 AY885379 DQ240687
 DQ240721 AY609086 DQ240754 AY885403 DQ240788
 AY894421 AY609139 KM224347

Ailuropoda melanoleuca

DQ240319	GU930904	DQ240387	DQ240455	DQ240489
DQ240522	DQ240552	DQ093074	DQ240584	DQ240618
DQ093086	DQ093091	DQ240652	DQ093094	DQ240718
DQ240751	DQ093097	DQ240785	DQ093103	AM748296
DQ093081	DQ093077	KP306773		