

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA  
CURSO DE MESTRADO EM ZOOLOGIA

**FILOGENIA MOLECULAR DOS XENARTHRA  
(MAMMALIA): ANÁLISE DO GRUPO  
CINGULATA A PARTIR DE SEQÜÊNCIAS  
NUCLEOTÍDICAS DO GENE MITOCONDRIAL  
rRNA 16S**

CHRISTÓVAM PAMPLONA NETO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, curso de mestrado, da Universidade Federal do Pará e do Museu Paraense Emílio Goeldi como requisito para obtenção do grau de mestre em zoologia.

Orientador: Dr. Horacio Schneider

Belém-Pará  
Maio de 2007

CHRISTÓVAM PAMPLONA NETO

**FILOGENIA MOLECULAR DOS XENARTHRA  
(MAMMALIA): ANÁLISE DO GRUPO  
CINGULATA A PARTIR DE SEQÜÊNCIAS  
NUCLEOTÍDICAS DO GENE MITOCONDRIAL  
rRNA 16S**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, curso de mestrado, da Universidade Federal do Pará e do Museu Paraense Emílio Goeldi como requisito para obtenção do grau de mestre em zoologia.

Orientador: Dr. Horacio Schneider

Belém-Pará  
Maio de 2007

CHRISTÓVAM PAMPLONA NETO

**FILOGENIA MOLECULAR DOS XENARTHRA (MAMMALIA):  
ANÁLISE DO GRUPO CINGULATA A PARTIR DE SEQÜÊNCIAS  
NUCLEOTÍDICAS DO GENE MITOCONDRIAL rRNA 16S**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, curso de mestrado, da Universidade Federal do Pará e do Museu Paraense Emílio Goeldi como requisito para obtenção do grau de mestre em zoologia, pela comissão formada pelos professores:

---

Prof. Dr. Horacio Schneider (UFPA).

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudene Barros (UEMA).

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ândrea Kely dos Santos (UFPA).

---

Prof. Dr. José de Sousa e Silva Jr. (Cazuza) (MPEG).

Belém, 01 de maio de 2007

“O propósito da ciência é remover a camada de aparência dos objetos para revelar sua natureza subjacente”.

Michio Kaku, professor de física teórica da Universidade de Nova York.

Esta dissertação é dedicada à Suely.

## Agradecimentos

Agradeço à Universidade Federal do Pará (UFPA), ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que proporcionaram a estrutura para que este trabalho pudesse ser desenvolvido. Agradeço ao Dr. Emmanuel J. P. Duzery (Laboratório de Paleontologia, Paleobiologia e Filogenia do Instituto de Ciências da Evolução, Universidade Montpellier II, Montpellier, França) que cedeu o banco de dados utilizado no trabalho publicado por Delsuc *et al.* (2003). Agradeço ao Dr. Timothy J. Gaudin (Departamento de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade do Tennessee em Chattanooga, TN.) que gentilmente nos cedeu uma cópia do seu trabalho de 2005. Agradeço a curadoria da coleção de Mastozoologia do MPEG, Dr<sup>a</sup>. Suely Aguiar, Dr. José de Souza e Silva Jr. e João Queiroz pela disponibilização das amostras de material biológico dos espécimes utilizados neste trabalho. Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Iracilda Sampáio pelo grande auxílio e atenção dedicados ao desenvolvimento do trabalho. Agradeço a Dr<sup>a</sup>. Wilsea Figueiredo e suas alunas Kátia Nobre, Luciana Pimentel e Marcela Almeida pela inestimável ajuda no desenvolvimento e padronização das técnicas e no desenvolvimento do trabalho. Agradeço aos colegas Célia Serra, Me. Péricles Sena, Me. Juliana Araripe, Dr<sup>a</sup>. Simôni Santos, Me. Grazielle Gomes, Me. Rosa Rodrigues, Luiz Fernando Rodrigues, Divino da Cunha e Diana Oliveira pela ajuda no laboratório. Agradeço ao Dr. Peter Mann de Toledo, à Dr<sup>a</sup>. Dilce Rossetti, à Me. Heloísa Moraes Santos e à Me. Sue Anne Costa. Agradeço aos Colegas Leonardo Ribeiro, Denys Ferreira, Livia Guimarães, Samantha Cecim e André Barros. Agradeço a minha família, minha mãe Ana Maria Pamplona, minha irmã Chrystiane Pamplona Pinho. Agradeço a Suely Pantoja. Agradeço aos amigos de Bragança, a AMA e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho. Muito Obrigado!!! Força sempre!!!

# Sumário

<b>Resumo</b>	<b>iv</b>
<b>Abstract</b>	<b>v</b>
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Filogenia Molecular . . . . .	1
1.2 O Grupo Xenarthra . . . . .	6
1.2.1 História Natural do Grupo Xenarthra . . . . .	6
1.2.2 Diversidade do Grupo Xenarthra . . . . .	8
1.2.3 Filogenia do Grupo Xenarthra . . . . .	33
1.3 Os Genomas Mitocondrial e Nuclear e suas Aplicações em Filogenia Molecular . . . . .	39
<b>2 Objetivos</b>	<b>42</b>
2.1 Objetivo Geral . . . . .	42
2.2 Objetivos Específicos . . . . .	42
<b>3 Metodologia</b>	<b>43</b>
3.1 Construção do banco de dados . . . . .	48
3.2 Análise de Máxima Verossimilhança . . . . .	50
<b>4 Resultados</b>	<b>52</b>
<b>5 Discussão</b>	<b>60</b>
<b>6 Conclusão</b>	<b>67</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>68</b>
<b>Apêndice A</b>	<b>79</b>

## Lista de Figuras

1	Preguiça comum. Representante do gênero <i>Bradypus</i> . . . . .	10
2	Preguiça real. Gênero <i>Choloepus</i> . . . . .	13
3	Tamanduá-bandeira. Gênero <i>Myrmecophaga</i> . . . . .	15
4	Tamanduá-mirim. Gênero <i>Tamandua</i> . . . . .	16
5	Tamanduá-i. Gênero <i>Cyclopes</i> . . . . .	18
6	Tatu-verdadeiro. Gênero <i>Dasypus</i> . . . . .	20
7	Tatu peludo. Gênero <i>Euphractus</i> . . . . .	23
8	Gênero <i>Chaetophractus</i> . . . . .	24
9	Gênero <i>Zaedyus</i> . . . . .	26
10	Gênero <i>Chlamyphorus</i> . . . . .	27
11	Tatu bola. Gênero <i>Tolypeutes</i> . . . . .	29
12	Tatu de rabo mole menor. Gênero <i>Cabassous</i> . . . . .	30
13	Tatu-canastra. Gênero <i>Priodontes</i> . . . . .	33
14	Filogenia molecular dos Cingulata segundo Delsuc <i>et al.</i> (2003). Os números nos nós representam valores de <b>bootstrap</b> . . . . .	37
15	Filogenia dos Cingulata segundo Gaudin (2005). Os números nos nós representam valores de <b>bootstrap</b> . . . . .	38
16	Freqüência de árvores mais parcimoniosas geradas ao acaso a partir do banco de dados do gene <b>16S</b> . . . . .	53
17	Filogenia molecular dos Xenarthra com base no gene mitocon- drial <b>16S</b> obtida pelo critério de máxima verossimilhança. <i>GB</i> = <b>GenBank</b> ; <i>MG</i> = Museu Goeldi; e <i>PV</i> = Porto Velho. . . . .	55
18	Árvore de consenso de maioria da análise de máxima veros- similhança com <b>bootstrap</b> de 1000 pseudo-réplicas, para a filogenia molecular dos Xenarthra, inferida a partir do banco de dados do gene <b>16S</b> . . . . .	56
19	Filogenia molecular dos Xenarthra obtida pelo critério de máxima verossimilhança, a partir dos bancos de dados concatenados <b>16S</b> e banco de dados de Delsuc <i>et al.</i> (2003). . . . .	58
20	Árvore de consenso de maioria da análise de máxima veros- similhança com <b>bootstrap</b> de 1000 pseudo-réplicas, para a filogenia molecular dos Xenarthra, inferida a partir do banco de dados do gene <b>16S</b> e do banco de dados de Delsuc <i>et al.</i> (2003). . . . .	59



## Lista de Tabelas

1	Características dos genomas de metazoários. . . . .	40
2	Exemplares utilizados. . . . .	43
3	Inicializadores utilizados para a amplificação do gene <b>16S</b> . . .	47
4	Banco de dados 1 (gene <b>16S</b> ). . . . .	49
5	Banco de dados 2 (gene <b>16S</b> mais genes mitocondriais do banco de dados usado em Delsuc <i>et al.</i> [2003]). . . . .	51
6	Banco de dados 2 (genes nucleares do banco de dados usado em Delsuc <i>et al.</i> [2003]). . . . .	51

## Resumo

Os Xenarthra são o grupo de mamíferos que inclui os tatus, os tamanduás e as preguiças. A América do Sul serviu de cenário para a história natural do grupo que, somente no fim do Cenozóico, dispersou-se para a América Central e, com uma perda de variedade, chegou à América do Norte e à algumas ilhas do Caribe. Trinta e uma espécies estão descritas dentro da linhagem dos Xenarthra. Elas estão classificadas em 13 gêneros, quatro famílias (Bradypodidae, Megalonychidae, Myrmecophagidae e Dasypodidae) e duas ordens (Cingulata e Pilosa). A filogenia deste grupo tem sido alvo de diversas pesquisas que analisaram tanto dados morfológicos, quanto moleculares. Delsuc *et al.* (2003) analisaram seqüências de genes mitocondriais e nucleares e confirmaram a monofilia das três subfamílias (Dasypodinae, Euphactinae e Tolyteutinae) inclusas na família Dasypodidae. Delsuc *et al.* (2003) geraram a seguinte árvore: (((*Bradypus*, *Choloepus*)100, ((*Myrmecophaga*, *Tamandua*)100, *Cyclopes*)100), ((*D. kappleri*, *D. novemcinctus*)100, (*Tolyteutes*, (*Priodontes*, *Cabassous*)54)100, (*Zaedyus*, (*Euphractus*, *Chaetophractus*)60)100)). Gaudin (2005) apresentou um trabalho que reviu e ampliou as análises morfológicas apresentadas até então, concluindo que os tatus atuais estão divididos em dois grupos, um mais basal (Dasypodinae) e outro mais derivado (Euphractinae), de acordo com o seguinte arranjo: (*Bradypus*, *Tamandua*), (*Dasypus*, (*Priodontes*, (*Cabassous*, (*Tolyteutes*, (*Euphractus*, *Chaetophractus*, (*Zaedyus*, *Chlamyphorus*)42)36)72)72)40)85). Neste trabalho utilizou-se parte do gene mitocondrial rRNA **16S** de 12 táxons atuais de Xenarthra para analisar a filogenia do grupo através do critério de máxima verossimilhança. Nossos resultados são apresentados analisando-se o gene **16S** e analisando o banco de dados do **16S** mais o de Delsuc *et al.* (2003). Nas duas situações, as filogenias apresentadas apóiam os resultados de Delsuc *et al.* (2003): (*Bradypus*, (*Choloepus*, ((*Cyclopes*, (*Myrmecophaga*, *Tamandua*)100)100, (*Dasypus*, (((*Cabassous*, *Priodontes*)68, *Tolyteutes*)100, ((*Chaetophractus*, *Euphractus*)65, *Zaedyus*)100)100)100)100). Uma melhora nos valores de **bootstrap** nos ramos dentro das sub-famílias da família Dasypodidae é percebida em relação ao trabalho de Delsuc *et al.* (2003). Acreditamos que Elementos de Transposição do tipo (**LINES**) são os marcadores moleculares mais adequados para confirmar o arranjo obtido com as seqüências de genes mitocondriais e nucleares.

**Palavras-chave:** Tatus, Cingulata, filogenia, **16S**.

## Abstract

Xenarthra is the group of mammals which include armadillos, anteaters and sloths. South America was the landscape of their natural history. Only toward the end of the Cenozoic they spread from South America to Central America and, in decreasing variety, farther in North America and to some of the West Indian islands. The 31 extant species are described within xenarthran lineage. They are distributed in 13 genera, four families (Bradyrodidae, Magelonychidae, Myrmecophagidae and Dasypodidae) and two orders (Cingulata and Pilosa). The phylogeny of this group has been addressed by multiple researchers using both morphological and molecular data sets. Through phylogenetic analyses of protein-coding nuclear genes and mitochondrial genes, Delsuc *et al.* (2003) found evidence for the hypothesis of monophyly of the subfamilies Dasypodinae, Tolypeutinae and Euphractinae within the family Dasypodidae. They had generated the following tree: (((*Bradypus*, *Choloepus*)100, ((*Myrmecophaga*, *Tamandua*)100, *Cyclopes*)100), ((*D. kappleri*, *D. novemcinctus*)100, (*Tolypeutes*, (*Priodontes*, *Cabassous*)54)100, (*Zaedyus*, (*Euphractus*, *Chaetophractus*)60)100)). Gaudin (2005) presented a work that reviewed and extended the morphological data available, concluding that the extant armadillos are divided in two groups, a basal group (Dasypodinae) and another more derivative (Euphractinae), in accordance with the following arrangement: (*Bradypus*, *Tamandua*), (*Dasypus*, (*Priodontes*, (*Cabassous*, (*Tolypeutes*, (*Euphractus*, *Chaetophractus*, (*Zaedyus*, *Chlamyphorus*)42)36)72)72)40)85). In the work described in this dissertation, we sequenced part of the **16S** rRNA mitochondrial gene from 12 extant taxa of Xenarthra to perform phylogeny analysis based on maximum-likelihood. Our results are presented analysing the **16S** gene data alone, and concatenated with the dataset of Delsuc *et al.* (2003): (*Bradypus*, (*Choloepus*, ((*Cyclopes*, (*Myrmecophaga*, *Tamandua*)100)100, (*Dasypus*, (((*Cabassous*, *Priodontes*)68, *Tolypeutes*)100, ((*Chaetophractus*, *Euphractus*)65, *Zaedyus*)100)100)100)100). Results were similar to those of previous studies. However, an improvement in **bootstrap** values of certain branches could be noticed. We believe that Transposable Elements (**LINES**) are the molecular markers more adjusted to confirm uncertain arrangements suggested by phylogenetic analyses mitochondrials and nuclear genes.

**Key words:** Armadillos, Cingulata, phylogeny, **16S**.

# 1 Introdução

## 1.1 Filogenia Molecular

Filogenia é uma representação gráfica, através de um dendrograma, da diversidade biológica de um grupo, baseada na história evolutiva do mesmo. Quando Darwin (1859) [10], em “*A Origem das Espécies*”, propôs que os organismos vivos descendem de um ancestral comum, ele propôs também que a melhor maneira de se representar a relação de origem e descendência entre as espécies seria através de uma árvore. A única figura publicada no livro de 1859 é um dendrograma mostrando o modelo de especiação que Darwin acreditava ser o verdadeiro.

Muitos tipos de caracteres (morfológicos, moleculares, comportamentais, ecológicos, etc.) podem ser utilizados para a inferência de filogenias, assim como, muitos critérios também podem ser utilizados. Os caracteres são divididos em binários ou multiestado. Já os critérios podem ser: numéricos; filogenéticos; estatísticos baseados em métodos freqüentistas; ou estatísticos baseados em métodos Bayesianos (Schneider, 2003) [66].

Apesar de há muito tempo pesquisadores como o próprio Linnaeus (1758) [41], propositos do sistema de nomenclatura usado até hoje em zoologia, perceberem a necessidade do desenvolvimento de sistemas naturais de classificação, baseados na maior quantidade de caracteres possíveis, os primeiros

critérios desenvolvidos para a classificação dos seres vivos eram bastante subjetivos. A escola clássica de classificação biológica tem seus princípios fundamentados no trabalho de Simpson (1945) [68] *“The principles of classification and a classification of mammals”*.

A segunda abordagem proposta para a classificação dos organismos foi feita por Sokal & Sneath (1963) [71] e é conhecida como Taxonomia Numérica. Sneath & Sokal (1973) [70] definiram a taxonomia numérica como: o agrupamento de unidades taxonômicas em táxons por critérios numéricos (distância), com base nos estados dos seus caracteres. Entende-se aqui por caráter qualquer propriedade observada em um organismo, a qual pode variar de um organismo para outro.

A terceira abordagem, a Sistemática Filogenética, também chamada de Cladística, foi introduzida por Hennig em 1950, mas só ganhou uma significativa difusão após a publicação da versão para o Inglês de seu trabalho, Hennig (1966) [31], originalmente apresentado em Alemão. Caracteres utilizados em uma análise Cladística são polarizados, classificados em ancestrais (plesiomórficos) e derivados (apomórficos). Para a polarização dos caracteres costuma-se designar um grupo externo que servirá de “modelo” para a polarização, determinando se um caráter é plesiomórfico ou apomórfico. A Cladística utiliza o critério de Parcimônia para a escolha da topologia de uma árvore.

Cavalli-Sforza & Edwards (1967) [9] utilizaram uma abordagem nova para inferir filogenias, baseada em métodos estatísticos. O critério de máxima verossimilhança, utilizado por estes pesquisadores, exige a proposição de um modelo para a evolução dos caracteres. Aceitando-se que todos os caracteres evoluem independentemente, a estimativa de máxima probabilidade para um grupo de dados é igual ao produto das probabilidades para cada caráter. As probabilidades de mudanças para cada caráter são calculadas com base em métodos de Estatística Frequentista.

O último critério utilizado para se inferir filogenias é baseado em estatística Bayesiana. O algoritmo de inferência Bayesiana de Huelsenbeck & Ronquist (2001) [37] assume uma probabilidade previa de uma topologia ser a verdadeira, integra todos as combinações de comprimento de braços e parâmetros de substituição e utiliza o teorema de Bayes para calcular a probabilidade posterior da mesma filogenia ser a verdadeira.

Atualmente, o critério de distância ainda é muito utilizado em análises moleculares, principalmente o algoritmo de Agrupamento de Vizinhos desenvolvido por Saitou & Nei (1997) [64]. Esta utilização se deve ao fato de as análises de distância são bastante rápidas e podem ser aplicadas a um grande número de táxons. De uma maneira geral, seqüências com evolução molecular mais lenta registram partes mais antigas da história da vida e seqüências com evolução mais rápida registram partes mais recentes da história dos organis-

mos. Portanto, uma análise de distância, vai contar a história correta de um determinado grupo se o marcador molecular utilizado (sequência escolhida) evoluiu junto com a diversificação do grupo. Caso contrário provavelmente a filogenia não terá resolução.

Em sistemática molecular, ou seja, quando utilizamos dados moleculares para inferir as relações e a história evolutiva dos organismos, o que foi explicado acima sobre a escolha do marcador a ser utilizado em uma análise é válido para todos os tipos de análises. No entanto, a análise mais vulnerável à escolha do marcador molecular é a análise de distância.

A principal crítica à Sistemática Filogenética está relacionada à determinação da natureza ancestral ou derivada de certos caracteres e à adoção do critério de parcimônia para a busca da árvore correta. A escolha do grupo externo é fundamental em Cladística, pois este determina a direção da evolução dos caracteres implícita na análise, e exige algum conhecimento prévio sobre a relação entre os grupos. Com relação ao critério de parcimônia, ele é uma solução bastante simples e prática para uma análise com um número de táxons não muito grande, mas não existe razão científica para que entre diversas alternativas igualmente possíveis se escolha a mais simples.

O critério de máxima verossimilhança exige a adoção de um modelo explícito. Isso praticamente inviabiliza a análise de dados morfológicos. Com relação aos dados moleculares, apesar de os modelos de evolução molecular

serem pouco numerosos e simples, a escolha do modelo adequado era uma tarefa difícil e sem justificativas claras. Esta situação mudou com a adoção da estatística **LRT** (**log-likelihood ratio**) e o desenvolvimento de programas de computador para o cálculo e comparação desta estatística e escolha do modelo evolutivo. Um número grande de táxons pode exigir um tempo de processamento de dados muito grande.

A Estatística Bayesiana vem ganhando espaço nas mais diversas áreas e inclusive vem mudando a forma de interpretação dos fenômenos. Ao invés do tradicional tudo-ou-nada, significativo ou não-significativo da Estatística Frequentista, a Estatística Bayesiana trabalha o conceito de “graus de confiabilidade” levando em conta não só a probabilidade após o teste, mas incorporando também a probabilidade antes do teste, ou seja, todos os resultados são considerados, aumentando ou diminuindo o grau de confiabilidade em determinada hipótese.

A principal crítica à análise de filogenias pelo Método Bayesiano está relacionada à forma como o programa **Mr. Bayes** gera os índices de suporte de ramos individuais de uma árvore que, geralmente, quando comparados aos resultados de análises feitas por outro critério mostram-se superestimados. A inferência de filogenias utilizando-se a Análise Bayesiana ainda é muito recente e precisa de aperfeiçoamentos.

Agora, podemos definir filogenia molecular como uma representação gráfica,



através de um dendrograma, da diversidade biológica de um grupo, baseada na história evolutiva do mesmo, inferida através de um método de análise (Taxonomia Numérica, Sistemática Filogenética, Análise de Máxima Verossimilhança ou Análise Bayesiana) a partir de dados moleculares (seqüências de nucleotídeos ou de aminoácidos).

## **1.2 O Grupo Xenarthra**

### **1.2.1 História Natural do Grupo Xenarthra**

Os primeiros registros fósseis para os Xenarthra datam do Paleógeno, por volta de 50 milhões de anos (m.a.), mas provavelmente o grupo se originou antes do evento que separou a África da América do Sul. A fauna do continente Sul-Americano permaneceu isolada durante todo o período Neógeno. Durante este isolamento, a mastofauna sul-americana era composta inicialmente por apenas três grupos: os marsupiais, os xenartros e os ungulatos. Posteriormente, a mastofauna sul-americana sofreu algum aporte por conta de intercâmbios faunísticos (Simpson, 1980) [69].

Entre os grupos originalmente presentes na América do Sul, os Xenarthra são os de maior singularidade, tanto no que diz respeito a seus aspectos biológicos quanto filogenéticos, os quais, até hoje, levantam questões. A própria definição do táxon, bem como sua taxonomia e classificação, sofreram muitas modificações, não tendo existido entre os mamíferos grupo que já

tivesse presenciado tantas alterações (Hoffstetter, 1982) [34].

Quando teve fim o lento processo de elevação dos Andes e da América Central, consolidando a ponte entre as Américas do Sul e do Norte, o grupo Xenarthra sofreu uma acentuada diminuição de sua diversidade. Além dos gliptodontes (*tatus gigantes*) extinguiram-se também as preguiças terrícolas (Cartelle, 1994) [8]. De acordo com McKenna & Bell (1997) [42], a ordem Xenarthra apresenta 218 gêneros fósseis, sendo que aproximadamente metade destes são gêneros de preguiças extintas.

Os Xenarthra podem ser separados dos outros mamíferos por duas características exclusivas:

1. O modo de articulação de suas vértebras dorso-lombares, as quais, além das articulações comuns, apresentam articulações adicionais acessórias, chamadas de xenartrias (Emry, 1970 [18]; Paula Couto, 1979 [58]; Glass, 1985 [27]; Engelmann, 1985 [19]; Patterson *et al.*, 1992 [57]; Rose & Emry, 1993 [62]; Gaudin & Branham, 1998 [25]); e
2. A ausência de três aminoácidos consecutivos na proteína  $\alpha$ -cristalina A, que compõe a lente dos olhos (De Jong *et al.*, 1985 [12]; De Jong, 1998 [11]; Van Dijk *et al.*, 1999 [75]).

### 1.2.2 Diversidade do Grupo Xenarthra

O grupo Xenarthra reúne os tatus, as preguiças e os tamanduás. Segundo McKenna & Bell, 1997 [42] as preguiças e os tamanduás estão dentro do grupo Pilosa, que possui três famílias. Os tamanduás são da família Myrmecophagidae, as preguiças comuns estão reunidas na família Bradypodidae e as preguiças reais estão na família Megalonychidae. Os tatus compõem o grupo Cingulata, que possui apenas a família Dasypodidae.

Na última revisão taxonômica do grupo Xenarthra (ver: Wetzel, 1985) [78], 29 espécies foram reconhecidas e relacionadas. Uma espécie de tatu da Argentina, *Dasypus yepesi* Vizcaíno, 1995 [76], e uma de preguiça do Panamá, *Bradypus pygmaeus* Anderson & Handley, 2001 [1], foram descritas recentemente. As espécies apresentadas neste trabalho foram descritas com base em Eisenberg & Redford (1999) [17] por julgarmos que estes as apresentem de maneira bastante clara e didática, com exceção das espécies do gênero *Bradypus* que foram descritas com base na última revisão do gênero (ver: Anderson & Handley, 2001 [1]).

#### FAMÍLIA BRADYPODIDAE

A família Bradypodidae possui apenas um gênero com representantes vivos, *Bradypus*. Quatro espécies fazem parte deste gênero *B. tridactylus*, *B. variegatus*, *B. torquatus* e *B. pygmaeus*. Existem algumas dúvidas

com relação à identificação exata dos tipos de dentes remanescentes, mas a fórmula dentária geralmente é escrita como 5/4-5. Os dentes são cilíndricos e crescem durante toda a vida. O comprimento da cabeça mais o do corpo variam de 400 a 800 mm e sua cauda corpulenta possui aproximadamente 68 mm de comprimento. O peso gira em torno de 2,25 a 5,50 kg. O pescoço possui de oito a nove vértebras cervicais. As patas dianteiras são ligeiramente mais longas que as traseiras e cada mão possui três longas garras. Os pêlos são longos e bastante espessos. Os pêlos podem apresentar algas e por esse motivo, individualmente, podem possuir uma coloração cinza-azulada. Machos adultos são do mesmo tamanho das fêmeas, mas possuem uma marca dorsal negra e laranja que os distingue das fêmeas, que não possuem a marca. Além das algas simbiotes, traças têm sido reportadas para os pêlos dos membros desta família.

**Distribuição** As preguiças comuns estão distribuídas desde o oeste de Honduras, cruzando a América do Sul, até o norte da Argentina.

O Gênero *Bradypus* Linnaeus, 1758 (Figura - 1)<sup>1</sup>.

*Bradypus tridactylus* Linnaeus, 1758.

*Bradypus tridactylus* apresenta um tamanho médio para o gênero. Não apresenta juba (“coleira”) e o macho possui uma marca laranjada no dorso.

---

<sup>1</sup>Fonte: <http://hedweb.com/animimag/sloths.jpg>



Figura 1: Preguiça comum. Representante do gênero *Bradypus*.

Tanto as patas dianteiras quanto a face possuem pêlos dourados. A face não apresenta tiras negras à altura dos olhos. O pescoço apresenta pêlos predominantemente dourados com a base cinza. Os pêlos da face são curtos e duros.

**Distribuição** Das Guianas às regiões adjacentes da região centro-leste da Venezuela e centro norte do Brasil.

*Bradypus variegatus* Schinz, 1825

Os machos adultos apresentam no dorso uma mancha laranjada característica. Não apresentam o círculo negro no pescoço que lembra uma coleira. A face é castanha ou dourada, quando dourada apresenta a base dos pêlos marrom-escuro. Na face geralmente encontramos listras negras a altura dos olhos. O pescoço é marrom ou ocasionalmente marrom coberto por dourado. Os pelos da face variam em termos de comprimento, mas nunca caem sobre a face dando a impressão destas usarem um capuz.

**Distribuição** Desde o leste de Honduras ao norte da Argentina. Em extensas áreas de florestas de baixas e médias altitudes na América Central. Na América do Sul, a oeste dos Andes até o sul do Equador. A leste dos Andes através da floresta amazônica, mas não na região das Guianas onde é substituída por *B. tridactylus*, podem ser encontradas também em algumas regiões do sudeste do Brasil e norte da Argentina. As preguiças comuns estão ausentes em habitats de savana, como o cerrado brasileiro e os llanos da Colômbia e Venezuela.

*Bradypus torquatus* Illinger, 1811 (Figura - 2)<sup>2</sup>

De grande tamanho, sem manchas no dorso e com uma juba negra característica sobre o pescoço, que lembra uma coleira. A pelagem sobre a face e o corpo é grisalha. Os pelos da face são curtos.

**Distribuição** Restrita a mata atlântica do Brasil.

*Bradypus pygmaeus* Anderson & Handley, 2001

*Bradypus pygmaeus* é pequena, o macho possui uma marca laranja sobre o dorso. Seu pescoço não possui uma juba negra. A face, de cor castanha, é cruzada por marcas negras características e longos pêlos caem sobre sua face, dando a impressão desta usar um capuz.

---

<sup>2</sup>Fonte: <http://www.perezosoproductions.com/images/PopupWhat3.jpg>

**Distribuição** Esta espécie é conhecida apenas da ilha de Escudo de Veraguas, província de Bocas Del Toro, República do Panamá onde é encontrada exclusivamente na vegetação de mangue vermelho.

#### **FAMÍLIA MEGALONYCHIDAE**

A família Megalonychidae também possui apenas um gênero com representantes vivos, *Choloepus*, com duas espécies *Choloepus didactylus* e *Choloepus hoffmanni*. A fórmula dentária é dada como 5/4-5. Os dentes anteriores, tanto na maxila superior como na inferior, são distintamente caninos e há um amplo espaço separando estes dos demais dentes. A nuca encurtada possui seis vértebras cervicais, as patas anteriores possuem apenas duas garras e a cauda é ausente ou vestigial. Os sexos não são facilmente distinguíveis por cor ou tamanho e a genitália tem que ser examinada manualmente através da abertura cloacal. As cores variam do marrom escuro ao amarelo claro. Algas simbiontes têm sido registradas nos pêlos dos indivíduos desta família.

**Distribuição** As espécies de preguiças reais ocorrem do norte da Nicarágua à região amazônica do Peru, Bolívia e Brasil.

Gênero *Choloepus* Illiger, 1811 (Figura - 3)<sup>3</sup>.



Figura 2: Preguiça real. Gênero *Choloepus*.

*Choloepus didactylus* (Linnaeus, 1758)

Esta espécie de preguiça real é um tanto maior que *C. hoffmanni*. O comprimento da cabeça e do corpo podem variar de 600 a 860 mm e a cauda vestigial de 14 a 15 mm. O peso varia de 4,0 a 8,4 kg. Os pêlos são geralmente castanhos ou marrons.

**Distribuição** Esta espécie ocorre a leste dos Andes no sul da Colômbia e na Venezuela e ao longo das duas margens do rio Amazonas no Brasil e na bacia amazônica da Colômbia, do Equador e do Peru.

---

<sup>3</sup>Fonte: <http://hoglezoo.org/animal.photos/hoffmans.sloth.jpg>



*Choloepus hoffmanni* Peters, 1859

Os comprimentos da cabeça e do corpo variam de 540 a 700 mm, e o peso é de 5,7 kg em média. Esta espécie é usualmente amarelo-esbranquiçada com os membros anteriores acastanhados.

**Distribuição** Ela distribui-se do norte da Nicarágua ao Equador no lado oeste dos Andes. Na parte leste, ela ocorre no Equador, Peru, Brasil e, possivelmente, na Bolívia.

#### **FAMÍLIA MYRMECOPHAGIDAE**

A família Myrmecophagidae possui três gêneros: *Myrmecophaga* com uma única espécie *M. tridactyla*; *Tamandua* com *T. tetradactyla* e *T. mexicana* e *Cyclopes* com apenas *Cyclopes didactylus*. Os dentes estão totalmente ausentes, e o rostrum do crânio é extremamente alongado. A longa língua projeta-se para a alimentação de formigas e cupins, é revestida com uma saliva pegajosa produzida por uma grande glândula submaxilar. As patas anteriores têm um grande terceiro dedo com uma forte garra, e os outros dígitos são um tanto reduzidos ou ausentes. As patas traseiras têm quatro ou cinco dedos. O corpo é coberto por pêlos e a cauda é longa e a pelagem variável.

**Distribuição** Espécies de tamanduás ocorrem do sul do México ao nordeste da Argentina.

**Gênero** *Myrmecophaga* Linnaeus, 1758 (Figura - 4)<sup>4</sup>.



Figura 3: Tamanduá-bandeira. Gênero *Myrmecophaga*.

*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758

O tamanduá bandeira é um dos mais distintos mamíferos da América do Sul, com seu grande porte, sua cauda longa, com pêlos grossos, e seu focinho bastante alongado. As orelhas e os olhos são muito pequenos. As fortes garras, particularmente a terceira, são muito alongadas e projetadas para trás como se o animal andasse sobre os pulsos. O dorso e a cauda são marrons escuro ou pretos, as patas dianteiras são em geral brancas, com listras pretas nos pulsos e acima das garras. Uma fina banda branca passa de baixo das orelhas e acima dos ombros, descendo para onde as patas dianteiras encontram o corpo e cercam a borda da faixa preta. A cauda, que pode ser quase do tamanho do corpo, é uniformemente marrom com muitos pêlos

---

<sup>4</sup>Fonte: <http://www.botucatu.sp.gov.br/Eventos/2005/floraFauna/fauna/image/tamandua.jpg>

grossos. Existe um pequeno dimorfismo sexual, e o pênis do macho tem que ser manualmente exprimido da cavidade urogenital.

**Distribuição** *Myrmecophaga tridactyla* é encontrado de Belize e do sul da Guatemala até o Chaco paraguaio e as províncias do nordeste da Argentina.

**Gênero** *Tamandua* Gray, 1825 (Figura - 05)<sup>5</sup>.

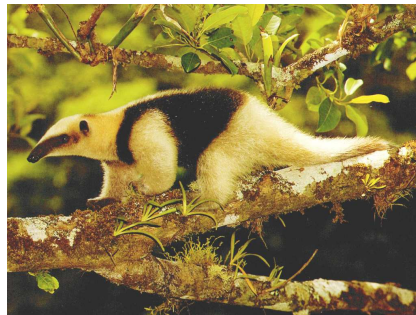


Figura 4: Tamanduá-mirim. Gênero *Tamandua*.

O gênero *Tamandua* é facilmente separado do *Myrmecophaga* por seu tamanho diminuto, por sua coloração e pela forma da sua cauda. A maior parte dos tamanduás da América do Sul são marrom dourado com um colete cobrindo o dorso e o ventre, cruzando os ombros em uma faixa preta, mas em alguns indivíduos o colete pode ser bastante reduzido ou até ausente. A cauda é preênsil praticamente sem pêlos, o focinho é consideravelmente menos alongado que o do tamanduá bandeira, e as orelhas são proporcionalmente compridas. Existe um pequeno dimorfismo sexual, e o pênis tem

---

<sup>5</sup>Fonte: <http://www.hcc.hawaii.edu/pine/images/Tamandua.jpg>

que ser exprimido manualmente da cavidade urogenital. As garras da pata dianteira são proporcionalmente longas, mas não são tão longas como as de *Myrmecophaga*.

*Tamandua tetradactyla* (Linnaeus, 1758)

O tamanduá de colete ou tamanduá mirim (**southern tamandua, oso melero ou caguare**) é uniformemente dourado em muitos pontos de sua distribuição no leste da Venezuela e da Colômbia, mas indivíduos que produzem melanina (dourado com o colete preto) podem ocorrer por todo o Brasil.

**Distribuição** *Tamandua tetradactyla* ocorre do sul da Venezuela ao Paraguai, norte do Uruguai e nas províncias do norte da Argentina (Santa Fe, Chaco, Salta e Jujuy). Na parte sul desta distribuição a forma “de colete” é proeminente.

*Tamandua mexicana* (Saussure, 1860)

Os comprimentos da cabeça e do corpo são aproximadamente 563 mm e o da cauda é aproximadamente 544mm. O peso varia de 3,2 a 5,4 Kg. Na maior parte de sua distribuição, *T. mexicana*, exibe o “colete preto” da descrição do gênero.

**Distribuição** Esta espécie está distribuída no sul de Veracruz, México, e no na América do Sul, na Colômbia, e a leste e oeste da Cordilheira dos

Andes no Peru. Ela está presente na Bacia de Maracaibo na Venezuela mas é substituído a leste da Venezuela e Colômbia por *T. tetradactyla*.

**Gênero** *Cyclopes* Gray, 1821 (Figura - 6)<sup>6</sup>.



Figura 5: Tamanduá-i. Gênero *Cyclopes*.

*Cyclopes didactylus* (Linnaeus, 1758)

Este é o menor dos tamanduás, seu comprimento varia entre 360 e 450 mm, e o comprimento da cauda varia entre 180 e 262 mm. Seu peso raramente maior que 400 g. Sua cor é marrom dourado, com alguns pêlos dorsais prateados na parte superior. Sua pelagem é extremamente densa. A cauda é completamente preênsil. Duas garras em cada pata dianteira são geralmente desenvolvidas.

**Distribuição** *Cyclopes* ocorre do extremo sul do México ao sul do Brasil e talvez ao Paraguai. Ele geralmente está confinado a florestas tropicais úmidas multiestratificadas e estão ausentes em áreas de savanas.

---

<sup>6</sup>Fonte: <http://www.terrambiente.org/fauna/Mammiferi/xenarthra/myrmecophagidae/images/formichieredidattilo01.jpg>

## FAMÍLIA DASYPODIDAE

A família Dasypodidae é a que possui o maior número de espécies dentro do grupo Xenarthra com oito gêneros e 21 espécies descritas. Os membros desta família são caracterizados por apresentar numerosas placas dérmicas ósseas arranjadas regularmente, formando bandas móveis na secção média e sobre a cauda, bem como “armaduras” imóveis nos quartos anterior e posterior. As placas dérmicas estão cobertas por escamas epidérmicas córneas. Pêlos esparsos aparecem entre as bandas e sobre o lado de baixo do animal, que não é encouraçado. O *rostrum* é alongado. Não há dimorfismo em termos de tamanho, mas o pênis do macho é facilmente visível anteriormente ao reto.

**Distribuição** Os tatus se distribuem do Estado de Oklahoma no sul dos Estados Unidos ao estreito de Magellan no Chile e foi recentemente introduzido no estado da Florida. Os tatus são originalmente da América do Sul e expandiram sua distribuição extensivamente. O rico registro fóssil mostra que eles chegaram à América do Norte e Central durante o Mioceno superior e Pleistoceno quando o istmo do Panamá estava quase totalmente emerso.

**Gênero** *Dasypus* Linnaeus, 1758 (Figura - 7)<sup>7</sup>.



Figura 6: Tatu-verdadeiro. Gênero *Dasypus*.

O *rostrum* é longo e sua fórmula dental é 7-9/7-9. A carapaça marrom escura é composta pelos escudos escapular e pélvico, com seis a onze bandas móveis separando os dois escudos. As orelhas são longas e não possuem placas dérmicas. A longa cauda geralmente excede 55% do comprimento da cabeça mais o do corpo. Os dois terços proximais da cauda são cobertos por anéis, cada um formado por duas ou mais fileiras de placas dérmicas. As patas dianteiras possuem quatro longas garras, as mais longas estão sobre o segundo e terceiros dígitos. As patas traseiras possuem cinco garras, com a mais longa no terceiro dígito.

**Distribuição** O gênero *Dasypus* está distribuído do centro sul dos Estados Unidos ao Rio Negro na Argentina.

---

<sup>7</sup>Fonte: [http://www.floridanature.org/photos/Dasypus\\_novemcinctus\\_2c,\\_St.\\_Marks\\_NWR,\\_20041125.jpg](http://www.floridanature.org/photos/Dasypus_novemcinctus_2c,_St._Marks_NWR,_20041125.jpg)

*Dasypus hybridus* (Desmarest, 1804)

Este *Dasypus* pequeno geralmente apresenta sete bandas móveis. Ele tem orelhas pequenas mais um corpo maior que *Dasypus septencinctus*. As cauda e carapaça levemente peludas são cinza-amarronzadas e opacas. O ventre é rosa acinzentado.

**Distribuição** *Dasypus hybridus* é encontrado no leste do Paraguai, no leste da Argentina, sul do Brasil e oeste do Uruguai passando pelo norte da Argentina.

*Dasypus kappleri* Krauss, 1862

*Dasypus kappleri* possui de sete a nove dentes tanto na maxila superior quanto na inferior. O comprimento da cabeça mais o do corpo variam de 510 a 575 mm e o da cauda de 325 a 483 mm. O peso pode variar de 8,5 a 10,5 kg. Eles possuem de sete a oito bandas móveis na secção medial entre os escudos que cobrem o quarto anterior e o posterior. Existem grandes placas dorsais projetadas e arranjadas em linhas transversais sobre a superfície posterior proximal da pata traseira. Estas placas são diagnósticas para a espécie, mas pelo seu tamanho este tatu pode ser facilmente distinguido de *D. novencinctus*.

**Distribuição** *Dasypus kappleri* está confinado as bacias Amazônicas e do Orinoco.



*Dasypus novemcinctus* Linnaeus, 1758

O comprimento da cabeça e do corpo variam de 395 a 573 mm e o da cauda de 290 a 450 mm. Esta é a segunda maior espécie do gênero e o seu peso varia de 3,2 a 4,1 kg. O número de bandas móveis variam de oito a dez, mas no norte da América do Sul o número modal é nove.

**Distribuição** *Dasypus novemcinctus* tem a maior distribuição entre as espécies de tatus, ocorrendo do centro e do sul dos Estados Unidos a aproximadamente 32° S.

*Dasypus pilosus* (Fitzinger, 1856)

A forma do corpo e suas proporções são como as descritas para um *Dasypus* típico, mas a superfície dorsal é coberta de marrons e claros que projetam-se a partir de diminutos poros das placas dérmicas.

**Distribuição.** É encontrado em áreas de alta altitude no centro-norte do Peru.

*Dasypus septemcinctus* Linnaeus, 1758

*Dasypus septemcinctus* é a menor das espécies de *Dasypus*. No entanto, ele não tem longas orelhas como *D. hybridus*. Apresenta seis ou sete bandas móveis. Sua carapaça é escura com um pouco de amarelado.

**Distribuição** Está espécie é encontrada do leste da Amazônia brasileira até o sul nas províncias do Norte da Argentina.

*Dasypus yepesi* Vizcaino, 1995

Esta espécie tem de 7-9 bandas móveis e suas orelhas são 44%-54% do comprimento do crânio. *Dasypus yepesi* apresenta-se como intermediário, em termos de medidas, a *D. novemcinctus* e *D. hybridus*.

**Distribuição** Geralmente é encontrado nas províncias Jujuy e Salta, na Argentina, mas sua distribuição pode estender-se a Bolívia.

**Gênero** *Euphractus* Wagler, 1830 (Figura - 08)<sup>8</sup>.



Figura 7: Tatu peludo. Gênero *Euphractus*.

*Euphractus sexcinctus* (Linnaeus, 1758)

Sua carapaça é caracteristicamente amarela ou castanha e coberta com uma pelagem esparsa. Existem de dois a quatro furos no escudo pélvico.

---

<sup>8</sup>Fonte: <http://www.faunacps.cnpm.embrapa.br/mamifero/images/tatupe.jpg>

**Distribuição** *Euphractus sexcinctus* é encontrado nas savanas do Suriname, no Brasil até o leste do Uruguai, oeste do Paraguai e sul da província de Buenos Aires, Argentina.

**Gênero** *Chaetophractus* Fitzinger, 1871 (Figura - 09)<sup>9</sup>.



Figura 8: Gênero *Chaetophractus*.

Estes tatus são de tamanhos intermediários, variando de 200 a 400 mm para o comprimento da cabeça mais o do corpo. A cabeça tem um escudo de ossículos dérmicos que quase cobre o focinho. O dorso distintivamente marcado por uma série linear de aproximadamente dezoito fileiras de escamas dérmicas, em que as sete ou oito fileiras do meio são flexíveis. O ventre é peludo. Os membros do gênero *Chaetophractus* podem ser separados por sua longas orelhas dos membros do gênero *Euphractus*.

**Distribuição** A atual distribuição do gênero o oeste da Bolívia ao Paraguai passando pela Argentina central. Populações separadas foram relatadas no sul do Peru e norte do Chile.

<sup>9</sup>Fonte: <http://filin.vn.ua/image/creatures/c.nationi.jpg>

*Chaetophractus nationi* (Thomas, 1894)

*Chaetophractus nationi* é intermediário, em termos de tamanho, em relação a *C. villosus* e *C. vellerosus*. Os pêlos sobre a carapaça variam de castanho a brancos buffy, com comprimentos maiores que 72 mm, que podem ser esparsos ou densos.

**Distribuição** A distribuição desta espécie é pouco conhecida e esta tem sido freqüentemente confundida com *C. vellerosus*. *Chaetophractus nationi* pode ser encontrado na Bolívia e no altiplano chileno.

*Chaetophractus vellerosus* (Gray, 1865)

Esta espécie é a menor e mais delicada do gênero e difere dos outros *Chaetophractus* e de *Zaedyus pichiy* por ter orelhas mais longas. O cabelo do dorso é geralmente castanho.

**Distribuição**

*Chaetophractus vellerosus* é encontrado no Gran Chaco da Bolívia, no oeste do Paraguai e Argentina.

*Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804)

*Chaetophractus villosus* é o maior dos *Chaetophractus*. Ele possui uma cabeça mais comprida e estreita que *C. vellerosus* e orelhas mais curtas. Alguns indivíduos têm três ou quatro orifícios no escudo pélvico que se abrem

para câmaras glandulares rasas. Este é um tatu de coloração escura com pêlos negros mais longos que os pêlos castanhos de *C. vellerosus* ou os brancos de *C. nationi*.

**Distribuição** Esta espécie é encontrada no Chaco paraguaio e argentino (no sul da Argentina ao leste da província de Santa Cruz) e no Chile ao longo da costa leste da província de Bío-bío até o sul da província de Aisén. Esta distribuição estende-se para a Bolívia e possivelmente ao Brasil.

O Gênero *Zaedyus* (Figura - 10)<sup>10</sup>.

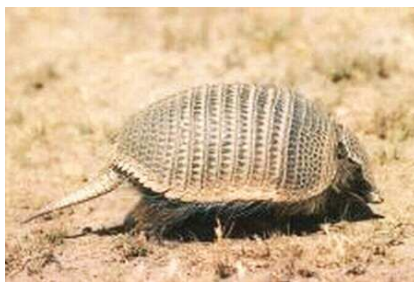


Figura 9: Gênero *Zaedyus*.

*Zaedyus pichiy* é a espécie tipo do gênero, não possui nome vulgar, sua orelha é encurtada, com um comprimento menor que 20 mm. Placas dérmicas marginais com apse afilado e pontiagudo. As placas dérmicas da nuca possuem um comprimento antero posterior menor que 5 mm. Oito ou nove dentes estão presentes, o *rostrum* anterior é delgado, sendo a largura 21% do comprimento.

**Distribuição** Argentina, do sul da província de Tucumán.

---

<sup>10</sup>Fonte: <http://zoo-eco.zooclub.ru/Images/Zaedyus%20pichiy.jpg>

**Gênero** *Chlamyphorus* Harlan, 1825 (Figura - 11)<sup>11</sup>.



Figura 10: Gênero *Chlamyphorus*.

Este gênero possui duas espécies viventes. Estes tatus extremamente pequenos têm um comprimento de do corpo mais da cabeça geralmente menor que 150 mm. As placas dorsais são quase soltas do corpo, mas prendem-se na cabeça, prosseguindo pela espinha dorsal até a pélvis. Estes animais são extremamente fossoriais. A cauda é curta e as ancas são abruptamente quadradas. Assim eles parecem um tampão quando o animal está cavando. O tamanho pequeno, as garras grandes sobre as patas dianteiras, as orelhas reduzidas e os olhos diminuídos rendem a estes tatus tantas diferenças, que estes não podem ser confundidos com outra espécies.

**Distribuição** O gênero está atualmente confinado a porções da Bolívia, do Paraguai e ao norte da Argentina.

---

<sup>11</sup>Fonte: <http://www.terramambiente.org/fauna/Mammiferi/xenarthra/dasypodidae/images/chlamyphorus.jpg>

*Chlamyphorus truncatus* Harlan, 1825

**Distribuição** Restrito as províncias argentinas de Catamarca, Mendoza e Buenos Aires.

*Chlamyphorus retusus* (Burmeister, 1863)

*Chlamyphorus retusus* pode ser separado de *C. truncatus* pelo seu grande tamanho. Adicionalmente, *C. retusus* tem a carapaça completamente ligada ao crânio na parte de trás da cabeça, sem pêlos nessa região. A carapaça da cabeça é ampla. Estendendo-se lateralmente e ventralmente ao nível dos olhos e a cauda não é espatulada na ponta. O dorso é dourado-amarelo e sobre o ventre existem pêlos cinza-esbranquiçado e curtos.

**Distribuição** *Chlamyphorus retusus* é encontrado no Gran Chaco do sudeste da Bolívia, do oeste do Paraguai e do noroeste da Argentina.

**Gênero** *Tolypeutes* Illiger, 1811 (Figura - 12)<sup>12</sup>.

Este pequeno tatu tem o comprimento da cabeça mais o do corpo girando em torno de 250 mm. Sua cauda é menor que a cabeça e o corpo. A carapaça dorsal é extremamente dura e tem três bandas móveis. Devido as escamas sobre a cabeça e a cauda, que se encaixa juntas quando o animal é atacado, ele pode se enrolar como uma bola coberta por carapaça. Este atributo

---

<sup>12</sup>Fonte: <http://hoglezoo.org/animal.photos/southern.3banded.armadillo1.jpg>



Figura 11: Tatu bola. Gênero *Tolypeutes*.

aumenta sua vulnerabilidade a predação humana. O animal anda sobre seus dedos, em parte devido às suas longas garras e a redução ou fusão de seus dedos. O seu modo de andar se parece com uma dançarina de bale sobre suas ponteiros.

*Tolypeutes matacus* (Desmarest, 1804)

*Tolypeutes* é provavelmente o mais diferenciado dos tatus e é inconfundível devido o seu pequeno tamanho, sua carapaça dura e seu habito de enrolar-se, sendo estes os únicos tatus que possuem esta capacidade. O segundo, terceiro e quarto das patas dianteiras são fusionados. A garra do dedo fusionado apresenta-se encouraçada.

**Distribuição** Esta espécie pode ser encontrada do sudeste da Bolívia ao Chaco paraguaio e à província de Santa Cruz, na Argentina.

*Tolypeutes tricinctus* (Linnaeus, 1758)

A cabeça e o corpo medem aproximadamente 300 mm e a cauda 65 mm.



*Tolypeutes tricinctus* possui cinco dedos na pata dianteira, o que distingue este de *T. matacus*, que possui apenas quatro dedos.

**Distribuição** Esta espécie pode ser considerada endêmica do cerrado e da caatinga brasileiros.

**Gênero** *Cabassous* McMurtrie, 1831 (Figura - 13)<sup>13</sup>.



Figura 12: Tatu de rabo mole menor. Gênero *Cabassous*.

As quatro espécies deste gênero diferem pouco em sua morfologia externa exceto pelo tamanho. O número de dentes é altamente variável, distribuindo-se entre 7/8 e 10/9. Estes não apresentam dentes no osso pré-maxilar. Os comprimentos da cabeça e do corpo variam de 300 a 490 mm e a cauda de 90 a 200 mm. O focinho é curto e largo, as orelhas são moderadamente cumpridas e afiladas em forma de funil. As patas dianteiras possuem cinco garras, sendo a do meio extremamente desenvolvida e encurvada. As placas dorsais são arranjadas em fileiras transversais ao longo do comprimento do corpo. A cauda fina é distintiva, com pouca ou sem couraça, e apresenta

<sup>13</sup>Fonte: [http://savci.upol.cz/gal/\\_3/p/pasovec-jedenactipasy--tmh.jpg](http://savci.upol.cz/gal/_3/p/pasovec-jedenactipasy--tmh.jpg)

placas delgadas e espaçadas, daí o nome comum tatu de cauda nua. A cauda também serve para distinguir este gênero de todos os outros tatus.

**Distribuição** O gênero **Cabassous** está distribuído do sul do México ao norte da Argentina.

*Cabassous centralis* (Miller, 1899)

O comprimento da cabeça e do corpo é de aproximadamente 340 mm e o da cauda varia de 130 a 180 mm. O peso varia de 2 a 3,5 kg. Esta é a menor das duas espécies que ocorrem no norte da América do Sul.

**Distribuição** *Cabassous centralis* ocorre do sul do México ao oeste e leste da cordilheira dos Andes no Equador, passando pelo Panamá.

*Cabassous chacoensis* Wetzel, 1980

*Cabassous chacoensis* é a menor das espécies do gênero *Cabassous* e pode ser separada das outras por suas orelhas, que são notavelmente menores que nas outras espécies de deste gênero e têm uma única expansão de cartilagem de suas margens anteriores.

**Distribuição** Esta espécie é encontrada no Gran Chaco do noroeste da Argentina, do oeste do Paraguai, do sudeste da Bolívia e possivelmente em áreas adjacentes no Brasil.

*Cabassous tatouay* (Desmarest, 1804)

*Cabassous tatouay* é bem grande quando comparado a *Cabassous unicinctus* e pode ser separado deste pelo tamanho das suas orelhas, que são maiores e estendem-se bem acima do topo de sua cabeça.

**Distribuição** Esta espécie é encontrada no sul do Brasil, passado pelo Uruguai, ao sudeste do Paraguai e norte da Argentina.

*Cabassous unicinctus* (Linnaeus, 1758)

Esta é uma das grandes espécies do gênero, espécimes da Venezuela e Suriname mostrando: uma variação do comprimento da cabeça mais o do corpo de 347 a 445 mm e o comprimento da cauda variando de 165 a 200 mm. Esta espécie é similar a *C. tatouay* em sua aparência externa, mas pode ser facilmente separado deste por suas orelhas.

**Distribuição** *Cabassous unicinctus* distribui-se a leste dos Andes na Colômbia, Venezuela e Guianas ao oeste do norte do Peru e a leste e sul por todo o escudo brasileiro.

**Gênero** *Priodontes* F. Cuvier, 1825 (Figura - 14)<sup>14</sup>.

*Priodontes maximus* Kerr, 1758

**Descrição** *Priodontes maximus* é inconfundível por causa de seu tamanho. Os únicos tatus que podem ser confundidos com estes são os do gênero

---

<sup>14</sup>Fonte: <http://www.pla.net.py/enlaces/cnelm/980617/armadi.jpg>



Figura 13: Tatu-canastra. Gênero *Priodontes*.

*Cabassous*. *Priodontes* é muito grande, com uma carapaça escura, marcada lateralmente por uma borda afilada e cauda bem encouraçada. Como *Cabassous*, *Priodontes* tem um arredondado focinho cego, uma carapaça com muitas bandas estreitas e grandes e afiladas garras dianteiras, sendo que a maior geralmente é a terceira.

**Distribuição** *Priodontes* pode ser encontrado a leste da cordilheira dos Andes da Colômbia e sul da Venezuela ao Paraguai e norte da Argentina.

### 1.2.3 Filogenia do Grupo Xenarthra

As propostas atuais de filogenias dos mamíferos eutérios (Murphy *et al.*, 2001 [47]; Delsuc *et al.*, 2001 [13]) mostraram que os Xenarthra representam um dos quatro principais ramos dentro deste grupo e deram sustentação para a elevação da ordem Xenarthra ao status de magna-ordem (McKenna & Bell, 1997) [42]. No entanto, o enraizamento da árvore dos mamíferos eutérios permanece incerto. Kriegs *et al.* (2006) [38] publicaram uma filogenia dos mamíferos, baseada em Elementos de Transposição (TEs), mostrando

os Xenarthra na base do ramo dos mamíferos eutérios. Em resposta ao trabalho de Kriegs *et al.* (2006) [38], Murphy *et al.* (2007) [49] publicaram um trabalho onde um grande número de dados (seqüências) foram avaliados em busca de inserções/deleções autapomórficas que sustentassem a posição basal dos Xenarthra. Além da posição basal não ser sustentada, Murphy *et al.* (2007) [49] afirmaram que Xenarthra seria grupo irmão de Afrotheria (mamíferos eutérios de origem africana).

A divisão dos Xenarthra em duas ordens, Cingulata e Pilosa, foi contestada no passado (Sarich, 1985 [65]: De Jong *et al.*, 1985 [12]: De Jong, 1998 [11]), mas atualmente esta divisão é bem apoiada por diversos trabalhos (Engelmann, 1985 [19]: Gaudin, 1995 [23]; 2004 [24]: Delsuc *et al.*, 2001 [13]; 2002 [14]; 2003 [15]: Murphy *et al.*, 2001 [47]: Barros *et al.*, 2003 [4]).

O livro “*The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*” (Montgomery, 1985) [45], publicado pelo Instituto Smithsonian de Washington, é a maior reunião de informações sobre o grupo Xenarthra até hoje publicada. Além da definição do grupo e reconhecimento de seu nome (Glass, 1985) [27], nesta obra estão publicadas a última revisão (Wetzel, 1985) [78] e os primeiros trabalhos sobre a filogenia dos tatus feitos segundo critérios bem definidos (Engelmann, 1985 [19]; De Jong *et al.*, 1985 [12]; Sarich, 1985 [65]). A partir de então, tanto trabalhos baseados em dados morfológicos (Patterson *et al.*, 1989 [56], Carlini & Scillato-Yan (1996) [7]

e Gaudin & Wible, 2005 [26]), quanto moleculares (Delsuc *et al.*, 2001 [13]; 2002 [14]; 2003 [15]) tiveram como objetivo esclarecer a filogenia dos Cingulata.

Delsuc *et al.* (2003) [15] reuniram seqüências publicadas em trabalhos anteriores (Delsuc *et al.*, 2001 [13]; 2002 [14]) e seqüências disponíveis no **GenBank** a novas seqüências e usando genes nucleares (**ADRA2B**, **BRCA1**, **VWF**) e mitocondriais (**12S**, **NH1**) analisaram a filogenia da ordem Cingulata. Estes autores sugeriram que a família Dasypodidae é constituída por três sub-famílias (Dasypodinae, Euphractinae e Tolypeutinae), apoiando a proposta clássica de agrupamento dos gêneros *Cabassous* e *Priodontes* dentro dos Tolypeutinae, e *Euphractus* e *Chaetophractus* dentro dos Euphractinae. No entanto, os baixos valores de suporte estatístico aos ramos individuais da filogenia proposta ainda deixam dúvidas dentro da filogenia dos Cingulata (Figura - 15).

Gaudin & Wible (2005) [26] reanalisou as relações filogenéticas entre tatus extintos e atuais, incorporando todos os táxons analisados por Engelmann (1985) [19], bem como os poucos táxons fósseis adicionais incorporados por Patterson *et al.* (1989) [56] e Carlini & Scillato-Yan (1996) [7], aumentando bastante o número de caracteres utilizados nestes trabalhos. Os táxons de tatus atuais foram agrupados em dois grandes clados: Os Dasypodinae (*Cabassous*, *Dasypus*, *Priodontes* e *Tolypeutes*) na base dos Cingulata, com o

posicionamento do tatu-canastra (*Priodontes*) pouco resolvido. Este posicionamento seria apenas uma falta de suporte para a tradicional aliança entre os gêneros *Priodontes* e *Cabassous*, devido à presença, neste último, de um número de caracteres craniais derivados, ausentes em *Priodontes* ou *Dasypus*; e os Euphractinae (*Chaetophractus*, *Chlamyphorus*, *Euphractus* e *Zaedyus*), apresentando suas relações e seu posicionamento pouco resolvidos (Figura - 16).

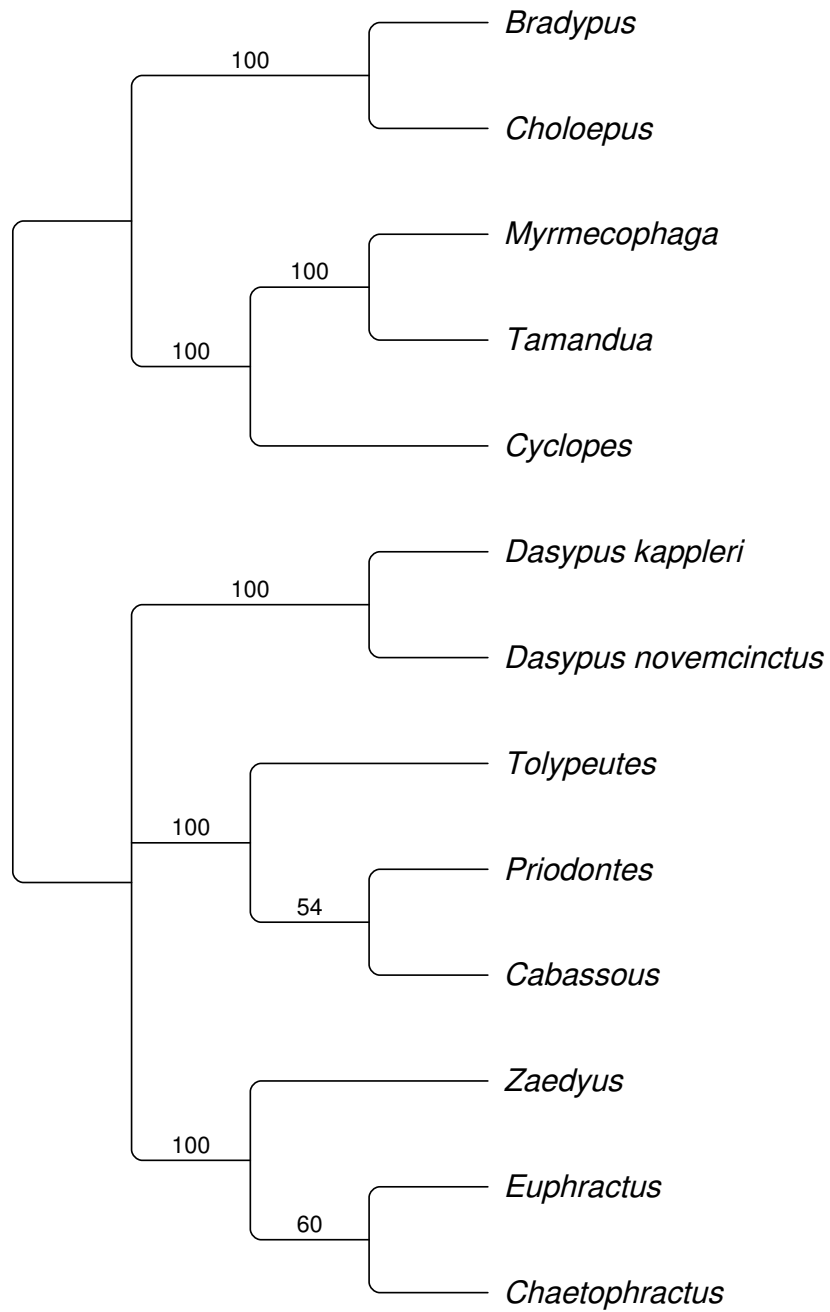


Figura 14: Filogenia molecular dos Cingulata segundo Delsuc *et al.* (2003). Os números nos nós representam valores de **bootstrap**.



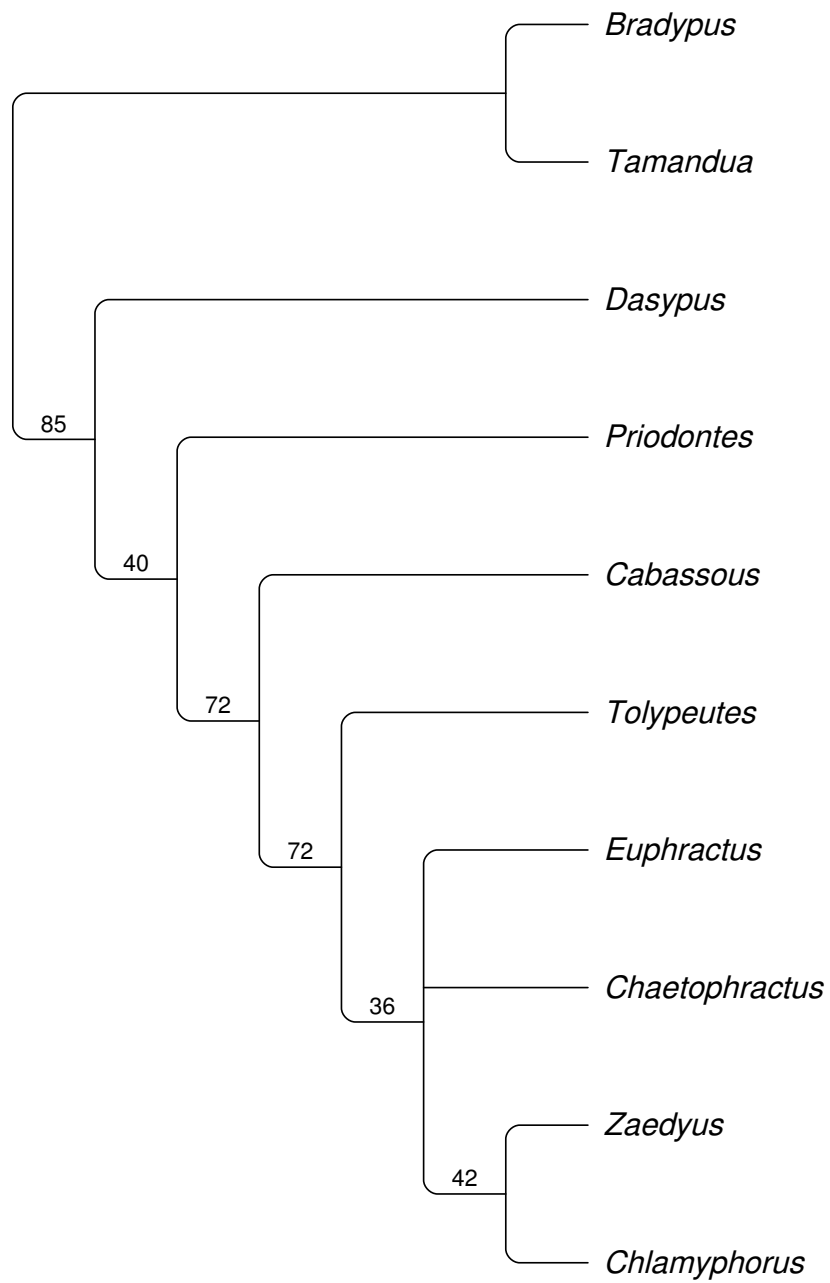


Figura 15: Filogenia dos Cingulata segundo Gaudin (2005). Os números nos nós representam valores de **bootstrap**.

### 1.3 Os Genomas Mitocondrial e Nuclear e suas Aplicações em Filogenia Molecular

O DNA Mitocondrial dos vertebrados é composto de 37 genes que codificam 22 RNAs transportadores (tRNAs), 13 RNAs mensageiros (mRNAs), e ainda, polipeptídeos envolvidos no transporte de elétrons e na fosforilação oxidativa da água durante a respiração celular (Anderson *et al.*, 1982 [2]; Desjardins & Morais, 1990 [16]; Pääbo *et al.*, 1991 [54]). Uma “região controle” de cerca de 1kb inicia a transcrição e a replicação.

O genoma mitocondrial está presente em quase todos os animais, apresenta uma estrutura e organização simples, é de fácil isolamento, para a maioria dos organismos, suas moléculas são transmitidas através das gerações por via materna e, em princípio, não apresentam recombinações, tem uma rápida evolução (rápida substituição de nucleotídeos dentro da molécula de DNA) com um grande número de cópias, exhibe alto polimorfismo, possui uma fácil determinação de seqüências homólogas e uma taxa de substituição de pares de bases de 5 a 10 vezes mais rápida que a do DNA nuclear (Brown, 1980 [6]; Wilson *et al.*, 1985 [79]; Moritz *et al.*, 1987 [44]; Harrisson, 1989 [30]).

O DNA mitocondrial (mtDNA) tem sido bastante utilizado na resolução de questões filogenéticas, devido às características que o individualizam (Avice *et al.*, 1987 [3]). Já o genoma Nuclear (nDNA) é vastamente mais complexo

que o mitocondrial, e é utilizado preferencialmente (em especial os genes codificantes de proteínas) na resolução de filogenias envolvendo níveis taxonômicos mais elevados, inclusive reinos (Tabela - 1) (Fernandes-Matioli, 2000 [22]).

Tabela 1: Características dos genomas de metazoários.

<b>Genoma</b>	<b>Mitocondrial</b>	<b>Nuclear</b>
<b>Tamanho</b>	14-30 kb	1-1000 x 10 <sup>5</sup> kb
<b>Herança</b>	Materna	Biparental
<b>Rearranjos</b>	Muito raros	Freqüentes

As facilidades de acesso proporcionadas pelo genoma mitocondrial, principalmente devido ao fato de uma célula eucariótica possuir um grande número de mitocôndrias, fazem do mtDNA uma poderosa ferramenta para a análise filogenética. No entanto, a capacidade de resolução dos marcadores nucleares torna estes uma ferramenta importantíssima para elucidar filogenias de grupos que divergiram há dezenas de milhões de anos.

No caso específico dos Cingulata, Delsuc *et al.* (2003) [15] analisaram dois genes mitocondriais (parte do gene da subunidade 12 dos ribossomos [**12S**] e parte do gene da subunidade 1 da enzima NADH desidrogenase [**NH1**]) e três nucleares codificadores de proteínas (parte do 1º éxon do gene do receptor  $\alpha$ -adrenérgico 2B [**ADRA2B**], parte do 11º éxon do gene de suscetibilidade ao câncer de mama [**BRCA1**] e parte do 28º éxon do gene do fator von Willebrand [**VWF**]). Os genes nucleares mostraram um bom

suporte estatístico, mas pouca resolução, e os genes mitocondriais mostraram uma boa resolução, mas pouco suporte para os ramos.

Os genes analisados concatenadamente favorecem a topologia mitocondrial. Entretanto os baixos valores de suporte estatístico, na análise com os genes concatenados, somadas às quase iguais distribuições de apomorfias entre as topologias alternativas, sugerem que eventos paralelos de especiação rápida ocorreram dentro destas duas subfamílias de tatus. Como Delsuc *et al.* (2003) [15] usaram apenas os genes **12S** e **ND1**, que são genes de taxa de evolução moderadas dentro do genoma mitocondrial, nós acreditamos que o gene **16S**, por ser o gene com a taxa de evolução mais lenta dentro do genoma mitocondrial, possa resolver as relações entre os gêneros dentro das sub-famílias da ordem Cingulata.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Verificar a monofilia e padrões de filogenia para o grupo Cingulata através da análise de dados moleculares do gene mitocondrial rRNA **16S**.

### **2.2 Objetivos Específicos**

1. Verificar a viabilidade e capacidade de resolução do gene **16S**, em análises de padrões de filogenia do grupo Cingulata.
  
2. Aumentar a acurácia dos padrões de filogenia dentro do grupo Cingulata.

### 3 Metodologia

Amostras de peles (Tabela - 2) de exemplares dos gêneros *Dasypus*, *Tolypeutes*, *Priodontes* e *Euphractus* da coleção de mastozoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), e uma amostra de tecido de *Priodontes maximus* da cidade de Porto Velho, Estado de Rondônia, foram submetidas ao protocolo de extração de DNA antigo, à amplificação através da reação em cadeia da DNA polimerase e ao seqüenciamento em seqüenciador automático **MegaBACE** do Laboratório de Genética, do Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), do campus universitário de Bragança, da Universidade Federal do Pará (UFPA). Um banco de dados com seqüências previamente depositadas no **GenBank**, mais as seqüências obtidas em laboratório, foi criado e serviu para a inferência da filogenia dos Xenarthra como um todo, e dos Cingulata em particular.

Tabela 2: Exemplares utilizados.

<b>Táxons</b>	<b>Numeração</b>	<b>Procedência</b>	<b>Data</b>
<i>D. septemcinctus</i>	MPEG-22199	D. Pedrito/RS	19/01/1981
<i>D. kappleri</i>	MPEG-22131	UHE Balbina/AM	25/11/1987
<i>E. sexcinctus</i>	MPEG-22163	São Pedro dos Crentes/MA	17/12/1991
<i>T. tricinctus</i>	MPEG-22026	Monte Alto/BA	05/09/1991
<i>P. maximus</i>	MPEG-22688	Amarante/MA	06/12/1991
<i>P. maximus</i>	****	Porto Velho	**/**/****

#### Seqüências Previamente Publicadas

Todas as seqüências previamente publicadas utilizadas neste trabalho fo-

ram obtidas do banco de nucleotídeos **GenBank** (do **National Center for Biotechnology Information**<sup>15</sup> (NCBI) e salvas em formato FASTA (.fasta) ou foram obtidas do banco de dados de Delsuc *et al.* (2003) [15], que foi gentilmente cedido pelo Dr. Emmanuel J. P. Duzery, co-autor do trabalho e pesquisador do Laboratório de Paleontologia, Paleobiologia e Filogenia do Instituto de Ciências da Evolução, da Universidade Montpellier II, Montpellier, França.

### **Seqüências Obtidas em Laboratório**

Os reagentes e equipamentos para o manuseio de amostras de museu eram de uso exclusivo. Todos os procedimentos foram realizados em uma câmara apropriada para o trabalho com DNA ancestral, munida de lâmpadas ultravioleta (UV) e sistema de filtração HEPA. Anteriormente a qualquer técnica de extração, submetiam-se as superfícies da câmara e dos equipamentos de manuseio (micropipetas, estantes, etc.) a tratamento com solução de hipoclorito de sódio 5%, e em seguida a luz UV era acionada por, no mínimo, meia hora.

Um fragmento de cerca de 2 mm<sup>2</sup> (ou menor) de pele taxidermizada foi isolado para cada espécime. Antes da extração, as amostras passaram por um processo de descontaminação de superfície que consistiu de três lavagens sucessivas (com o auxílio de micropipetas) em solução de hipoclorito de

---

<sup>15</sup>NCBI Endereço eletrônico: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

sódio 5% (O'Rourke *et al.*, 2000) [52], seguidas de mais três lavagens com água destilada deionizada (ddH<sub>2</sub>O). O tecido era então cortado em pedaços menores.

Optou-se pelo kit de purificação por coluna de sílica **DNeasy** (QIAGEN), com as seguintes variações no protocolo sugerido pelos fabricantes:

Cento e oitenta  $\mu$ l de Tampão ATL e 20 $\mu$ l de Proteinase K foram adicionados aos tubos contendo as amostras já descontaminadas, que em seguida foram agitados (em vortex) por 10s. Os tubos foram incubados em um termo-agitador a 56 °C até que o tecido ficasse completamente lisado. Após esse período, o termo-agitador foi configurado para 70 °C, e o tampão AE incubado até o momento de uso.

Após serem agitados em vortex por 15s, foi adicionado a cada tubo 200  $\mu$ l de tampão AL. Imediatamente após uma nova agitação de 15s, foi adicionado aos tubos 200  $\mu$ l de etanol (96-100%). O conteúdo dos tubos, após mais um período de 15s de agitação em vortex, foi transferido para uma coluna de sílica previamente etiquetada, que foi inserida sobre um tubo de 2 ml. Cada conjunto (coluna + tubo) foi centrifugado por 1 min a 8.000 RPM, e o tubo contendo o líquido centrifugado foi descartado. A coluna foi colocada em um novo tubo de 2 ml. Foram adicionados a cada coluna 500  $\mu$ l do tampão AW1, e o conjunto foi novamente centrifugado por 1 min a 8.000 RPM. Os tubos contendo o líquido centrifugado foram novamente descartados. Cada



coluna foi colocada em um novo tubo de 2 ml. Foram adicionados 500  $\mu$ l do tampão AW2 à coluna, e o conjunto foi centrifugado por 3 min a 14.000 RPM. O tubo contendo o líquido centrifugado foi descartado mais uma vez.

Em cada coluna, colocada agora em um tubo de 1,5 ml etiquetado, foram adicionados 100  $\mu$ l de tampão AE previamente aquecido a 70 °C. As colunas foram incubadas a 70 °C. Após 5 minutos o conjunto foi centrifugado por 1 min a 8.000 RPM. Após a execução do protocolo, cerca de 100  $\mu$ l de DNA total purificado estavam disponíveis, em cada tubo de 1,5 ml etiquetado, para a amplificação por PCR.

### **Amplificação por PCR**

Seguimentos de aproximadamente 600 pares de base do gene mitocondrial rRNA **16S** foram amplificados de cada amostra, em fragmentos de aproximadamente 200 pares de base, usando-se um conjunto de inicializadores. Os inicializadores externos, que delimitam a seqüência alvo, foram desenvolvidos por Palumbi *et al.* (1991) [55] e modificados no laboratório de genética do IECOS. Os inicializadores internos foram desenhados no laboratório de genética do IECOS exclusivamente para este trabalho (Tabela - 3). Uma combinação de inicializadores (L1987/IECOS-F13; IECOS-R14/IECOS-F15; IECOS-R16/H2609) foi utilizada para a amplificação de cada fragmento, e as seqüências dos fragmentos foram montadas com o programa **Sequencer** v4.7.

A amplificação por PCR foi feita usando-se uma mistura (**mix**) de 25  $\mu$ l

Tabela 3: Inicializadores utilizados para a amplificação do gene **16S**.

<b>Inicializador</b>	<b>Seqüência</b>
L1987*	5'- GCCTCGCCTGTTTACCAAAAAC-3'
H2609*	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'
IECOS-F13**	5'-TTCCAATCAGTRAAATTGACC-3'
IECOS-R14**	5'-AAGCTCCRCAGGGTCTTCTCGTC-3'
IECOS-F15**	5'-TTGGTTGGGGTGACCTCGGAGC -3'
IECOS-R16**	5'-ATTGCGCTGTTATCCCTGGGG-3'
<b>Desenvolvedores:</b>	*Palumbi <i>et al.</i> (1991). **Laboratório de Genética do IECOS.

contendo: 4  $\mu\text{l}$  de dNTP, 1,25 mM; 2,5  $\mu\text{l}$  de tampão, 10x concentrado; 1  $\mu\text{l}$  de  $\text{Cl}_2\text{Mg}$ , 25 mM; 1  $\mu\text{l}$  de BSA, 2,5 mg/ml; 1  $\mu\text{l}$  de cada inicializador, 50 ng/ $\mu\text{l}$ ; 5  $\mu\text{l}$  de DNA total, 200 ng/ $\mu\text{l}$ ; 10,2  $\mu\text{l}$  de água destilada deionizada (ddH<sub>2</sub>O); e 0,3  $\mu\text{l}$  da enzima Taq DNA polimerase, 2U/ $\mu\text{l}$ . A reação foi feita em um termociclador modelo 2400 da **Applied Biosystems**, com um ciclo de 5 min a 95 °C, seguidos de 25 ciclos de 94 °C por 30 s, 50 °C por 45 s, 72 °C por 45 s e mais um ciclo de 7 min a 72 °C.

### Seqüenciamento

As reações de seqüenciamento para o **MegaBACE**, sequenciador automático, utilizam o **kit DYEnamic ET Dye Terminator**. O protocolo para uma reação de volume final 10  $\mu\text{l}$  utiliza: 1  $\mu\text{l}$  de inicializadores (5 pmol/ $\mu\text{l}$ ); 4  $\mu\text{l}$  de pré-mix; de 1,5 a 2,5  $\mu\text{l}$  do produto da reação de PCR, de acordo com a PCR [forte ou fraco]); e água para completar o volume final de 10  $\mu\text{l}$ . A reação foi feita em um termociclador modelo 2400 da **Applied Biosystems**, em 25 ciclos com os seguintes passos: 95 °C por 20 s, 50 °C por 15 s e 60 °C

por 1 min.

A precipitação foi feita adicionando-se 1  $\mu\text{l}$  de acetato de amônia (fornecido no kit de seqüenciamento do **MegaBACE**) ao produto da reação de PCR, misturados em uma centrifugação rápida (**spin**). Adicionou-se 26  $\mu\text{l}$  de etanol 100% e misturou-se brevemente com o vortex. Centrifugou-se por 30 min (3000 RPM, 4 °C). Descartou-se os reagentes por inversão da placa e secou-se o excesso com papel absorvente. Adicionou-se 150  $\mu\text{l}$  de etanol 70%, agitou-se brevemente com o vortex; Centrifugou-se por 10 min (3000 RPM, 4 °C). Descartou-se os reagentes por inversão da placa e secou-se o excesso com papel absorvente. Adicionou-se 10  $\mu\text{l}$  de **loading solution** (fornecida no **kit**) e agitou-se por 5 min com o vortex para ressuspender o precipitado.

### 3.1 Construção do banco de dados

As seqüências geradas no laboratório tiveram seus eletroferogramas analisados visualmente no editor de seqüências BioEdit v7.0.5 (Hall, 1999) [29]. As seqüências obtidas do **GenBank** foram adicionadas e salvas em formato FASTA (**.fasta**) usando-se o editor de textos nano v1.2.4. As seqüências foram alinhadas usando-se o programa ClustalW v1.83 (Thompson *et al.*, 1994) [74]. O arquivo de alinhamento (**.aln**) gerado com o ClustalW foi verificado visualmente, as deleções/inserções foram codificadas como eventos únicos, e um arquivo NEXUS (**.nex**) (Maddison *et al.*, 1997) [43] foi escrito com o

programa nano.

Dois bancos de dados foram montados. O 1º combinou seqüências do gene **16S** do grupo Pilosa (preguiças e tamanduás) às seqüências de Cingulata (tatus) geradas no laboratório de genética do IECOS e seqüências de Cingulata previamente publicadas no **GenBank** (Tabela - 4 e Apêndice - A). O 2º combinou o banco de dados da análise do gene **16S** ao banco de dados utilizado por Delsuc *et al.* 2003 [15] que inclui os genes **12S**, **ND1**, **VWF**, **BRCA1** e **ADRA2** (Tabelas - 5 e 6).

Tabela 4: Banco de dados 1 (gene **16S**).

<b>Táxons</b>	<b>16S</b>
<i>Bradypus tridactylus</i>	EF405903*
<i>Bradypus variegatus</i>	EF405901*
<i>Bradypus torquatus</i>	EF405906*
<i>Choloepus didactylus</i>	EF405909*
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	EF405898*
<i>Tamandua tetradactyla</i>	EF405895*
<i>Cyclopes didactylus</i>	DQ243711*
<i>Dasypus novemcinctus</i>	EF405889*
<i>Dasypus septemcinctus</i>	MPEG-22199**
<i>Dasypus kappleri</i>	MPEG-22131**
<i>Euphractus sexcinctus</i>	DQ243709*
<i>Euphractus sexcinctus</i>	MPEG-22163**
<i>Chaetophractus villosus</i>	AF069534*
<i>Tolypeutes tricinctus</i>	MPEG-22026**
<i>Cabassous unicinctus</i>	Z48940*
<i>Priodontes maximus</i>	MPEG-22688**
<i>Priodontes maximus</i>	Porto Velho***

\* N° **GenBank**

\*\* N° **Museu Goeldi**

\*\*\* **Procedência**

## 3.2 Análise de Máxima Verossimilhança

Optou-se por utilizar o algoritmo de máxima verossimilhança (Felsenstein, 1981) [21] pela dificuldade de se utilizar um grupo externo para os *Xenarthra*, por conta da grande divergência genética entre estes e os marsupiais, como discutido adiante. A filogenia foi obtida com o programa PAUP v4.0b10 (Swofford, 2003) [73], assim como os resultados dos testes G1 (Hillis, 1991) [32], para a verificação do sinal filogenético. O modelo evolutivo utilizado foi calculado pelo critério Akaike no programa Modeltest v3.7 (Posada & Crandal, 1998) [61]. As árvores geradas foram transformadas do formato texto de árvores nativo do ClustalW (.tree) para o formato texto do programa TreeGraph v1.0 (.tgf) e posteriormente para o formato gráfico **Encapsulated Post Script** (.eps) com o programa TreeGraph Müller & Müller (2004) [46].

Tabela 5: Banco de dados 2 (gene **16S** mais genes mitocondriais do banco de dados usado em Delsuc *et al.* [2003]).

<b>Táxons</b>	<b>16S</b>	<b>12S</b>	<b>ND1</b>
<i>Bradypus tridactylus</i>	EF405903*	AF038022*	AB011218*
<i>Choloepus didactylus</i>	EF405909*	AJ278152*	AJ505830*
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	EF405898*	AJ278153*	AJ505831*
<i>Tamandua tetradactyla</i>	EF405895*	AJ278154*	AB011216*
<i>Cyclopes didactylus</i>	DQ243711*	AJ278155*	AJ505832*
<i>Dasypus novemcinctus</i>	EF405889*	Y11832*	Y11832*
<i>Euphractus sexcinctus</i>	MPEG-22163**	AJ505826*	AJ505834*
<i>Chaetophractus villosus</i>	AF069534*	U61080*	AJ505835*
<i>Zaedyus pichiy</i>	****	AJ505827*	AJ505836*
<i>Tolypeutes tricinctus</i>	MPEG-22026**	AJ505828*	AJ505837*
<i>Cabassous unicinctus</i>	Z48940*	AJ278151*	AB011217*
<i>Priodontes maximus</i>	MPEG-22688**	AJ505829*	AJ505838*

\* N° GenBank

\*\* N° Museu Goeldi

Tabela 6: Banco de dados 2 (genes nucleares do banco de dados usado em Delsuc *et al.* [2003]).

<b>Táxons</b>	<b>VWF</b>	<b>BRCA1</b>	<b>ADRA2</b>
<i>Bradypus tridactylus</i>	U31603*	AF284002*	AJ251179*
<i>Choloepus didactylus</i>	AJ278160*	AF484229*	AJ427375*
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	AJ278157*	AF484232*	AJ427373*
<i>Tamandua tetradactyla</i>	AJ278161*	AF284001*	AJ427374*
<i>Cyclopes didactylus</i>	AJ278156*	AF484231*	AJ315943*
<i>Dasypus novemcinctus</i>	AJ278158*	AF484222*	AJ427366*
<i>Euphractus sexcinctus</i>	AJ427364*	AF484224*	AJ427368*
<i>Chaetophractus villosus</i>	AF076480*	AF284000*	AJ315935*
<i>Zaedyus pichiy</i>	AJ427365*	AF484226*	AJ427369*
<i>Tolypeutes tricinctus</i>	AJ427362*	AF484227*	AJ427370*
<i>Cabassous unicinctus</i>	AJ278159*	AF484228*	AJ427371*
<i>Priodontes maximus</i>	AJ427363*	AF484225*	AJ427372*

\* N° GenBank

## 4 Resultados

O banco de dados montado com as seqüências do gene mitocondrial rRNA **16S** mostrou, através do teste G1 para 1.000.000 de árvores geradas aleatoriamente pelo critério de parcimônia, uma alta significância ( $g1 = 0.791, p < 0,05$ ), indicando um alto nível de estrutura genética para o banco de dados (ver: Hillis & Huelsenbeck, 1992 [33] para uma avaliação da significância de G1). Hillis & Huelsenbeck (1992) [33] observaram que à medida que o sinal filogenético aumenta, a distribuição dos **scores** (número de passos) de árvores de máxima parcimônia geradas ao acaso se torna mais assimétrica para a esquerda (Figura - 17). A estatística G1 mede o grau de assimetria da curva.

Para a análise de máxima verossimilhança do banco de dados do gene **16S**, o modelo evolutivo calculado pelo **modeltest** foi o geral reversível, assumindo uma distribuição gama (GTR+G). A frequência de bases foi igual a:  $A = 0.3245$ ,  $C = 0.2454$ ,  $G = 0.2078$  e  $T = 0,2223$ . A proporção de sítios invariáveis foi igual a zero ( $pinvar = 0$ ). O parâmetro  $\alpha$  da distribuição gama foi: **Shape**=0.2460.

A árvore de máxima verossimilhança gerada pelo banco de dados do gene **16S** obteve **score** = 2693.80482, com 1452 rearranjos testados em 12 min e 34 s. Como esta árvore não é enraizada, a monofilia das duas ordens de

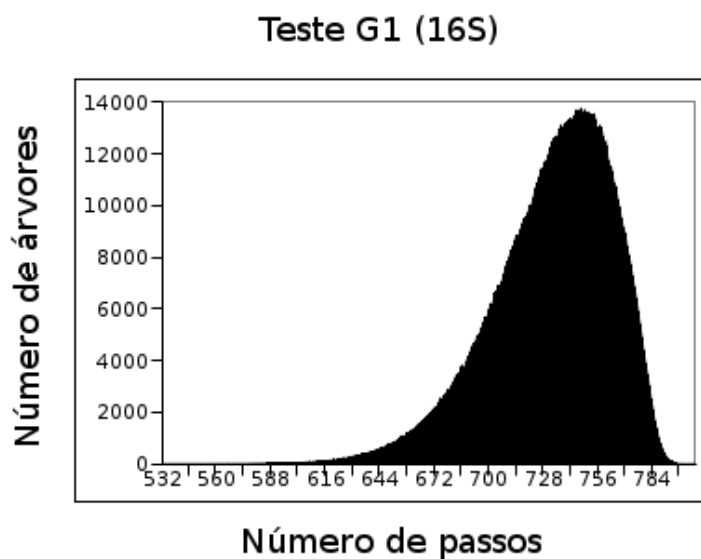


Figura 16: Frequência de árvores mais parcimoniosas geradas ao acaso a partir do banco de dados do gene **16S**.

Xenarthra (Cingulata e Pilosa) pode ser inferida pelo tamanho menor do ramo que separa *Dasypus* dos demais Cingulata, em relação ao que separa *Dasypus* dos Pilosa, indicando a validade dessas duas ordens. Assim, *Dasypus* pode ser considerado como o mais basal entre todos os tatus. Os gêneros restantes são divididos em dois grupos que correspondem exatamente às subfamílias Euphractinae (abrigando *Euphractus* e *Chaetophractus*) e Tolypeutinae (com *Cabassous*, *Tolypeutes* e *Priodontes*). Contudo, as relações dentro deste último grupo não puderam ser evidenciadas com valores significativos de bootstrap. A análise de máxima verossimilhança com **bootstrap** para 1000 pseudo-réplicas foi feita em 20 h 39 min e 35 s.

Árvore de máxima verossimilhança gerada a partir do banco de dados do



gene **16S** (Figura - 18) com os valores de **bootstrap** anotados em cada nó (Figura - 19):

(*Dasypus novemcinctus* GB, (*Dasypus septemcinctus* MG, *Dasypus kappleri* MG)72, ((((( *Bradypus tridactylus* GB, *Bradypus variegatus* GB)90, *Bradypus torquatus* GB)98, *Choloepus didactylus* GB)98, ((*Myrmecophaga tridactyla* GB, *Tamandua tetradactyla* GB)94, *Cyclopes didactylus* GB)93)100, ((( *Euphractus sexcinctus* GB, *Euphractus sexcinctus* MG)98, *Chaetophractus villosus* GB)96, ((*Priodontes maximus* MG, *Priodontes maximus* PV)100, (*Tolypeutes tricinctus* MG, *Cabassous unicinctus* GB)59)52)56)100).

Quando o banco de dados do gene **16S** é concatenado ao banco de dados de Delsuc *et al.* (2003) [15], o grupo Cingulata aparece dividido em três ramos, como na análise do gene **16S** separadamente. A árvore mais provável encontrada nesta análise apresenta um **score** = 31299.23208, com 525 rearranjos testados em 1 mim e 11 s. A análise de máxima verossimilhança com **bootstrap** para 1000 pseudo-réplicas foi feita em 1 h 38 min.

Árvore de máxima verossimilhança gerada a partir do banco de dados do gene **16S** concatenado ao banco de dados de Delsuc *et al.* (2003) [15] (Figura - 20 e 21):

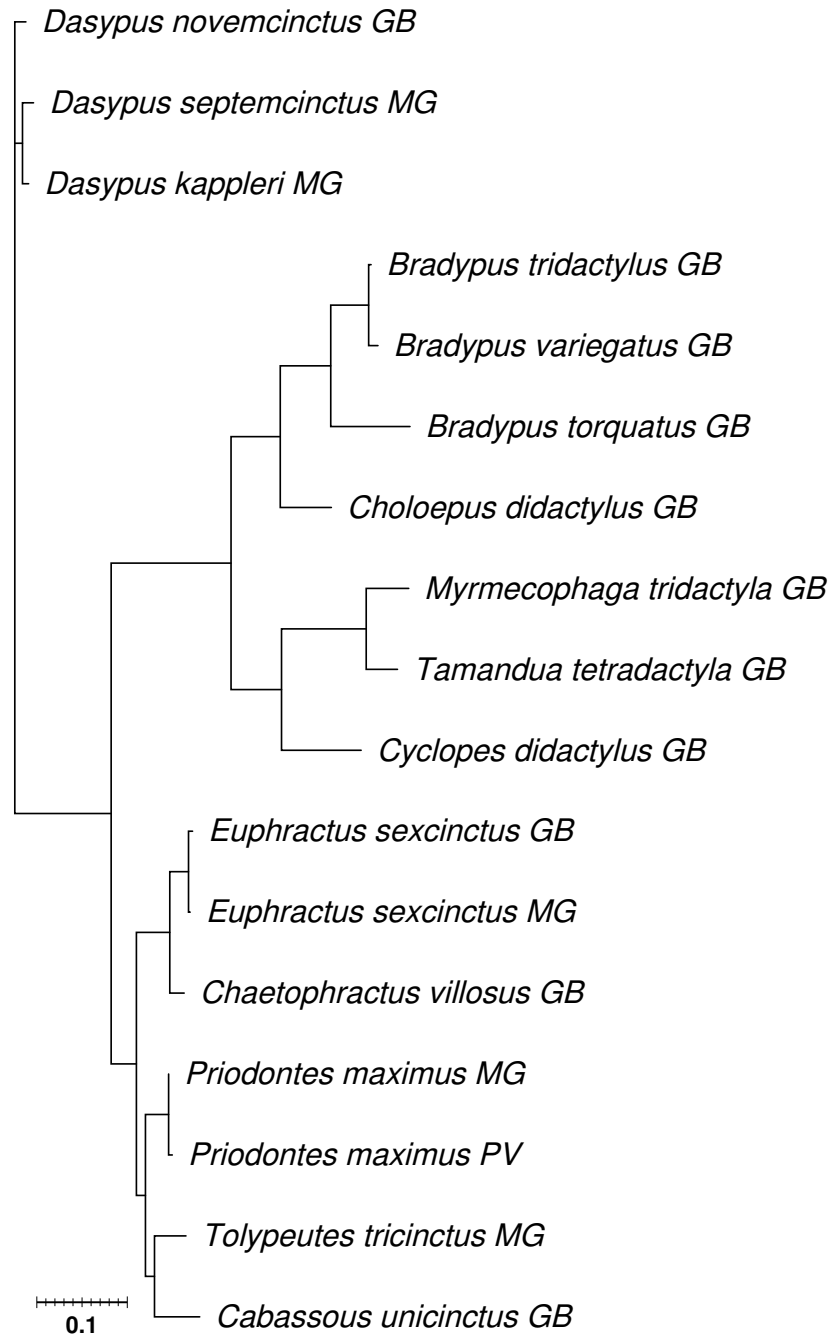


Figura 17: Filogenia molecular dos Xenarthra com base no gene mitocondrial **16S** obtida pelo critério de máxima verossimilhança. *GB* = **GenBank**; *MG* = Museu Goeldi; e *PV* = Porto Velho.

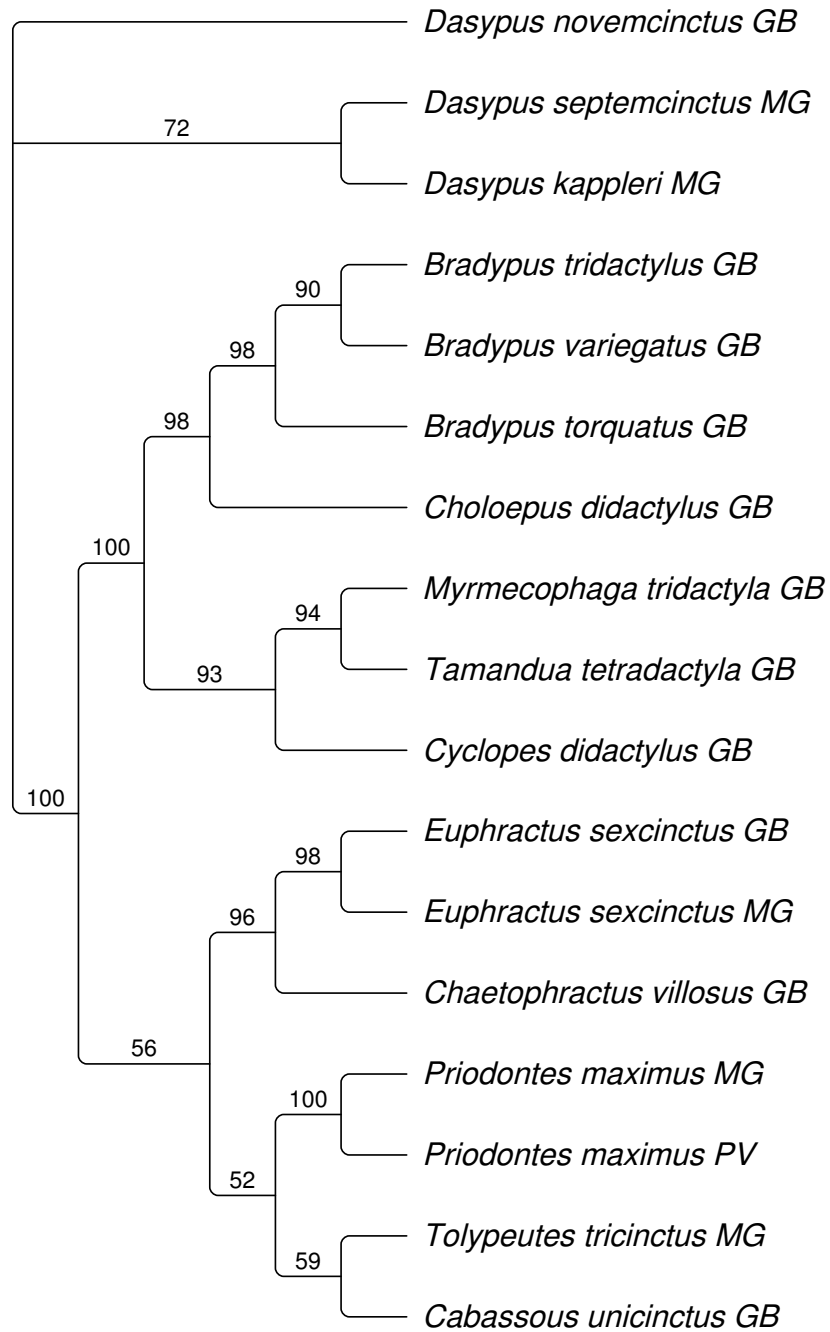


Figura 18: Árvore de consenso de maioria da análise de máxima verossimilhança com **bootstrap** de 1000 pseudo-réplicas, para a filogenia molecular dos Xenarthra, inferida a partir do banco de dados do gene **16S**.

*(Bradypus, (Choloepus, ((Cyclopes, (Myrmecophaga, Tamandua)*  
*100)100, (Dasypus, (((Cabassous, Priodontes)68, Tolypeutes)100,*  
*((Chaetophractus, Euphractus)65, Zaedyus)100)100)100)100).*

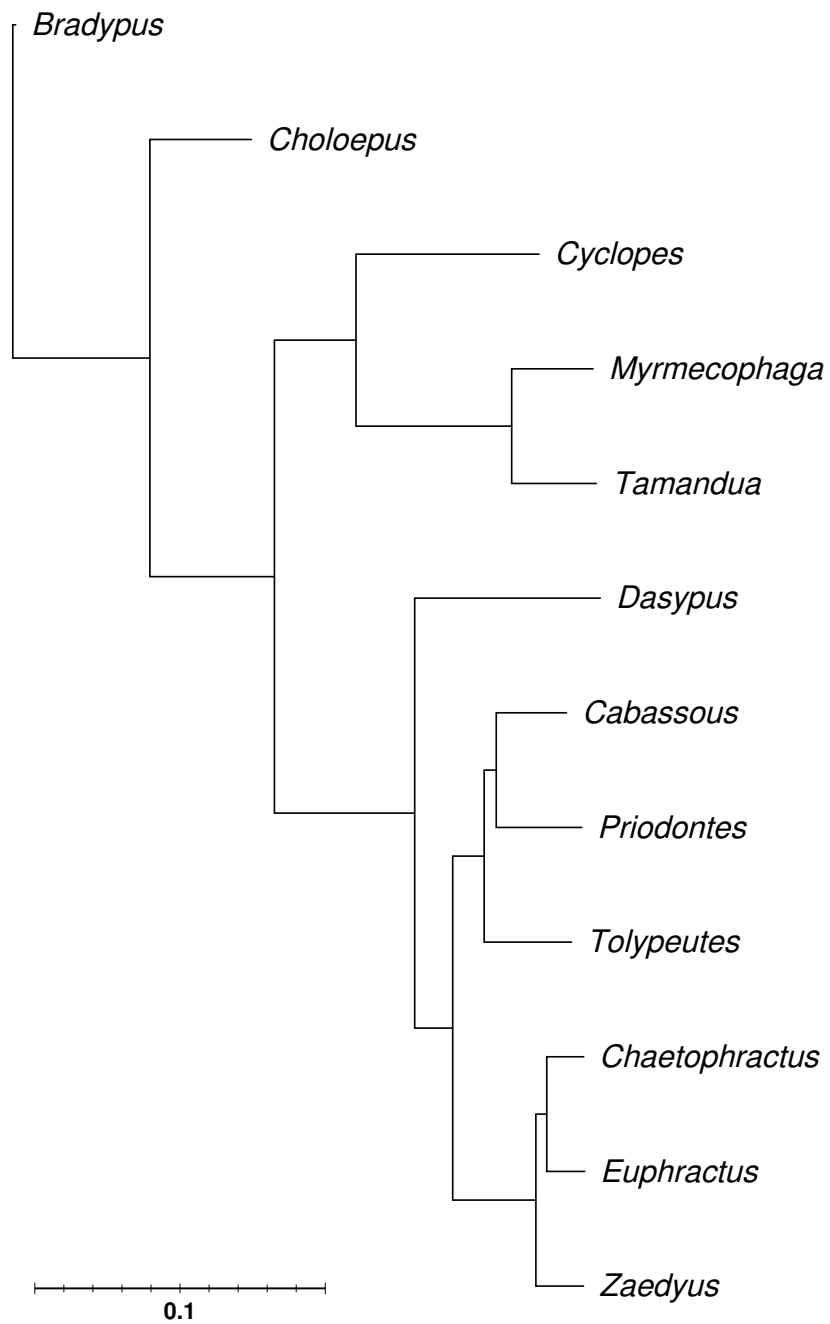


Figura 19: Filogenia molecular dos Xenarthra obtida pelo critério de máxima verossimilhança, a partir dos bancos de dados concatenados **16S** e banco de dados de Delsuc *et al.* (2003).

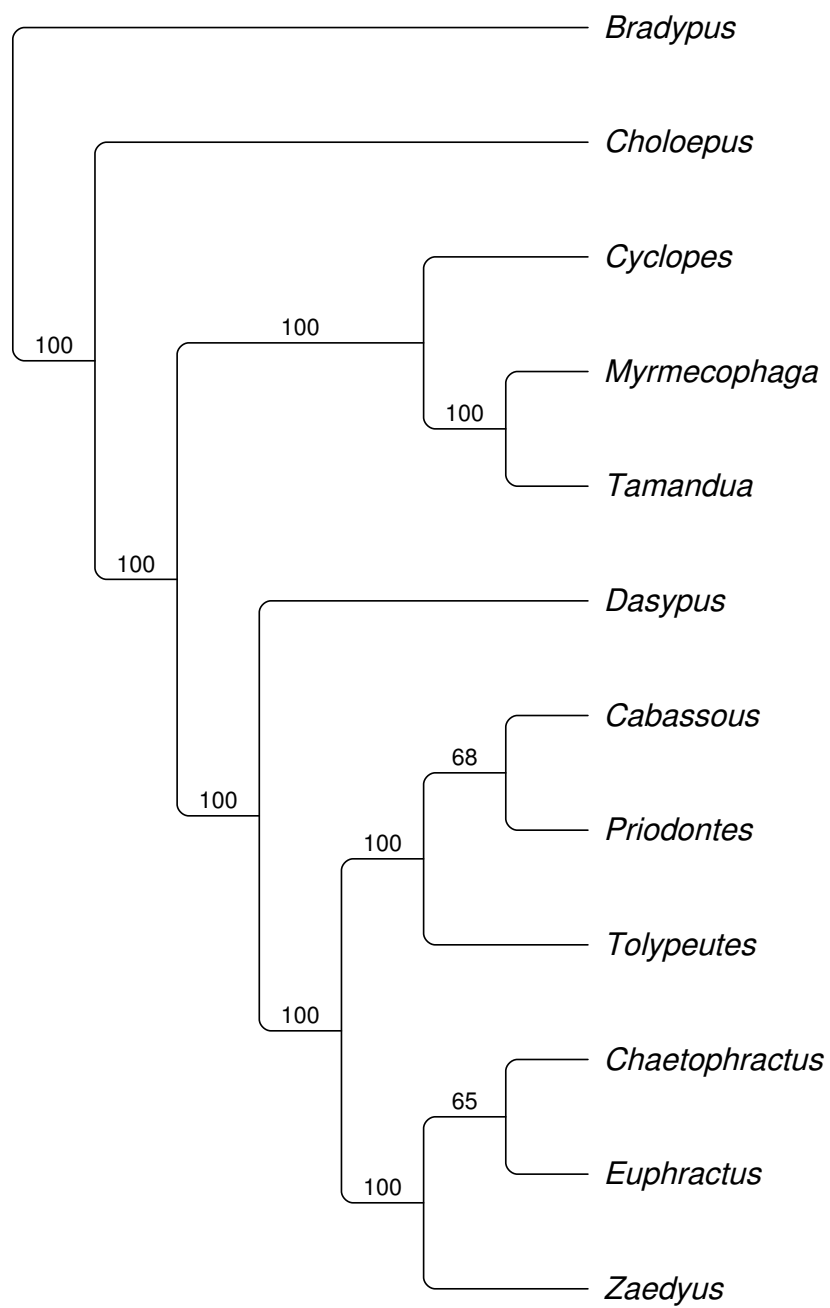


Figura 20: Árvore de consenso de maioria da análise de máxima verossimilhança com **bootstrap** de 1000 pseudo-réplicas, para a filogenia molecular dos Xenarthra, inferida a partir do banco de dados do gene **16S** e do banco de dados de Delsuc *et al.* (2003).

## 5 Discussão

### Após a Análise do Gene 16S Qual a Filogenia mais Confiável?

Uma polarização entre filogenias obtidas com dados morfológicos e com dados moleculares parece se estabelecer no meio científico atualmente. Isso parece o resultado de avanços técnicos que tornam as análises morfológicas e moleculares cada vez mais heterogêneas, dificultando a comparação de topologias obtidas de dados de naturezas diferentes. Diversos testes para a comparação de árvores estão disponíveis na Literatura (ver: Schneider [2003] [66] para uma breve discussão). No entanto, a mera utilização de um destes testes para comparar árvores de naturezas diferentes não garante que a árvore escolhida seja a verdadeira.

As análises morfológicas geralmente contemplam um maior número de táxons, devido à facilidade de acesso aos mesmos em coleções de museus. Por outro lado, análises moleculares apresentam um maior número de caracteres, advindos da facilidade de se seqüenciar regiões cada vez maiores dos genomas. Que aspecto seria o mais importante para a acurácia de uma filogenia? A topologia correta de uma árvore certamente será aquela apoiada pelo maior número de caracteres. Contudo, uma análise só pode ser considerada quando contempla todos os táxons do grupo ou uma parcela significativa destes.

No caso da árvore dos Cingulata, dados morfológicos e dados molecu-

lares apóiam topologias diferentes. O trabalho de Gaudin & Wible (2005) [26] sintetizou a informação morfológica disponível para os Cingulata englobando os dados apresentados por Engelmann (1985) [19], Patterson *et al.*, 1989 [56], Carlini & Scillato-Yan (1996) [7]. Cento e sessenta e seis caracteres da morfologia crânio-dental foram analisados para os oito gêneros com representantes vivos e mais onze gêneros extintos. Delsuc *et al.* (2003) [15] sintetizaram toda a informação molecular disponível para elucidar a filogenia dos Cingulata. Foram analisados 6968 caracteres dos genomas mitocondrial e nuclear de doze dos treze gêneros de tatus atuais. O presente trabalho acrescenta mais 592 caracteres, gerados a partir do seqüenciamento do gene mitocondrial rRNA **16S**, ao banco de dados de Delsuc *et al.* (2003) [15].

A topologia gerada com a análise do gene **16S** corrobora a topologia apresentada por Delsuc *et al.* (2003) [15]. Porém, o gene **16S** não apresenta suporte estatístico satisfatório para os ramos que definem a relação entre os gêneros dentro da sub-família Tolypeutinae: ((*Priodontes maximus* MG, *Priodontes maximus* PV)100, (*Tolypeutes tricinctus* MG, *Cabassous unicinctus* GB)59)52)56). Assim como o gene **16S**, os marcadores utilizados por Delsuc *et al.* (2003) [15], também não dão suporte estatístico para todos os nós da árvore dos Cingulata.

Quando os genes são concatenados, as sub-famílias Dasypodinae e Tolypeutinae apresentam suporte estatístico de **bootstrap**, mas a relação entre



os gêneros dentro das sub-famílias permanece incerta: (*Dasyppus*, (((*Cabassous*, *Priodontes*)68, *Tolypeutes*)100, ((*Chaetophractus*, *Euphractus*)65, *Zaedyus*)100)100)100)100)100). Uma melhora nos valores de **bootstrap** nos ramos dentro das sub-famílias é percebida em relação ao trabalho de Delsuc *et al.* (2003) [15].

### **Quais as Causas da Falta de Suporte Estatístico em Alguns Nós?**

Eventos de especiação rápida (especiação explosiva), como afirmam Delsuc *et al.* (2003) [15], devem realmente ter ocorrido dentro das sub-famílias de tatus, impedindo que mutações autapomórficas, para estes grupos, se fixassem nos marcadores utilizados. Como resultado, as análises para este grupo não apresentam suporte estatístico para todos os nós dentro da árvore, mesmo com um grande número de caracteres utilizados. Situação semelhante ocorreu durante a resolução das relação entre o gorila, o chimpanzé e o homem. Como a evolução deste grupo também ocorreu de maneira rápida só após o seqüenciamento de uma quantidade muito grande de dados é que se pôde resolver a relação do grupo.

### **Que Marcadores São os mais Adequados para Resolver a Falta de Suporte Estatístico para a Árvore dos Cingulata?**

No caso dos Cingulata, a busca por caracteres autapomórficos, que resolveriam as relações dentro das sub-famílias de tatus, deve ser feita em marcadores nucleares de evolução lenta, o que exigiria uma grande quanti-

dade de dados. Alternativamente, Elementos de Transposição (TEs) também poderiam ser utilizados, pois tais marcadores, tidos como “Dollosos”, fixam autapomorfias. Marcadores Dollosos são aqueles utilizáveis em uma análise de Parcimônia de Dollo e são gerados a partir de eventos raros.

O método de Parcimônia de Dollo foi primeiro sugerido por Le Quesne (1974) [39] e posteriormente melhor especificado por Farris (1977) [20]. O algoritmo utilizado nesta análise assume a presença de um caráter no estado 0 que permite uma única mudança  $0 \Rightarrow 1$  (para a frente). Isto é possível quando é pequena a probabilidade de mudança  $0 \Rightarrow 1$  no tempo evolutivo envolvido, gerando uma probabilidade da mudança  $1 \Rightarrow 0$  (reversa) muito menor. Portanto, o algoritmo minimiza o número de reversões necessárias para explicar os dados.

Os TEs (Elementos de Transposição) são eventos raros de recombinação do genoma nuclear. Recombinação nem sempre depende de regiões cromossômicas homólogas ou da proteína **RecA** presente em organismos procaríotos, apesar destes serem os mecanismos mais frequentes. Existem outros tipos de recombinação, que geralmente dependem de enzimas que reconhecem seqüências de DNA. Os Elementos de Transposição, ou **transposons**, são seqüências de DNA que podem se transferir de uma região para outra do genoma, deixando ou não uma cópia no local onde estavam. A transposição pode ser para o mesmo cromossomo ou para um cromossomo diferente Lie-

bert *et al.* (1999) [40].

Alguns transposons são bastante genéricos na sua escolha de alvo, e podem se transpor de forma quase aleatória dentro de um genoma. Em contraste, existem outros que têm locais altamente favorecidos para onde o transposon pode ir, e alguns com regiões de DNA preferenciais. De fato, quando um evento de transposição raro acontece, ele se perpetua, sendo transferido em uma única via ( $0 \Rightarrow 1$ ) dos ancestrais aos descendentes. Isto quer dizer, que se dois táxons compartilham um TE específico é porque o ancestral destes táxons também o compartilhava. Segundo Shedlock & Okada, (2000) [67], Murphy *et al.* (2004) [48], Springer *et al.* (2004) [72], Bashir *et al.* (2005) [5], Kriegs *et al.* (2006) [38], Nishihara *et al.* (2006) [50] e Rokas & Carroll (2006) [63] Elementos de Transposição têm um alto potencial para a resolução de nós difíceis dentro de uma filogenia.

Existe uma grande quantidade de elementos de transposição nos eucariotos, alguns são funcionais e outros apresentam-se como restos de seqüências não funcionais. Algumas espécies, tais como o milho, têm mais de 50% de seu genoma como seqüências de Elementos de Transposição. Acredita-se que no homem este número seja de 40%, constituídos por seqüências **LINEs** e Alu, que são tipos de Elementos de Transposição específicos Liebert *et al.* (1999) [40]. Os primeiros **LINEs** ou Elementos de Inserção Nuclear Longos para afrotéria (mamíferos de origem africana) e para os xenartros foram descritos

por Waters *et al.* (2004) [77].

Kriegs *et al.* (2006) [38] foram os primeiros a utilizar estes Elementos de Transposição para analisar a história evolutiva dos mamíferos placentários, chegando à conclusão que os Xenarthra são grupo irmão de todos os outros mamíferos eutérios e apresentando os marsupiais como seu grupo externo. Murphy *et al.* (2007) [49] contestaram estes resultados. Utilizando uma grande quantidade de dados de inserções/deleções, Murphy *et al.* (2007) [49] não verificaram esta posição basal para os Xenarthra dentro da árvore dos mamíferos eutérios. Apesar destes resultados opostos, os dados de Kriegs *et al.* (2006) [38] são mais confiáveis, por conta do caráter Doloso dos Elementos de Transposição.

**Considerando os Resultados de Kriegs *et al.* (2006), Quais os Efeitos da Adição de Seqüências de Marsupiais, como Grupo Externo, ao Banco de Dados dos Xenarthra?**

*Didelphis virginiana*, um marsupial de ocorrência norte americana, apresenta seu genoma mitocondrial completamente seqüenciado e existem também seqüências do gene **BRCA1** disponíveis no **GenBank**. Portanto, este marsupial apresenta quatro genes, dos seis utilizados neste trabalho, seqüenciados e disponíveis na internet. Análises do banco de dados do gene **16S** e do banco de dados dos genes mitocondriais **12S** e **ND1**, mais o **16S** utilizando-se *Didelphis virginiana* como grupo externo foram realizadas, mas não foram apre-

sentadas neste trabalho. Mesmo com a confirmação ou possível confirmação, de Kriegs *et al.* (2006) [38], da posição basal dos Xenarthra dentro da árvore evolutiva dos eutérios, a ausência destes dados no trabalho, é justificada pela falta de estabilidade da análise, em decorrência da grande divergência genética entre marsupiais e xenartros.

## 6 Conclusão

A análise do gene mitocondrial rRNA **16S** corroborou os resultados de Delsuc *et al* (2003) [15], aumentou a acurácia dos padrões de filogenia para o grupo Xenarthra, confirmou a monofilia das sub-famílias Dasypodinae, Tolypeutinae e Euphractinae da família Dasypodidae. No entanto, não conseguimos estabelecer relações estatisticamente consistentes entre os gêneros. Analisando-se as ferramentas disponíveis, sugerimos a utilização de Elementos de Tranposição do tipo **LINEs** para a investigação do grupo Cingulata com uma resolução estatisticamente significativa em nível de gênero.

## Referências

- [1] Anderson, R.P. & Handley, C.O. 2001: A New Species of Three-toed Sloth (Mammalia: Xenarthra) from Panama, with a Review of the Genus *Bradypus*. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, *114(1)*: 1-33.
- [2] Anderson, S.; Bruijn, M.H.L.; Coulson, A.R.; Eperon, I.C. Sanger, F. & Yong, I.G. 1982: Complete Sequence of Bovine Mitochondrial DNA conserved Features of the Mammalian Mitochondria Genome. *Journal of Molecular Biology*, *156*: 683-717.
- [3] Avise, J.C.; Arnold, J.; Ball, R.M.; Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J.E.; Reeb, C.A. & Saudres, N.C. 1987: Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Birge between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology Systematics*, *18*: 489-522.
- [4] Barros, M.C.; Sampaio, I. & Schneider, H. 2003: Phylogenetic Analysis of 16S Mitochondrial DNA Data in Sloths and Anteaters. *Genetics and Molecular Biology*, *26*: 5-11.
- [5] Bashir, A.; Ye, C.; Price, A.L. & Bafna, V. 2005: Orthologous Repeats and Mammalian Phylogenetic Inference. *Genome Research*, *15*: 998-1006.
- [6] Brown, W.M. 1980: Polymorphismi Mitochondrial DNA of Humans as Revealed by Restriction Endonucleases Analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, *77*: 3605-3609.

- [7] Carlini, A. A., & Scillato-Yan G. J. 1996: Chorobates Recens (Xenarthra, Dasypodidae) y un Análisis de la Filogenia de los Euphractini. *Revista del Museo de La Plata (NS), Paleontologia IX 59*: 225-238.
- [8] Cartelle, C. 1994: *Tempo Passado - Mamíferos do Pleistoceno em Minas Gerais*. Belo Horizonte, Ed. Palco, 132p.
- [9] Cavalli-Sforza, L.L. & Edwards, A.W.F. 1967: Phylogenetic Analysis: Models and Estimation Procedures. *Evolution*, 32: 550-570.
- [10] Darwin, C. 1859: *Sobre A Origem das Espécies através da Seleção Natural*. São Paulo, Ed Martin Claret, 629p.
- [11] De Jong, W.W. 1998: Molecules Remodel the Mammalian Tree. *Trends of Ecology and Evolution 13*: 270-275.
- [12] De Jong, W.W.; Zweers, A.; Gleaves, J.B. & Blouter, D. 1985: Protein Sequence Analysis Applied to Xenarthran and Pholidote phylogeny. In: Montgomery G.G.: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD, 65-77.
- [13] Delsuc, F.; Franois, M.C.; Stanhope, M.J. & Douzery, E.J.P. 2001: The Evolution of Armadillos, Anteaters and Sloths Depicted by Nuclear and Mitochondrial Phylogenies: Implications for the Status of the Enigmatic Fossil *Eurotamandua*. *Proceedings of the Royal Society of London 268*:1605-1615.
- [14] Delsuc, F.; Scally, M.; Madsen, O.; Stanhope, M.J.; De Jong, W.W. Catzeflis, FM. Springer, M.S. & Douzery, E.J.P. 2002: Molecular Phylogeny of Living Xenarthrans and the Impact of Character and Taxon Sampling on the Placental Tree Rooting. *Molecular Biology and Evolution. 19*: 1656-1671.



- [15] Delsuc, F.; Stanhope, M.J.; Douzery, E.J.P. 2003: Molecular Systematics of Armadillos (Xenarthra, Dasypodidae): Contribution of Maximum Likelihood and Bayesian Analyses of Mitochondrial and Nuclear genes. *Molecular Phylogenetic Evolution*. 28: 261-275.
- [16] Desjardins, P. & Morais, R. 1990: Sequence and Gene Organization of the Chicken Mitochondrial Genome. *Journal of Molecular Biology*, 212: 599-634.
- [17] Eisenberg, J.F. & Redford, K.H. 1999: Order Xenarthra (Edentata). In: *Mammals of the Neotropics*. 3: 90-112.
- [18] Emry, R.J. 1970: A North American Oligocene Pangolin and Other Additions to the Philidota. *Bulletin of American Museum of Natural History*. 142: 455-570.
- [19] Engelmann, G. 1985: The Phylogeny of the Xenarthra. In: Montgomery, G.G. *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD, 51-64.
- [20] Farris, J.S. 1977: Phylogenetics Analysis under Dollo's Law. *Systematic Zoology*, 26: 77-88.
- [21] Felsenstein, J. 1981: Evolutionary Trees from DNA Sequences: A Maximum Likelihood Approach. *Journal of Molecular Evolution* 17: 368-376.
- [22] Fernandes-Matioli, F.M.C. 2000. VIII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes - Manaus, AM. Mini-curso de Sistemática Molecular. In: <http://adi-38.bio.ib.usp.br/sismo/> - 09/09/2004.

- [23] Gaudin, T.J. 1995: The Ear Region of Edentates and the Phylogeny of the Tardigrada (Mammalia, Xenarthra). *Journal of Vertebrate Paleontology* 15: 672-705.
- [24] Gaudin, T.J. 2004: Phylogenetic Relationships among Sloths (Mammalia, Xenarthra, Tardigrada): The Craniodental Evidence. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 140: 255-305.
- [25] Gaudin, T.J. & Branham, D.G. 1998: The Phylogeny of the Myrmecophagidae (Mammalia, Xenarthra, Vermilingua) and the Relationship of Eurotamandua to the Vermilingua. *Journal of Mammalian Evolution* 5:237-265.
- [26] Gaudin, T. J. & Wible, J. R. 2005: Chapter 6. The phylogeny of living and extinct armadillos (Mammalia, Xenarthra, Cingulata): a craniodental analysis. Pp. XX-XX in: Carrano, M. T., Gaudin, T. J., Blob, R. W. & Wible, J. R. (eds.), "Amniote Paleobiology: Perspectives on the Evolution of Mammals, Birds and Reptiles". University of Chicago Press, Chicago, IL.
- [27] Glass, B.P. 1985: History of Classification and Nomenclature in Xenarthra (Edentata). In: Montgomery, GG.: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD, 1-3.
- [28] Greenwood, A.D.; Castresana, J.; Feldmaier-Fuchs, G. & Pääbo, S. 2001: A Molecular Phylogeny of Two Extinct Sloths. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:94-103.

- [29] Hall, T.A. 1999: BioEdit: A User-friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series 41*: 95-98.
- [30] Harrison, R.G.1989: Animal Mitochondrial DNA as a Genetic Marker in Population and Evolutionary Biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 94-103.
- [31] Hennig, W. 1966: *Phylogenetic Systematics*. Universidade de Illinois - Urbana. 263.
- [32] Hills, D.M. 1991. Discriminating Between Phylogenetic Signal and Random Noise in DNA Sequences. 278-294p. In: Mi Yamoto, M.M. & Cracft, J. (ed.) *Phylogenetic Analysis of DNA Sequences*. Oxford University Press, New York.
- [33] Hills, D.M. & Huelsenbeck, J.P. 1992: Signal, Noise, and Reliability in Molecular Phylogenetic Analyses. *Journal of heredity 83*: 189-195.
- [34] Hoffstetter, R. 1982: Les Edentes Xenarthres, un Group Singulier de la Faune Neotropicale. In: Gallitelli, M. ed.: *Paleontology, Essetial of historical Geology. Proc. of the I Internatinal Paleontology*. Veneza. 385-443.
- [35] Hofreiter, M.; Betancourt, J.L.; Sbriller, A.P.; Markgraf, V. & McDonald, G. 2003: Phylogeny, Diet, and Habitat of Extinct Ground Sloth form Cuchilo Curá, Neuqén Province, southwest Argentina. *Quaternary Research*, 59. 364-368.
- [36] Höss, M.; Dilling, A.; Currant, A. & Pääbo, S. 1996: Molecular Phylogeny of the Extinct Ground Sloth *Myiodon darwinni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA 93*:181-185.

- [37] Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. 2001: Mr. Bayes: Bayesian Inference of Phylogenetic Trees. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
- [38] Kriegs, J.O.; Churakov, G.; Kiefmann, M.; Jordan, U.; Brosius, J. & Schmitz, J. 2006: Retroposed Elements as Archives for the Evolutionary History of Placental Mammals. *PLoS Biology*, 4: 91.
- [39] Le Quesne, W.J. 1974: The Uniquely Envolved Character Concept and its Cladistic. *Systematic Zoology*, 23: 513-517.
- [40] Liebert, C.A.; Hall, R.M. & Summers, A.O. 1999: Transposon 21, Flagship of the Floating Genome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(3): 507-522.
- [41] Linnaeus, C. 1758: *Systema Naturae*. Laurentii Salvii, 10<sup>a</sup> edição - Stockholmo. 824.
- [42] MacKenna, M.C. & Bell, S. K. 1997: *Classification of Mammals above the Species Level*. Columbia University Press, New York.
- [43] Maddison, D.R.; Swofford, D.L. & Maddison, W.P. 1997: Nexus - an Extensible File Format for Systematic Information. *Systematic Biology* 46: 590-621.
- [44] Moritz, C.; Dowling, T.E. & Brown, W.M. 1987: Evolution of Animal Mitochondrial DNA: Relevance for Population Biology and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 269-292.
- [45] Montgomery, G.G. 1985: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD.

- [46] Müller, J. & Müller, K. 2004: **TreeGraph**: Automated Drawing of Complex Tree Figures Using an Extensible Tree Description Format. *Molecular Ecology Notes*, 4: 786-788.
- [47] Murphy, W.J.; Eizirik, E.; Jonhson, W.E.; Zhang, Y.P.; Ryder, O.A. & O'Brien, S.J. 2001; Molecular Phylogenetics and the Origins of Placental Mammals. *Nature* 409: 614-618.
- [48] Murphy, W.J.; Pevzner, P. & O'Brien, S.J. 2004: Mammalian Phylogenomics Comes of Age. *Trends Genetics*, 20: 631-639.
- [49] Murphy, W.J.; Pringel, T.H.; Crider T.A.; Springer, M.S. & Miller, W. 2007. Using Genomic Data to Unravel the Root of the Placental Mammal Phylogeny. *Genome Research* 17: 413-421.
- [50] Nishihara, H.; Hasegawa, M. & Okada, N. 2006: Pegasoferae, an Unexpected Mammalian Clade Revealed by Tracking Ancient Retroposon Insertions. *Proceeding of National Academic of Science*, 103: 9929-9934.
- [51] Nowak, R.M. 1999: *Walker's Mammals of the World*. Sixth Edition. Volume I. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- [52] O'Rourke, D.H.; M.G. Hayes & S.W. Carlyle; 2000: Spatial and Temporal Stability of mtDNA Haplogroup Frequencies in Native North America. *Human Biology* 72(1):15-34.
- [53] Pääbo, S. 1998: Molecular Coproscopy; Dung and Diet of the Extinct Ground sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science* 281: 402-407.
- [54] Pääbo, S.; Thomas, W.K.; Whitfield, K.M., Kumazawa, Y. & Wilson, A.C. 1991: Rearrangements of Mitochondrial Transfer RNA Genes in Marsupials. *Journal of Molecular and Evolution*, 33: 426-430.

- [55] Palumbi, S.R.; Martin, A.; Romano, S.; Memillan, W.O.; Stice, L. & Grabowski, G. 1991: *The Simple Fool's Guide to PCR*. University of Hawaii Press Honolulu.
- [56] Patterson, B., W. Segall, and W. D. Turnbull. 1989. The Ear Region in Xenarthrans (=Edentata, Mammalia). Part I. Cingulates. *Fieldiana, Geology, n.s. 18*: 1-46.
- [57] Patterson, B.; Segall, W.; Turnbull, W.D. & Gaudin, T.J. 1992: The Ear Region in Xenarthrans (Edentata, Mammalia). Part II. Sloths, anteaters, palaeonodonts, and a miscellany. *Fieldiana Geology New Series 24*:1-79.
- [58] Paula Couto, C. 1979: *Tratado de Paleomastozoologia*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Cap XII. 189-239.
- [59] Poinar, H.N.; Hofreiter, M.; Spaulding, W.G.; Martin, P.S.; Stankiewicz, B.A.; Bland, H.; Evershed, R.P.; Possnert, G. & Pääbo, S. 1998: Molecular Coproscopy; Dung and Diet of the Extinct Ground Sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science 281*: 402-407.
- [60] Poinar, H.N.; Kuch, M.; McDonald, G.; Martin, P. & Pääbo, S. 2003: Nuclear Gene Sequences from a Late Pleistocene Sloth Coprolite. *Current Biology 13*: 1150-1152.
- [61] Posada, D. & Crandal, K.A. 1998: **Modeltest**: Testing the Model of DNA Substitution. *Bioinformatics Applications Note 14*: 817-818.
- [62] Rose, K.D. & Emry, R.J. 1993: Relationship of Xenarthra, Pholidota, and Fossil "Edentates" the Morphological Evidence In: Slazay, F.S.; Novacek, M.J. & McKenna, M.C. Eds. *Mammal Phylogen*, Springer-Verlag, New York, 81-102.

- [63] Rokas, A. & Carroll, S.B. 2006: Bushes in the Tree of Life. *PLoS Biology*, 4: 352.
- [64] Saitou, N. & Nei, M. 1987: The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- [65] Sarich, V.M. 1985: Xenarthran Systematics: Albumin Immunological Evidence. In: Montgomery, G.G.: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD, 77-81.
- [66] Schneider, H. 2003: *Métodos de Análise Filogenética*. Holos, 2ª edição - Ribeirão Preto. 114.
- [67] Shedlock, A.M. & Okada, N. 2000: SINE Insertions: Powerful Tools for Molecular Systematics. *Bioessays*, 28: 148-160.
- [68] Simpson, G.G. 1945: The Principles of Classification and a Classification of Mammals. *American Museum of Natural History Bulletin*, 85: 1-150.
- [69] Simpson, G.G. 1980: *Splendid isolation. The Curious History of South American Mammals*. Yale University Press, New Haven and London.
- [70] Sneath, P.H. & Sokal, R.R. 1973: *Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman - São Francisco. 573.
- [71] Sokal, R.R. & Sneath, P.H. 1963: *Principles of Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman - São Francisco e Londres. 359.
- [72] Springer, M.S.; Stanhope, M.J.; Madsen, O. & de Jong, W.W. 2004. Molecules Consolidate the Placental Mammal Tree. *Trends Ecology and Evolution*, 19: 430-438.

- [73] Swofford, D.L. 2003: PAUP\*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- [74] Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & Gibson, T.J. 1997: ClustalW: Improving the Sensitivity of the Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Positions-specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- [75] Van Dijk, M.A.M. Paradis, E.; Catzefflis, F. & De Jong, W.W. 1999: The Virtues of Gaps: Xenarthra (Edentate) Monophyly Supported by a Unique Deletion in Alpha A-crystallin. *Systematic Biology* 48: 94-106.
- [76] Vizcaíno, S.F. 1995: Identificación Específica de Las “Mulitas”, Género *Dasypus* (Mammalia, Dasypodidae), del Noroeste Argentino. Descripción de una nueva especie. *Mastozoología Neotropical* 2: 5-13.
- [77] Waters, P.D.; Dobigny, G.; Pardini, A.T. & Robinson, T.J. 2004: LINE-1 Distribution in Afrotheria and Xenarthra: Implications for Understanding the evolution of LINES-1 in Eutirian Genomes. *Chromosoma* 113: 137-144.
- [78] Wetzel, R.M.1985: The Identification and Distribution of Recent Xenarthra (= Edentata).In: Montgomery, G.G.: *The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas*. Smithsonian Institution, Washington, CD, 05-21.
- [79] Wilson, A.C.; Cann, R.L.; George, M.; Gyllensten, U.S.; Hellmuth, K.M.; Higuchi, R.G.; Palumbi, S.R.; Prager, E.M.; Sage, R.D. & Stoneking, M. 1985: Mitochondrial DNA and Two Perspectives on



Evolutionary Genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26: 375-400.

- [80] White, J.L. & Macphee, R.D.E. 2001: The Sloths of the West Indies: A Systematic and Phylogenetic Review. In: Woods, C.A. ed.: *Biogeography of the West Indies: patterns and perspectives*. New York: CRC Press, 201-235.

# Apêndice A

## Banco de dados mais análise do gene 16S.

```
#Nexus
Begin data;
Dimensions ntax=17 nchar=592;
Format datatype=dna gap=- missing=? interleave=yes;
Matrix
```

```
D._novemcinctus_GB ??????????????????TACTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACACACG
D._septemcinctus_MG ??????????????????TACTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACACACG
B._tridactylus_GB ??????????????????TATTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACATACG
B._variegatus_GB ??????????????????TATTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACATATG
B._torquatus_GB ??????????????????TATTAGAGTTTCTGGCTGCCCAGTACACACACA
Ch._didactylus_GB ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATATG
M._tridactyla_GB ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATGCG
T._tetradactyla_GB ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATGCG
Cy._didactylus_GB ??????????????????TACTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACACATG
E._sexcinctus_GB ??????????????????TATTACAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATATG
E._sexcinctus_MG ??????????????????TATTACAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATATG
C._villosus_GB CACCTCTAGCATTACAATTATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACATACG
P._maximus_MG ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACACACG
P._maximus_PV ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACACACG
T._tricinctus_MG ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACACACG
C._unicinctus_GB CACCTCTAGCATCACAAATTATTAGAGGCACCGCCTGCCCAGTGACACATG
D._kappleri_MG ??????????????????TATTAGAGGCACTGCCTGCCCAGTGACACACG

D._novemcinctus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
D._septemcinctus_MG TTAAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
B._tridactylus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
B._variegatus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTAACCCTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
B._torquatus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTAACCCTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
Ch._didactylus_GB TTTAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
M._tridactyla_GB TTTAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
T._tetradactyla_GB TTTAACGGCCGCGGTATTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
Cy._didactylus_GB TTTAACGGCCGCGGTATTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
E._sexcinctus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
E._sexcinctus_MG TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
C._villosus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGTT
P._maximus_MG ??????CGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
P._maximus_PV ??????CGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
T._tricinctus_MG TTTAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
C._unicinctus_GB TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
D._kappleri_MG TTCAACGGCCGCGGTACCCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCACTTGTT
```

D._novemcinctus_GB	CTCTAATTAAGGACCCGTATGAATGGCTAAACGAGGTTTCTACTGTCTCC
D._septemcinctus_MG	CTCTAATTAAGGACCCGTATGAATGGCTAAACGAGGTTTCTACTGTCTCC
B._tridactylus_GB	CTTTAATTAAGGACTTGCATGAAAGGCCCAACGAGGATTTTACTGTCTCC
B._variegatus_GB	CTTTAATTAAGGACTTGCATGAAAGGCCCAACGAGGATTTTACTGTCTCC
B._torquatus_GB	CTTTAATTAAGGACTTGTATGAAAGGCCCAACGAGGATTTTACTGTCTCC
Ch._didactylus_GB	CTCTAATTAAGGACTTGCATGAAAGGCTTAACGAGGATTTTACTGTCTCC
M._tridactyla_GB	CCTTAATTAGGGACTAGTATGAAAGGCTTAACGAGGGTTTTACTGTCTCT
T._tetradactyla_GB	CCTTAATTAGGGACTAGTATGAAAGGCTTGACGAGGGTTTTACTGTCTCT
Cy._didactylus_GB	CTCTAATTAAGGACTAGCATGAACGGCTTGACGAGGGTTTTACTGTCTCC
E._sexcinctus_GB	CTCTAACTAAGGACCTGTATGAACGGCCACACGAGGATTCCACTGTCTCC
E._sexcinctus_MG	CTCTAACTAAGGACCTGTATGAACGGCCACACGAGGATTCCACTGTCTCC
C._villosus_GB	CTCTAACTGAGGACCTGTATGAATGGCCACACGAGGATTCTACTGTCTCC
P._maximus_MG	CTCTAATTAAGGACCTGTATGAATGGCCAAACGAGGATTCCACTGTCTCC
P._maximus_PV	CTCTAATTAAGGACCTGTATGAATGGCCAAACGAGGATTCCACTGTCTCC
T._tricinctus_MG	CTCTAATTAAGGACCTGTATGAATGGCCAAACGAGGATTCAACTGTCTCC
C._unicinctus_GB	CTCTAATTAAGGACCCGTATGAATGGCCAAACGAGGATTCAACTGTCTCC
D._kappleri_MG	CTCTAATTAAGGACCCGTATGAATGGCTAAACGAGGTTTCTACTGTCTCC
D._novemcinctus_GB	TATTCCCTATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAATCA
D._septemcinctus_MG	TATTCCCTATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAACCC
B._tridactylus_GB	TACTTCCAATCAATGAAATTGACCCCCCGTGAAGAGGCAGGGATAACCA
B._variegatus_GB	TACTTCCAATCAGTAAAATTGACCCCCCGTGAAGAGGCAGGGATGACCA
B._torquatus_GB	CACCTTCCAATCAGTAAAATTGACCCCCCTGTGAAGAGGCAGGGATGACCC
Ch._didactylus_GB	TACTTCCAATCAGTAAAATTGACCTCCCCGTGAAGAGGCAGGGATAAAC
M._tridactyla_GB	TGTTTCCAATCAGTAAAATTGACCTCCCCGTGAAGAGGCGGGGATAAACA
T._tetradactyla_GB	TGTTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGGATAATAA
Cy._didactylus_GB	TACCTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAATAA
E._sexcinctus_GB	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAATAC
E._sexcinctus_MG	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAATAC
C._villosus_GB	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATGATCC
P._maximus_MG	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAAACA
P._maximus_PV	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAAACA
T._tricinctus_MG	TACTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAAACA
C._unicinctus_GB	TATTTCCAATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAAACA
D._kappleri_MG	TATTTCCCCTATCAGTAAAATTGACCTTCCCCTGAAGAGGCGGGAATAGTCC
D._novemcinctus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
D._septemcinctus_MG	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
B._tridactylus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTACGGAACCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
B._variegatus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTACGGAACCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
B._torquatus_GB	CATAAGACGAGAAGACCCTACGGAACCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
Ch._didactylus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTACGGAACCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
M._tridactyla_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
T._tetradactyla_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
Cy._didactylus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
E._sexcinctus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
E._sexcinctus_MG	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
C._villosus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGTGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
P._maximus_MG	TATAAGACGAGAAGACCCTGCAGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
P._maximus_PV	TATAAGACGAGAAGACCCTGCAGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
T._tricinctus_MG	TATAAGACGAGAAGACCCTGCAGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
C._unicinctus_GB	TATAAGACGAGAAGACCCTGCAGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT
D._kappleri_MG	TATAAGACGAGAAGACCCTGNGGAGCTTAAATTAAGTATCAGC--AAT

D._novemcinctus_GB	ATCAACATACCCGTCAACAGACATAA--ACAAAATGACATGAACTATTAA
D._septemcinctus_MG	ATCAACATACTCATCAACAGATATAA-AACAAAATGATATGAGCTATTAA
B._tridactylus_GB	ACCCATACAAAC-CTAGCGGGGACAACCTTTCCATG-ACCTAGACTAGCAA
B._variegatus_GB	ACCCATACAAAC-CTAGCGGGGACAACCTTTCCATG-ACCTAAACTAGCAA
B._torquatus_GB	ACCCATATAAAC-C-AACAGGAACAACCCCCACA-ACCTAGACCAACAA
Ch._didactylus_GB	ATTTTCCCCCAC-CCAACAGGAAAAACCCCCGCA-ACCTAGGCTAGCAA
M._tridactyla_GB	AACCC-ACAAAC-CCACCATGGCCAACATATAGTA-AACTGGGCTAGAAA
T._tetradactyla_GB	ATCCA-ATTAGC-CCCTCAGGGCCAACATATAATA-AACTGGGCTAAAAA
Cy._didactylus_GB	AATT--ATTACT-CCAATAGGAACAACAATCAACA-AACTGGGCTAAAAA
E._sexcinctus_GB	ACCACTAAACA--CCAATAGGAATAAACACACATA-ACATGAGCTGCCAA
E._sexcinctus_MG	ACCACTAAACA--CCAATAGGAGTAAACACACATA-ACATGAGCTGCCAA
C._villosus_GB	ATTATTAACA--CCAATAGGAACAACACACATA-ATATGAGCTGCCAA
P._maximus_MG	ATCACCCAACAT-NCAACAGGAATAAGCACACAGA-ACGTGAGCTGCCAA
P._maximus_PV	ATCACCCAACAT-NCAACAGGAATAAGCACACAGA-ACGTGAGCTGCCAA
T._tricinctus_MG	TCTAACCAACAG-CCAACAGGAATAA-CACATACACGTATGAGCTGACAA
C._unicinctus_GB	ACAGTCCATTAC-CCAACAGGAACAACAATGCA-GCCTGGGCTGCCAA
D._kappleri_MG	NNNNNNNNNNNNN-NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN-NNNNNNNNNNNNNN
D._novemcinctus_GB	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCACAGCAAA-CCTCCGAATGACA--GC
D._septemcinctus_MG	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCACAAAAACCTCCGAATGACA--GC
B._tridactylus_GB	TTTCGGTTGGGGCGACCTCGGAGTACAAAAAACCTCCGAATGACCATGC
B._variegatus_GB	TTTCGGTTGGGGCGACCTCGGAGTACAAAAAACCTCCGAATGACCATGC
B._torquatus_GB	TTTCGGTTGGGGCGACCTTGGAGTACAAAAAACCTCCAAACAACCCACAC
Ch._didactylus_GB	TTTCGGTTGGGGTGACCTCGGAGCATAAAACAAACCTCCGAATGACTATTC
M._tridactyla_GB	TTTTGGTTGGGGCGACCTCGGAGAAAAAAAATCCTCCGAATGATT-CAT
T._tetradactyla_GB	TTTCGGTTGGGGTGACCTCGGAGTAAAAGAAATCCTCCGAATGATT-TAT
Cy._didactylus_GB	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGAACAATAAACCTCCTCCGAATGATT-AAC
E._sexcinctus_GB	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAAAACAAACCTCCGAATGATA-AGT
E._sexcinctus_MG	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAAAACAAACCTCCGAATGATA-AGT
C._villosus_GB	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAAAACAAACCTCCGAATGATA-AGT
P._maximus_MG	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAGAACAACCTCCGAATGATA-AGC
P._maximus_PV	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAGAACAACCTCCGAATGATA-AGC
T._tricinctus_MG	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAAAACAAACCTCCGAATGATA-AGT
C._unicinctus_GB	TTTTGGTTGGGGTGACCTCGGAGCAAAACAAACCTCCGAATGATA-AGC
D._kappleri_MG	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN--NN
D._novemcinctus_GB	GCCAAGACCA-ACCGTCAAAGCCCATA--?????-----TCGAAACCAA
D._septemcinctus_MG	GCCAAGACCA-ACCGTCAAAGCCCATA--?????-----ACGAAACCAA
B._tridactylus_GB	ACCCAGACCTCACCAGTCAACGTGCCTC--?????--AATATCAACTCAA
B._variegatus_GB	ACCCAGACCTCACCAGTCAACGTGCCTC--?????--AATATCAACTCAA
B._torquatus_GB	ACTTAGACTTTACCAGTCAACGTGCCTC--?????--AAAATAACCCAA
Ch._didactylus_GB	ACTTAGACCTAACAGTCAACATACTTC--?????--AACGCCA-?CTAA
M._tridactyla_GB	GACCAGACCTAACAAAGTCAAGTTAATATATATATATATATATCA-?TAAA
T._tetradactyla_GB	AACCAGACCTAACAAAGTCAAGTTAGTA--?????--ACTCATCA-?TCAA
Cy._didactylus_GB	ATCTAGGCTTTACCAGCCGAAATATTC--?????--ACTATCA-?TATA
E._sexcinctus_GB	ACTAAGACCT-ACAAGTCAAAGTCCACAA-?????--GTATCA-?CTTA
E._sexcinctus_MG	ACTAAGACCT-ACAAGTCAAAGTCCACA--?????--GTATCA-?CTTA
C._villosus_GB	ACCAAGACCC-ACAAGTCAAAGTCCATA--?????--GTATCA-?CTTA
P._maximus_MG	ACCAAGACTC-ACAAGTCAAAGTCCACC--?????--ATATCA-?CTTA
P._maximus_PV	ACCAAGACTC-ACAAGTCAAAGTCCACC--?????--ATATCA-?TTTA
T._tricinctus_MG	ACTAAGACCT-ACAAGTCAAAGTCCACC--?????--ATATCA-?CAAA
C._unicinctus_GB	ACCAAGACCC-ACAAGTCAAAGTCCATT--?????--ATATCA-?CTTA
D._kappleri_MG	NNNNNNNNNNNNNNNGTCAAAGCCCATA--?????-----ACGAAACCAA

D.\_novemcinctus\_GB TTGACCCAAAA--ATTGACCAACGGAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
D.\_septemcinctus\_MG TTGATCCAAAAG--ATTGACCAACGAAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
B.\_tridactylus\_GB TTGACCCAAGT-AATTGATCAACGGAACAAG-CTACCCTAGGGATAACAG  
B.\_variegatus\_GB TTGACCCAAGT-AATTGATCAACGGAACAAG-CTACCCTAGGGATAACAG  
B.\_torquatus\_GB TTGACCCAAGC-AATTGATCAACGGAACAAG-CTACCCTAGGGATAACAG  
Ch.\_didactylus\_GB TTGACCCAAGC-AATTGATCAATGGAACAAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
M.\_tridactyla\_GB TTGATCCAAGA-AATTGATCAACGGAACAAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
T.\_tetradactyla\_GB TTGATCCAAGA-AATTGATCAACGGAACAAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
Cy.\_didactylus\_GB TTGATCCAAGACAATTGAGCAACGGAACAAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
E.\_sexcinctus\_GB TTG-CCCAAAA-TATTGATCAACGAAACCAGTTACCCCAGGGATAACAG  
E.\_sexcinctus\_MG TTGACCCAAAA-TATTGATCAACGAAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
C.\_villosus\_GB TTGACCCAAAA-TATTGATCAACGAAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
P.\_maximus\_MG TTGACCCAAAAG-TATTGATCAACGGAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
P.\_maximus\_PV TTGACCCAAAAG-TATTGATCAACGGAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
T.\_tricinctus\_MG TTGACCCAAAA-TATTGATCAACGGAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
C.\_unicinctus\_GB TTGACCCAAAA-AATTGACCAACGGAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG  
D.\_kappleri\_MG TTGATCCAAAA--ATTGACCAACGAAACCAG-TTACCCCAGGGATAACAG

D.\_novemcinctus\_GB CGCAATCCTATTCCAGAGCCCATATCAACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
D.\_septemcinctus\_MG CGCAATCCTATTCCAGAGCCCATATCAACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
B.\_tridactylus\_GB CGCAATCCTATTTCAGAGTCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
B.\_variegatus\_GB CGCAATCCTATTTCAGAGTCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
B.\_torquatus\_GB CGCAATCCTATTTTCAGAGTCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
Ch.\_didactylus\_GB CGCAATCCTATTCCAGAGTCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
M.\_tridactyla\_GB CGCAATCCTATTTTAGAGTCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
T.\_tetradactyla\_GB CGCAATCCTATTTTAGAGTTCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
Cy.\_didactylus\_GB CGCAATCCTATTCTAGAGTCCCTATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
E.\_sexcinctus\_GB CGCAATCCTATTCAAGAGCCCATATCGGAATAGGGGTTTACGA-CCTCGA  
E.\_sexcinctus\_MG CGCAATCCTATTCAAGAGCCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
C.\_villosus\_GB CGCAATCCTATTCAAGAGCCGATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
P.\_maximus\_MG CGCAATCCTATTCTAGAGCCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
P.\_maximus\_PV CGCGATCCTATTCTAGAGCCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
T.\_tricinctus\_MG CGCAATCCTATTATAGAGCCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
C.\_unicinctus\_GB CGCAATCCTATTACAGAGCCCATATCGACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA  
D.\_kappleri\_MG CGCAATCCTATTCCAGAGCCCATATCAACAATAGGGTTTACGA-CCTCGA

D.\_novemcinctus\_GB TGTTGGATCA-GGACAC????????????????????????????????  
D.\_septemcinctus\_MG TGTTGGATCA-GGACATCCAAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
B.\_tridactylus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCCAGTA--TGTA????????????????????  
B.\_variegatus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCCAGTAG-TGTA????????????????????  
B.\_torquatus\_GB TGTTGGATCAAGGACATCCTAATGGGCGC????????????????????  
Ch.\_didactylus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCCA-TGGGCGC????????????????????  
M.\_tridactyla\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCAAATGG-CGC????????????????????  
T.\_tetradactyla\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCAAATGG-CGC????????????????????  
Cy.\_didactylus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCTAATGG-CGC????????????????????  
E.\_sexcinctus\_GB TGTTGGATCA-GGACAT????????????????????????????????  
E.\_sexcinctus\_MG TGTTGGATCA-GGACATCCTAATGG-TGTAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
C.\_villosus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCTAATGG-TGTAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
P.\_maximus\_MG TGTTGGATCA-GGACACCCAAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
P.\_maximus\_PV TGTTGGATCA-GGACACCCAAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
T.\_tricinctus\_MG TGTTGGATCA-GGACACCCAAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
C.\_unicinctus\_GB TGTTGGATCA-GGACATCCTAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT  
D.\_kappleri\_MG TGTTGGATCA-GGACATCCAAATGG-TGCAGCCGCTATTAAGGTTTCGTT

```

D._novemcinctus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
D._septemcinctus_MG TGTTCAA-GATTAAAGTCCTACGTGATCTGAGTTCAG??????
B._tridactylus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
B._variegatus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
B._torquatus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
Ch._didactylus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
M._tridactyla_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
T._tetradactyla_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
Cy._didactylus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
E._sexcinctus_GB ?????????????????????????????????????????????????????????????
E._sexcinctus_MG TGTTCAACGATTAAGTCCTACGTGATCTGAGTTCAGACCGG
C._villosus_GB TGTTCAACGATTAAGTCCTACGTGATCTGAGTTCAGACCGG
P._maximus_MG TGTTCAAC????????????????????????????????????????????????????????????
P._maximus_PV TGTTCAAC????????????????????????????????????????????????????????????
T._tricinctus_MG TGTTCAACGATTAAGTCCTACGTGATCTGAGTTCAG??????
C._unicinctus_GB TGTTCAACGATTAAGTCCTACGT????????????????????????????????????
D._kappleri_MG TGTTCAA-GATTAAAGTCCTACGTGATCTGAGTTCAG??????
;

```

End;

[!Teste G1]

```

Begin paup;
Log file=Xen_TG1.log replace=yes;
Set autoclose=yes increase=auto;
Randtrees NReps=1000000 FDfile=Xen_TG1.txt Replace=yes;
Log stop;
End;

```

[!Análise de Agrupamento de Vizinhos com Bootstrap de 1000 réplicas]

```

Begin paup;
Set autoclose=yes cri=distance WARNREDEF=NO;

[!
Likelihood settings from best-fit model (GTR+G) selected by AIC
in Modeltest 3.7 on Fri May 4 03:26:57 2007
]

BEGIN PAUP;
Lset Base=(0.3211 0.2466 0.2072) Nst=6 Rmat=(8.9910 14.7150
6.4183 1.0361 55.1812) Rates=gamma Shape=0.2400 Pinvar=0;
END;

Dset distance=ML objective=ME Dcollapse=No NegBrLen=SetZero;
Log file=Xen_AV.txt replace=yes start;
Set warnroot=no;
Dset distance=ME;
NJ;
Describetrees all/ Plot=Phylogram BrLens=yes LabelNode=yes;
Savetrees brlens=no file=Xen_AV-1.tre Replace=yes;
SaveTrees brlens=yes file=Xen_AV-2.tre Replace=yes;
ClearTrees NoWarn=yes;
Log stop;
Set increase=auto;
Log file=Xen_AV_Boot.txt replace=yes start;
BootStrap nreps=1000 search=heuristic /nreps=10;

```

```

Savetrees file=Xen_AV_Boot.tre format=altnexus
Savebootp=nodelabels
Maxdecimals=0 from=1 to=1000 replace=yes;
Log stop;

[!Análise de Máxima Probabilidade com Bootstrap de 1000 réplicas]
Begin paup;
Set autoclose=yes cri=likelihood;

[!
Likelihood settings from best-fit model (GTR+G) selected by AIC in
Modeltest 3.7 on Fri May 4 03:26:57 2007
]
]

BEGIN PAUP;
Lset Base=(0.3211 0.2466 0.2072) Nst=6
Rmat=(8.9910 14.7150 6.4183 1.0361 55.1812)
Rates=gamma Shape=0.2400 Pinvar=0;
END;

Dset distance=ML;
Pset gapmode=missing;
Hsearch;
Savetrees file=Xen_MV_Analise.tre format=altnexus
brlens=yes maxdecimals=4 replace=yes;
Lscores/ Scorefile=Xen_MV_scores.nex replace=yes;
Log stop;
End;
Begin paup;
Set autoclose=yes increase=auto;
BootStrap nreps=1000;
Savetrees file=Xen_MV_Boot.tre format=altnexus root=yes
Savebootp=nodelabels maxdecimals=0 from=1 to=1000 replace=yes;
End;

```