

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**VARIABILIDADE GENÉTICA, DEMOGRAFIA, HISTÓRIA POPULACIONAL
E COMPORTAMENTO EM POPULAÇÕES DE *Sapajus libidinosus***

Camila Cantele

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientadora: Maria Cátira Bortolini

Porto Alegre
Março de 2020

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Evolução Humana e Molecular (LEHM) do Departamento de Genética, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) proveu bolsa de mestrado à aluna, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM – UFRGS). O projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Maria Cátira Bortolini, por ter me recebido gentilmente em seu laboratório e pela louvável dedicação ao me auxiliar em todas as etapas desta dissertação.

Agradeço às colegas do LEHM: Bibiana Oliveira Fam, Bruna Oliveira Missaggia e Luane Landau pelo auxílio crucial nos procedimentos de bancada e pelos inestimáveis conselhos científicos. Agradeço aos demais colegas: Bruno Veber, Guillermo Reales, Lucas Viscardi, Mariana Marcano, Pedro Vargas, Vinícius Sortica e Yuri Yépez pela convivência agradável e pelas produtivas conversas sobre ciência.

Agradeço a todos os que contribuíram com essa pesquisa, especialmente ao professor Tiago Falótico por ter cedido as amostras e pela parceria produtiva.

Agradeço também aos professores e funcionários do PPGBM pela competência e ensinamentos. Em especial ao prezado Elmo Cardoso, por ser sempre tão gentil e eficiente.

À banca examinadora: Professores Guilherme Brambatti Guzzo, Júlio César Bicca Marques e Loreta Brandão de Freitas por dedicar seu precioso tempo e disposição para avaliar a presente dissertação.

Às minhas queridas amigas: Simone Zaccaria pelo amparo, incentivo, torcida e por ser minha fiel confidente em todos os momentos, mesmo à distância; e Kaliane Regalin Aver pelo apoio durante momentos de grandes conquistas, perdas e mudanças.

À minha família pelo amor incondicional e por todo apoio que dedicam a mim. À minha mãe Beatriz Bizotto Cantele, pelo exemplo de força e determinação. Ao meu pai Carlos Antonio Cantele, pelo modelo de honestidade e integridade. Ao meu irmão Luis Carlos Cantele, pelos conselhos e suporte.

Ao meu amado companheiro Leandro Fabrício Duarte, por todo seu carinho, amizade, companheirismo e cumplicidade. A produção da presente dissertação se deve, em partes, ao seu apoio e amor durante todo esse período.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	3
ABREVIATURAS.....	6
RESUMO	8
ABSTRACT	10
CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO.....	12
I.1 Macacos do Novo Mundo (Parvordem Platyrrhini).....	12
I.2 Taxonomia e distribuição dos macacos-prego.....	13
I.3 O uso de ferramentas por animais	15
I.4 Cultura em animais.....	17
I.5 O uso de ferramentas por macacos-prego.....	19
I.6 <i>Sapajus libidinosus</i> do Parque Nacional Serra da Capivara	21
I.7 <i>Sapajus</i> spp do Parque Ecológico do Tietê	22
I.8 O uso de marcadores genéticos para estudos demográficos e evolutivos	24
I.9 O sistema oxitocinérgico (Oxitocina-Vasopressina).....	25
CAPÍTULO II. OBJETIVOS	31
II.1. Objetivo geral	31
II.2. Objetivos específicos	31
CAPÍTULO III. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
III.1 Extração de DNA e sequenciamento	32
III.2 Índices de diversidade e história demográfica	35
III.3 Rede de haplótipos.....	36
III.4 Tempos de divergência	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	38
IV.1 História populacional e demográfica de <i>S. libidinosus</i>	38
IV.1.1 Filogenia com base em tempos de divergência	38
IV.1.2 Índices de diversidade e história demográfica	42
IV.1.3 Rede de haplótipos.....	45
IV.2 Variabilidade de genes do sistema oxitocinérgico em espécies de macacos do Novo Mundo, incluindo <i>S. libidinosus</i>	48
IV.2.1 Variantes de OXT.....	48
IV.2.2 Receptores OXTR, AVPR1a e AVPR1b.....	50

CAPÍTULO V. DISCUSSÃO	55
V.1 Demografia e evolução dos <i>S. libidinosus</i> do SCNP e TEP	55
V.2 Variações no sistema oxitocinérgico	61
V.2.1 OXT	61
V.2.2 Receptores	63
CAPÍTULO VI. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	67
ANEXO 1	77
ANEXO 2	80
ANEXO 3	82

ABREVIATURAS

- AIC - *Akaike Information Criterion*/Critério de Informação de Akaike
- AVP- Vasopressina
- AVPR1a- Receptor de vasopressina do tipo 1a
- AVPR1b- Receptor de vasopressina do tipo 1b
- AVPR2- Receptor de vasopressina do tipo 2
- BEAST - *Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees*
- BPF - Baixão da Pedra Furada
- BSP - *Bayesian Skyline Plot*
- COI- Citocromo Oxidase I
- CYTB - Citocromo b
- D-loop - Laço de Deslocamento Mitocondrial
- ESS - *Effective Sample Size*
- GPCRs- Receptores acoplados a proteína G
- HPD - *Higher Posterior Density*
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
- MCC - *Maximum Clade Credibility*
- MCMC - *Markov chain Monte Carlo*/Cadeias de Markov Monte Carlo
- MJN - *Median Joining Network*
- MUSCLE -*Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*
- NS - Substituição não-sinônima
- NWM - *New World Monkeys*/Macacos do Novo Mundo
- OOA - *Out of Amazonia*/Saída da Amazônia
- OXT - Oxitocina
- OXTR - Receptor de oxitocina
- ROA - *Reinvasion of Amazonia*/Reinvasão da Amazônia
- SCNP - Parque Nacional Serra da Capivara

SNC- Sistema Nervoso Central

SNV - *Single nucleotide variant*/Variante de nucleotídeo único

TEP - Parque Ecológico do Tietê

RESUMO

Macacos-prego da espécie *Sapajus libidinosus* são amplamente conhecidos pelo uso regular de ferramentas nos biomas brasileiros do Cerrado e da Caatinga. Os principais relatos de uso de ferramentas por *S. libidinosus* provêm do Parque Nacional Serra da Capivara (SCNP), Piauí, Brasil. Dados arqueológicos mostram que eles utilizam ferramentas para acessar recursos alimentícios há ~3.000 anos, o que denota continuidade no tempo, indicando a existência de uma cultura autóctone adaptativa estável. Além disso, *S. libidinosus* que vivem em cativeiro e em ambientes semilivres, como os do Parque Ecológico do Tietê (TEP), também são conhecidos por usarem ferramentas. Neste trabalho, sequenciamos o gene mitocondrial *CYTB* de *S. libidinosus* (N = 40) e de outras espécies para identificar a relação filogenética de *S. libidinosus* com outros macacos da parvordem Platyrrhini (macacos do Novo Mundo, ou NWMs, do inglês *New World Monkeys*). Além disso, identificamos a variabilidade genética desta espécie em relação à região codificadora de genes do sistema oxitocinérgico, modulador particularmente de comportamentos complexos e fisiológicos relacionados a reprodução. Nós relatamos pela primeira vez a variante de OXT para outras 20 espécies de NWMs, buscando avançar o conhecimento sobre a extensão da variabilidade desse importante sistema em primatas. A análise do *CYTB* revelou que os indivíduos de *S. libidinosus* do SCNP e TEP aparecem na árvore filogenética na posição esperada em relação a outros primatas, mais próximos de *Sapajus flavius*. Para a população de *S. libidinosus* do SCNP, as análises *Median Joining Network* e *Bayesian Skyline Plot*, e os testes D de Tajima e F_s de F_u indicam uma relativamente recente expansão demográfica (<10.000 anos atrás); enquanto para a população do TEP foi observado um leve declínio no tamanho efetivo da população, com nenhuma indicação de reversão em épocas mais recentes condizentes com a criação do Parque, de acordo com a análise de *Bayesian Skyline Plot*. Dados do *CYTB* no TEP não indicaram híbridos com outras espécies do gênero *Sapajus*, porém, devido à natureza da herança mitocondrial, esse fenômeno não pode ser descartado quando há cruzamentos assimétricos. Devido ao fato de que o desenvolvimento da cultura no SCNP coincide com o intervalo de tempo em que o clima semiárido na Caatinga se estabeleceu (6.000-2.000 mil anos), bem como com a expansão populacional, mediado pelas fêmeas, sugerimos que esses eventos possam estar relacionados, embora a exata razão do gatilho seletivo, que levou a

inovação e ao estabelecimento da cultura, ainda seja controversa. A espécie *S. libidinosus* apresenta a variante funcional Pro8OXT, que está associada ao cuidado parental masculino direto, bem como a monogamia social nos NWMs. Os machos de *S. libidinosus* não cuidam diretamente da prole, mas são reconhecidamente tolerantes com os infantes que se aproximam, o que favorece o aprendizado social e a transmissão cultural do uso de ferramentas ao longo das gerações. Quanto aos receptores, merece destaque que na posição 62 de AVPR1b (importante mediador no controle da agressividade, ansiedade e estresse) há variabilidade interespecífica e intraespecífica, indicando polimorfismo populacional pelo menos na população de *S. libidinosus* do SCNP. *Sapajus libidinosus* apresenta também uma deleção dos aminoácidos 245 a 248, característica do clado Platyrrhini, mas somente estudos adicionais poderão indicar se as variações encontradas no receptor AVPR1b são funcionais e adaptativas.

Nossos dados, embora preliminares, fornecem o primeiro relato da variabilidade genética e história demográfica das populações de *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara e do Parque Ecológico do Tietê, revelando aspectos até então desconhecidos dessa espécie, fascinante também por sua cultura.

ABSTRACT

Capuchin monkeys of the species *Sapajus libidinosus* are widely known for their regular use of tools in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes. The main reports of tool use by *S. libidinosus* come from the Serra da Capivara National Park (SCNP), Piauí, Brazil. Archaeological data show that they have used tools to access food resources for ~ 3,000 years, which denotes continuity in time, indicating the existence of a stable native and adaptive culture. Besides, *S. libidinosus* that live in captivity and semi-free environments, such as the Tietê Ecological Park (TEP), are also known for exhibiting the use of tools. In this work, we sequenced the mitochondrial gene *CYTB* from *S. libidinosus* (N = 40) and from other species to identify the phylogenetic relationship of them with other monkeys of the Platyrrhini parvorder (or New World monkeys, NWMs). Also, we identified the genetic variability of this species about the coding region of the oxytocinergic system genes, which modulates particularly complex and physiological behaviors related to reproduction.

We reported for the first time the OXT variant present in another 20 species of NWMs, seeking to advance knowledge about the extent of variability of this critical system in primates. The analysis of *CYTB* revealed that the individuals *S. libidinosus* from SCNP and TEP appear in the phylogenetic tree in the expected position concerning other primates, closer to *Sapajus flavius*. For the SCNP, *S. libidinosus* population, the Median Joining Network and Bayesian Skyline Plot analyzes, and the Tajima and F_s de Fu tests, indicate a relatively recent demographic expansion (<10,000 years ago). For the TEP, a small decline in the female effective population size was observed, with no indication of a reversal in this tendency in the most recent times consistent with the creation of the Park, according to the analysis of the Bayesian Skyline Plot. *CYTB* data in the TEP did not indicate hybrids with other species of the genus *Sapajus*; however, due to the nature of the mitochondrial inheritance, this phenomenon cannot be ruled out when there are asymmetric intercrosses. Because the development of culture in the SCNP coincides with the time interval in which the semi-arid climate in the Caatinga was established (6,000-2,000 years ago), as well as the population expansion, mediated by females, we suggest that these events can be related. However, the exact reason for the selective trigger, which led to innovation and the establishment of culture, is still controversial. The species *S. libidinosus* presents the functional variant Pro8OXT, which is

associated with direct male parental care, as well as social monogamy in NWMs. Males of *S. libidinosus* do not directly care for their offspring but are known to be tolerant of approaching infants, which favors social learning and the cultural transmission of the use of tools over the generations. As for the receptors, it is worth mentioning that at position 62 of the AVPR1b (important mediator in the control of aggression, anxiety, and stress), there is inter-specific and intra-specific variability, indicating polymorphism at least in the population of *S. libidinosus* from SCNP. *Sapajus libidinosus* also has a deletion of amino acids 245 to 248, characteristic of the Platyrrhini clade. Still, only additional studies will be able to indicate whether these variations in the AVPR1b receptor are functional and adaptive.

Our data, although preliminary, provide the first account of the genetic variability and demographic history of the populations of *S. libidinosus* in the Serra da Capivara National Park and the Tietê Ecological Park, revealing aspects previously unknown of this species, also fascinating for its culture.

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

I.1 Macacos do Novo Mundo (Parvordem Platyrrhini)

A ordem Primates divergiu de outros clados de mamíferos há aproximadamente 90 milhões de anos (Ma), e atualmente é classificada em cinco grandes agrupamentos, como resultado de extensos estudos filogenéticos, com diferentes tipos de marcadores (Perelman et al., 2011). Não é objetivo da presente Dissertação, no entanto, revisar de modo amplo questões pertinentes a filogenia geral dos primatas. Desse modo, abaixo haverá somente uma breve descrição de clados e nomenclatura mais comumente aceita, deixando mais detalhes somente para a problemática envolvendo os gêneros *Sapajus* e *Cebus*.

Os primatas contemporâneos mais basais nas filogenias consensuais incluem Lemuriformes (lêmures e lóris) e Tarsiformes (társios). Os demais pertencem à infraordem Simiiformes a qual inclui os chamados macacos do Novo Mundo (NWMs, do inglês *New World Monkeys*) das Américas do Sul e Central (parvordem Platyrrhini), e os primatas africanos e asiáticos do Velho Mundo (parvordem Catarrhini), a qual inclui também a superfamília Hominoidea, com duas famílias, Hylobatidae (gibões) e Hominidae (grandes primatas, incluindo os humanos). Estima-se que os NWMs tenham divergido dos Catarrhini há 43 Ma (Perelman et al., 2011). Dentro desse grupo taxonômico, existem 17 gêneros classificados em três famílias: Atelidae, Pitheciidae e Cebidae. Os NWMs da família Atelidae são de grande porte (7-9 kg), enquanto os da família Pitheciidae são de tamanho intermediário (1-3 kg), e geralmente têm dieta baseada em frutas e folhas. Os NWMs da família Cebidae são primatas de corpo pequeno (0,12- 2,5 kg) com dieta mais variáveis entre as espécies, incluindo invertebrados e presas vertebradas (Hawes e Peres, 2014).

Os NWMs, também conhecidos como primatas neotropicais, são exemplo de uma das mais extraordinárias radiações de mamíferos com hábitos diurnos nos Neotrópicos. As mais de 140 espécies podem ser encontradas em toda a Amazônia, Andes, Mata Atlântica e até mesmo em habitats como a Caatinga e o Cerrado brasileiros que são muito quentes e secos para suportar muitas espécies de mamíferos. A maior diversidade de primatas neotropicais é encontrada no habitat de floresta tropical na Amazônia (Lima et al., 2017).

I.2 Taxonomia e distribuição dos macacos-prego

Os chamados macacos-prego, nome popular possivelmente oriundo do fato de que o pênis desses animais, quando ereto, parece um prego com a cabeça para cima, compreendem duas formas morfológicas principais, o macaco-prego grácil, *Cebus*, e o macaco-prego robusto, *Sapajus*. Elliot (1913) foi pioneiro em separar em dois grupos: aqueles com "cabeças sem tufos no macho" (Grupo A) e aqueles com "cabeças com tufos ou cumes no macho" (Grupo B). Contudo, o que, de fato, divide melhor esses dois grupos são partes de sua anatomia corporal: o grupo A de Elliot é mais magro e grácil em comparação ao grupo B, que é mais robusto na morfologia cranial e pós-craniana (Silva, 2001). Mais recentemente, estudos genéticos validaram a separação de macacos-prego robustos e gráceis como dois clados (gêneros *Sapajus* e *Cebus*, respectivamente) distintos e diversos, utilizando DNA mitocondrial (mtDNA; Lynch Alfaro et al., 2012; Martins et al., 2014).

Durante as quatro décadas entre 1960 e 2000, a maioria dos pesquisadores considerava todos os macacos-prego como pertencentes a uma única espécie, *Cebus apella*, independentemente do local de origem e geralmente sem considerar as designações de subespécies, levando a uma ofuscação da real diversidade dos macacos-prego (Cole, 1992; Daegling, 1992; Ford e Hobbs, 1996; Masterson, 1997; Wright, 2007). Atualmente, quatro espécies de *Cebus* (*C. albifrons*, *C. capucinus*, *C. olivaceus* e *C. kaapori*) e oito de *Sapajus* (*S. apella*, *S. macrocephalus*, *S. libidinosus*, *S. cay*, *S. nigritus*, *S. robustus*, *S. xanthosternos* e *S. flavius*) são reconhecidas (Lynch Alfaro et al., 2012).

Macacos-prego são amplamente distribuídos nas Américas Central e do Sul. Espécies de ambos gêneros são encontradas com relativa abundância na bacia Amazônica. Espécies robustas (*Sapajus*) também irradiaram para a Caatinga e o Cerrado do Brasil, pela Mata Atlântica e para o sul do continente, como Paraguai e norte da Argentina, enquanto as espécies gráceis (*Cebus*) chegaram aos Andes no oeste do Equador, norte da Colômbia e noroeste da Venezuela, até a América Central. A área de simpatria entre as formas robusta e grácil é surpreendentemente extensa, englobando grande parte da bacia Amazônica (Silva Jr, 2001; Lynch Alfaro et al., 2012).

Duas hipóteses concorrentes foram postuladas para explicar as distribuições atuais de macacos-prego. A hipótese “Saída da Amazônia” (*Out of Amazonia* - OOA) coloca o ancestral de todos os macacos-prego na Amazônia, com uma diversificação inicial de macacos-prego robustos e gráceis nessa região, com subseqüentes invasões independentes e recentes de regiões não-amazônicas por espécies de ambos os gêneros (Lynch Alfaro et al., 2012). A hipótese da "Reinvasão da Amazônia" (*Reinvasion of Amazonia* - ROA) propõe que os macacos-prego gráceis (*Cebus*) teriam divergido dos macacos-prego robustos (*Sapajus*) no início da história evolutiva destes; o gênero *Cebus* teria se originado na Amazônia e o gênero *Sapajus* na Mata Atlântica; e a presença de *Sapajus* na Amazônia refletiria hoje uma invasão recente do território ocupado originalmente somente por *Cebus* (Lynch Alfaro et al., 2012).

Lynch Alfaro et al. (2012) concluíram que os macacos-prego se originaram na Bacia Amazônica ocidental há aproximadamente 6,7 Ma (final do Mioceno). Neste cenário, *Cebus* teria surgido na bacia do norte da Amazônia há 2,1 Ma e *Sapajus* no Cerrado ou na Mata Atlântica brasileira em torno de 2,7 Ma atrás, durante o Pleistoceno. Em contrapartida, Lima et al. (2017) verificaram que os macacos-prego tinham uma ampla distribuição na sua origem, em toda a América do Sul, desde a Amazônia até a Mata Atlântica. Esses autores sugerem que a formação do Cerrado (4-8 Ma) foi, na verdade, uma barreira geográfica responsável pela origem de *Cebus* e *Sapajus*, com o primeiro gênero tendo ficado restrito à Amazônia e o segundo, à Mata Atlântica.

Análises filogeográficas, baseadas em mtDNA, sugerem que a idade da radiação dos macacos-prego robustos é de cerca de 2,5 Ma, com diversidade acumulada primeiro na Mata Atlântica e uma recente expansão para toda a Bacia Amazônica, Cerrado e Caatinga nos últimos 500 mil anos (Lynch Alfaro et al., 2012; Lima et al., 2017). Em outras palavras, *Sapajus* teria estado restrito à Mata Atlântica durante a maior parte de sua história evolutiva e só recentemente expandiu sua distribuição, corroborando a hipótese de Reinvasão da Amazônia. Entretanto, Martins-Junior et al. (2018) relata que os macacos-prego robustos sempre tiveram uma ampla distribuição nestes biomas, e que a origem das linhagens distintas ocorreu por eventos simpátricos múltiplos e independentes. Tais achados evidenciam que a filogeografia dos macacos-prego ainda está em debate.

Não obstante as dúvidas reportadas acima, é bem conhecido que macacos-prego dos gêneros *Cebus* e *Sapajus* são primatas caracterizados por elevadas proporções de tamanho do cérebro relativo ao corpo, com grande capacidade de manipulação e destreza manual que lhes têm permitido resolver problemas em uma ampla gama de tarefas manipulativas desafiadoras (Fragaszy et al., 2004). Como veremos nos itens que seguem, eles também se caracterizam pelo uso de ferramentas e por apresentarem culturas sociais complexas, principalmente no que tange ao forrageamento e comportamento afiliativo (Ottoni e Izar, 2008; Perry, 2011).

I.3 O uso de ferramentas por animais

O uso de ferramentas para obter acesso a alimentos permite a expansão da dieta de um indivíduo, proporcionando flexibilidade quando os recursos alimentares flutuam, bem como a aquisição de energia por fontes que não podem ser exploradas de outra forma. Ambos os resultados aumentam a aptidão individual, o que remete a um potencial comportamento adaptativo. Entre os vertebrados, o uso de ferramentas ocorre em um número relativamente pequeno de espécies e apenas alguns usam ferramentas habitualmente na natureza (McGrew 1992; Seed e Byrne, 2010).

Há registros de uso de ferramentas na natureza por aves (por exemplo, tentilhões, *Cactospiza pallida*; corvos da Nova Caledônia, *Corvus moneduloides*) e mamíferos (por exemplo: golfinhos nariz de garrafa, *Tursiops* spp; lontras marinhas, *Enhydra lutris*), e especialmente primatas não-humanos (Hall e Schaller, 1964; Hunt, 1996; Tebbich et al., 2002; Mann et al., 2008). Entre os primatas não-humanos, algumas populações de chimpanzés, *Pan troglodytes verus*; orangotangos, *Pongo pygmaeus*; macacos de cauda longa *Macaca fascicularis aurea*; e macacos-prego especialmente do gênero *Sapajus*, usam ferramentas regularmente (Whiten et al., 1999; van Schaik e Knott; 2001; Ottoni e Izar, 2008; Mannu e Ottoni, 2009; Gumert et al. 2009, 2011). Em primatas não-humanos, o uso de ferramentas é mais plástico do que em outros vertebrados, presente em algumas populações e ausente em outras e com variação geográfica de formas entre as populações (Spagnoletti et al., 2012).

Os estudos reportados acima, dentre muitos outros, ilustram que a ideia de que os humanos (*Homo sapiens* e outras linhagens Homininea) são os únicos no reino animal que fabricam e usam ferramentas, é falsa. A primeira evidência foi relatada pela primatóloga

britânica Jane Goodall através da famosa descrição do uso de ferramentas por chimpanzés. Ela observou que indivíduos de populações na região de Gombe na Tanzânia, capturavam cupins, usando varetas manipuladas para este fim como sondas (Goodall, 1986). Foi a partir das observações de Goodall que o termo cultura passou a fazer parte das narrativas envolvendo estudos a campo com primatas não-humanos (Vogel, 1999). Desde então, as culturas utilizadas por diferentes bandos/populações de chimpanzés têm recebido muita atenção e se mostrado ampla: eles usam ferramentas de pedra para abrir frutas encapsuladas, varas para escavar o solo atrás de tubérculos e colmeias subterrâneas e varetas afiadas para cutucar pequenas presas escondidas em fendas e tocas (McGrew, 2010). Talvez os primatas não surpreendam por serem os mamíferos que mais usem ferramentas, visto o tamanho de seus cérebros relativo ao tamanho corporal e suas aptidões cognitivas.

A inteligência tem sido descrita de muitas formas, mas normalmente envolve um conjunto grande de aptidões cognitivas, com destaque para a capacidade de raciocinar, planejar, resolver problemas, pensar abstratamente, compreender ideias complexas, aprender rapidamente através da experiência e aprendizado, bem como transmitir a informação aprendida (Deary, 2001). Tem sido sugerido que a aprendizagem social e a cultura são uma causa, bem como uma consequência da inteligência aprimorada vista tanto em humanos quanto em outros primatas (Reader e Laland, 2002; Whiten e van Schaik, 2007; van Schaik e Burkart, 2011).

Em primatas, numerosas hipóteses abordam a evolução da inteligência, porém não pretendemos aqui fazer uma revisão extensiva sobre o tema. Vale destacar, contudo, que uma das mais conhecidas envolve o aumento do volume cerebral relativo ao tamanho corporal, correlacionado positivamente com capacidade cognitiva (Dunbar, 1995; Barton, 2006). Ainda, Schaik and Pradhan (2003) defendem que um aumento na sociabilidade durante o forrageamento (caça ou saque comunal) aumentaria a probabilidade de difusão social do uso de ferramentas independentemente de quaisquer mudanças imediatas nas capacidades cognitivas. A aquisição subsequente de habilidades mais complexas, entretanto, aumentaria as pressões de seleção favorecendo a evolução de habilidades cognitivas mais complexas. E é

justamente em espécies onde encontramos habilidades cognitivas e comportamentos sociais complexos que emergem culturas adaptativas.

Vale destacar ainda que estudos com humanos e outros primatas mostram que muitos dos processos fundamentais inerentes ao comportamento social complexo e habilidades cognitivas são altamente herdáveis (Vallender, 2011; Gilissen et al., 2014; Vissers et al., 2015; Johnson et al., 2016). Sendo assim, pode-se buscar quais genes seriam responsáveis, pelo menos em parte, por esses fenótipos, e quais variações genéticas encontradas entre e dentro das espécies dariam origem ao grande repertório comportamental adaptativo observado na natureza (Bendesky e Bargmann, 2011). Além disso, também é esperado que a diversidade desses traços seja moldada por forças evolutivas, tais como a seleção natural que, através de demandas ambientais e ecológicas exerce sua força, selecionando indivíduos com determinados comportamentos adaptativos.

Laland (2018) considera a cultura humana não apenas um magnífico produto final de um processo evolutivo, mas também a principal força motriz por trás desse processo. Se essa definição é adequada para humanos, pode-se extrapolar então para todos primatas com capacidade de desenvolver cultura.

I.4 Cultura em animais

Não obstante não ser objetivo de nosso trabalho discorrer sobre as numerosas definições de cultura, bem como seu significado e implicações, abaixo comentamos brevemente sobre alguns aspectos relevantes dessa temática para contextualizar objetivos e resultados da presente Dissertação.

Pesquisadores de comportamento animal geralmente aderem à definição clássica de Beck de uso de ferramentas como “o emprego externo de um objeto independente para alterar de maneira mais eficiente a forma, posição ou condição de outro objeto, outro organismo ou o próprio usuário, quando o usuário detém e diretamente manipula a ferramenta durante ou antes do uso e é responsável pela orientação adequada e eficaz da ferramenta” (Beck, 1980). Não obstante, alguns autores seguem diferenciando o contexto cultural humano de outros, visto que a cultura humana teria um caráter ideológico. Sendo assim, ela pode se desenvolver ou evoluir

e se acumular ao longo do tempo; o que as gerações anteriores aprenderam foi transmitido para as gerações posteriores, que vão aprendendo mais; assim todo esse conhecimento acumulado é transmitido de geração para geração. A evolução cultural ocorreria em parte como resultado da fidelidade imperfeita da transmissão (por exemplo, erro de aprendizagem) e em parte como resultado da mudança adaptativa (necessária).

Todavia, em praticamente todas as diferentes definições de cultura, podem-se identificar três elementos básicos: inovação, transmissão e retenção do conhecimento (trinômio inovação-transmissão-retenção), tanto no sentido horizontal (entre membros pouco ou não aparentados), quanto no vertical (genitores-prole). É sabido também que revoluções tecnológicas surgem a partir do perfil inovador de alguns poucos (ou mesmo um) indivíduos dentro de um grupo social. Para que essa inovação tenha significância evolutiva, entretanto, ela deve ser adaptativa e herdada pelas gerações futuras através das interações sociais e de aprendizado.

Para alguns autores, no entanto, o termo “cultura” deveria ser reservado somente para espécies nas quais habilidades cognitivas sofisticadas são observadas, como é o caso dos humanos e os grandes primatas (*apes*, em inglês) usuários de ferramentas (Schaik et al., 2003; Whiten et al., 2005; Pennisi, 2006; Whiten et al., 2007; Cohen, 2007). Existem, inclusive, métodos para avaliar se pode ser chamado de manifestação cultural um determinado comportamento naturalmente encontrado em espécies selvagens (Koops et al., 2014). Para alguns pesquisadores, o termo mais apropriado para identificar práticas comportamentais duradouras, passadas verticalmente e horizontalmente em animais não-humanos por aprendizagem, seria “tradição” (Fragaszy e Perry, 2003; McGrew, 2003; Perry, 2011). Porém, na presente Dissertação, optamos por utilizar o termo cultura para nos referirmos ao uso de ferramentas e práticas associadas por primatas não-humanos.

Os tipos de cultura comportamentais que são de maior interesse para os teóricos evolutivos são aqueles que começam com uma inovação que depois se espalha através da aprendizagem social, originando uma cultura com potencial adaptativo. A inovação é também de interesse para os biólogos evolucionistas que estudam o papel que a aprendizagem desempenha na evolução, porque é um tipo de plasticidade fenotípica que pode afetar a

direção da seleção natural (West-Eberhard, 2003). A capacidade de inovar pode também aumentar o sucesso reprodutivo, permitindo que os indivíduos explorem novos recursos e “conquistem” novos parceiros (Giraldeau et al., 1994; Sol, 2003; Reader et al., 2016).

Macacos-prego (*Cebus* e *Sapajus*) apresentam taxas de inovação extraordinariamente altas por inúmeras razões. Estudos comparativos mostraram que o tamanho do cérebro covaria com a frequência de inovação em primatas e aves (Overington et al., 2009; Navarrete et al., 2016). Os macacos-prego apresentam cérebros grandes relativo ao tamanho do corpo (Stephan et al., 1970). Como visto em itens anteriores, esses primatas irradiaram-se sobre uma grande área geográfica ecologicamente diversa, o que sugere que são capazes de adaptar seu comportamento a novas situações e demandas ecológicas (Fragaszy et al., 2004; Lynch Alfaro et al., 2012). Macacos-prego também são notáveis pela alta frequência de formação de coalizões e pela criação de convenções sociais peculiares que parecem servir como meios de testar os laços sociais que provavelmente são importantes para melhorar a aptidão (Perry et al., 2003). A presença de cultura nos domínios social e na obtenção de alimentos implica que os macacos-prego também sejam sujeitos inovadores (Perry, 2011).

1.5 O uso de ferramentas por macacos-prego

A maioria dos relatos de uso de ferramentas por populações silvestres de macacos-prego envolve grupos de *Sapajus libidinosus* que vivem nos biomas Cerrado e Caatinga, ecossistemas compostos de vegetação menos densa, clima semiárido, onde períodos de secas e estiagens são frequentes, além de outras características semelhantes a savanas (Ottoni e Izar, 2008; Mannu e Ottoni, 2009; Falótico e Ottoni, 2013; Fragaszy et al., 2017; Falótico et al., 2018). Evidências indiretas do uso de pedras como ferramentas por *S. libidinosus* selvagem foram relatadas pela primeira vez na literatura primatológica em 1997, através do estudo de uma população que vive perto de Desterro do Malta (Estado de Paraíba, Brasil) (Langguth e Alonso, 1997). As observações diretas de tal comportamento, no entanto, só foram descritas alguns anos mais tarde, através do estudo de campo de Fragaszy e colaboradores (2004). As investigações com esses animais, que habitam a Fazenda Boa Vista (município de Gilbués, Estado do Piauí) levou à quebra do paradigma de que somente os grandes macacos eram capazes de utilizar ferramentas (produzir cultura) de maneira espontânea na natureza.

Mannu e Ottoni (2009) posteriormente relataram que o uso espontâneo de ferramentas por *S. libidinosus* envolve o craqueamento de frutos encapsulados com o auxílio de "martelos" e "bigornas". Esse comportamento é exibido por todos os indivíduos acima de dois anos de idade, com exceção de algumas fêmeas. No entanto, os machos geralmente são os mais ativos quebradores de frutos encapsulados. Uma característica notável associada a este comportamento inovador é a tolerância dos adultos para com os infantes que se aproximam e os observam. Os adultos permitem a aproximação dos infantes que aproveitam qualquer oportunidade para observar a manipulação das ferramentas e seu uso para abrir os frutos encapsulados (Visalberghi et al., 2007; Ottoni e Izar, 2008; Mannu e Ottoni, 2009). Coussi-Korbel e Fragaszy (1995) anteriormente já haviam argumentado que a tolerância de proximidade por parte de indivíduos experientes constitui uma das principais características que promovem condições para o aprendizado, no caso, a transmissão social do comportamento de quebra de frutos encapsulados. Em chimpanzés, infantes também observam adultos manipulando ferramentas, mas de maneira bem menos marcante do que observado em *S. libidinosus*, onde os jovens mostram bastante confiança ao se aproximar, inclusive de machos adultos (Ottoni e Izar, 2008). Vale destacar ainda que os machos de *S. libidinosus* mais velhos, mais hábeis e tolerantes são os mais observados (Coelho et al., 2015).

Além disso, se a fruta encapsulada for um importante recurso nutricional, arriscar-se por indivíduos imaturos que não podem extrair frutos por si mesmos torna-se uma necessidade adaptativa. Desse modo, a aproximação dos jovens faz deles *scroungers*, ou seja, catadores do alimento fresco acessado através da quebra da casca dura pelo uso do martelo e da bigorna pelo adulto (na Caatinga brasileira, espécies do gênero *Anacardium*, que inclui o cajueiro e espécies afins, são abundantes; bem como sementes de plantas do gênero *Manihot*). Vale destacar que quaisquer mudanças na dinâmica social em direção a sociedades mais tolerantes podem, portanto, ter tido um alto valor adaptativo, mesmo antes do advento de formas de forragem extrativista auxiliadas por ferramentas (Moura e Lee, 2004; Ottoni e Izar, 2008).

Outras espécies do gênero *Sapajus* (*S. xanthosternos* e *S. flavius*) também usam, em ambientes naturais, ferramentas de pedra para abrir frutos com casca dura (Canale et al., 2009; Ferreira et al., 2009). Não obstante, como veremos no próximo item, os registros até o

momento apontam que somente populações de *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara fazem uso regular de ferramentas de pedra para outros fins além do uso para abrir frutos encapsulados (Falótico e Ottoni, 2014).

I.6 *Sapajus libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara

O Parque Nacional Serra da Capivara (SCNP, do inglês *Serra da Capivara National Park*; 7°30'S e 41°30'W) está localizado no estado do Piauí, no nordeste do Brasil, área dentro do bioma Caatinga. A precipitação anual na vegetação seca da Caatinga é em média 800 mm, com variância que pode ser extrema, seja entre áreas da região, seja entre diferentes anos (Reis, 1976; Salgado et al., 2015). De modo mais geral, pode-se dizer que há uma estação bem mais seca entre maio e outubro, na qual chuvas são bastante escassas o que afeta a produtividade primária. Assim, a produção de frutos é altamente sazonal (Moura, 2004).

No SCNP os macacos-prego da espécie *S. libidinosus*, de pelo menos duas populações, são conhecidos por usar pedras não apenas para acessar frutos ou sementes utilizando martelos e bigornas, mas também como “enxadas” para escavar raízes e tubérculos (*Thiloa glaucocarpa*, por exemplo), ninhos de aranhas e para cortar madeira em busca de insetos e larvas (Moura e Lee, 2004; Mannu e Ottoni, 2009). A maioria das ferramentas é usada para obter comida, mas há exceções, como batidas de pedras em exhibições ameaçadoras e jogar pedras como parte da exibição sexual das fêmeas, esse último um comportamento inovador descrito mais recentemente (Moura, 2007; Falótico e Ottoni, 2013).

Os macacos-prego frequentemente caçam pequenos vertebrados, bem como uma variedade de invertebrados (Izawa, 1979; Butynski, 1982). Vários invertebrados se aninham em pequenos espaços em troncos de árvores, e pequenos vertebrados (por exemplo, lagartos), quando perseguidos, podem se esconder em fendas de rochas ou buracos de árvores, escapando do alcance direto dos macacos. Uma única população do SCNP faz uso costumeiro de varetas/varas como “sonda” para lidar com esse problema (Ottoni e Izar, 2008; Mannu e Ottoni, 2009). Além desse uso (acessar animais escondidos em tocas e fendas), outro comportamento peculiar dos *S. libidinosus* do SCNP é a utilização das sondas para cutucar serpentes peçonhentas, como forma de proteção (Falótico et al., 2018). Falótico e colegas

também atestam que o uso de sondas tem baixa eficiência e é observado em machos sendo que as fêmeas normalmente apresentam pouco interesse nessa prática.

O uso de sondas pelos macacos-prego machos, assim como ocorre com chimpanzés, também envolve alguma preparação ou modificação (Westergaard e Fragaszy, 1987). Ferramentas de varetas ou varas não são apenas cortadas de árvores e redimensionadas quando necessário, mas algumas também são aparadas para remover folhas e ramos laterais. Em alguns casos, o afinamento da extremidade distal foi registrado (com as mãos ou boca). Este "kit de ferramentas" aprimorado favorece o surgimento de padrões comportamentais mais complexos, como o uso combinado (sequencial) de pedras e sondas na exploração de troncos mortos em busca de insetos (Mannu e Ottoni, 2009).

Em um estudo pioneiro em arqueologia de primatas envolvendo NWMs, realizado no vale do Baixão da Pedra Furada (BPF), área dentro do SCNP, Falótico et al. (2019) mostraram que *S. libidinosus* selvagens usam ferramentas de pedra há pelo menos 3.000 anos, com uma variação acentuada no uso de ferramentas durante esse período. Essa descoberta representa o primeiro exemplo de variação no uso de ferramentas a longo prazo em Platyrrhini, fornecendo dados comparativos sobre os mecanismos de mudança comportamental estendida.

Diante desse conjunto de evidências, que remetem inclusive a um consistente e continuado uso de ferramentas ao longo de muitas gerações, passadas verticalmente e horizontalmente por aprendizagem social, pode-se dizer que existe uma cultura autóctone com potencial valor adaptativo entre os *S. libidinosus* no Parque Nacional Serra da Capivara.

I.7 *Sapajus* spp do Parque Ecológico do Tietê

Macacos-prego que vivem em cativeiro e em ambientes semilivres também são conhecidos por exibir o comportamento do uso de ferramentas (Ottoni e Mannu, 2001; Ferreira et al., 2006; Camargo e Mendes, 2016). Um dos grupos de macacos-prego semilivres mais estudados é o do Parque Ecológico do Tietê (Ottoni e Mannu, 2001; Ferreira et al., 2006; Izar et al., 2006; Verderane e Izar, 2019).

O Parque Ecológico do Tietê (TEP, do inglês, *Tietê Ecological Park*; 23°29'46"S e 46°31'10"O), em São Paulo, é uma das principais áreas da região sudeste para a liberação de

animais capturados ilegalmente e confiscados. É o lar atual de quatro grupos de macacos-prego com tufo na cabeça (*Sapajus*, morfologicamente identificados como *Sapajus libidinosus*, porém com registro da possível existência de híbridos, como veremos em itens abaixo), três dos quais vivem em ilhas. O quarto grupo - sujeitos do presente estudo - vive em condições de semiliberdade em uma área reflorestada de 180.000 m² (Ottoni e Mannu, 2001).

O TEP contém alguns prédios pequenos e três lagoas, e sua vegetação inclui muitas espécies de árvores, arbustos e flores e quatro espécies de palmeiras, incluindo *Syagrus romanzoffiana*, cujas nozes são comidas pelos macacos-prego. No TEP há condições favoráveis para os macacos-prego, pois não há predadores naturais, como o gavião-real, jaguatirica, jiboia ou jacaré. Além disso, o grupo é abastecido diariamente com abundantes frutas e legumes (Ottoni e Mannu, 2001).

Os indivíduos fundadores (dois machos e três fêmeas) foram libertados nas ilhas do parque após confisco pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e formaram o grupo espontaneamente, depois de escapar das ilhas nadando. Todos os outros indivíduos nasceram lá. Apesar de o grupo ser abastecido diariamente, os macacos-prego não se limitam à comida fornecida. Em vez disso, eles vasculham toda a área, consumindo itens naturalmente disponíveis, inclusive utilizando ferramentas de pedras para abrir frutos de casca dura (Ottoni e Mannu, 2001; Ferreira et al., 2006; Izar et al., 2006).

Desse modo, embora menos estudados, os *S. libidinosus* do Parque Ecológico do Tietê também fazem uso de ferramentas, mas de acordo com especialistas (Falótico e Ottoni, 2014), não há ocorrência do uso regular, como acontece com as populações de *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara, de modo que é mais difícil nesse caso identificar uma cultura adaptativa autóctone bem estabelecida.

Para finalizar é oportuno comentar o estudo de Reader et al. (2011) que investigou 62 espécies de primatas quanto a várias características e atributos cognitivos (inovação comportamental, aprendizagem social, uso de ferramentas, forrageamento extrativista, cérebro grande, dentre outros) que lhes permitiu inferir a existência de um índice geral de inteligência

chamado por eles de *gs*. De forma surpreendente, e bastante relevante para o presente estudo, a inteligência geral alta teria evoluído independentemente pelo menos quatro vezes dentro da ordem Primates, indicando evolução convergente em: 1) grandes macacos (humanos e símios), macacos do Velho Mundo dos gêneros 2) *Papio* e 3) *Macaca*, e no clado 4) *Cebus/Sapajus*, único ramo dentro da Parvordem Platyrrhini, com valor positivo alto para o índice *gs*.

I.8 O uso de marcadores genéticos para estudos demográficos e evolutivos

A classificação das espécies depende de nossa compreensão da morfologia, comportamento, ecologia e genética dos organismos. Taxonomia e sistemática são disciplinas dinâmicas, mudando frequentemente devido a novas evidências e consensos, que podem mudar constantemente (Tobe et al., 2010). Mais recentemente, as classificações com dados genéticos levaram a um maior entendimento sobre as relações filogenéticas entre espécies, visto que características morfológicas podem ser fator de notável confusão (Asher, 2007; Tabuce et al., 2008; Fong et al., 2012; Miyashita et al., 2019).

O mtDNA apresenta atributos, como sistema genético, que o faz ser usado há pelo menos duas décadas com muita frequência em estudos populacionais, taxonômicos, filogenéticos e filogeográficos (Simon et al., 2006; Galtier et al., 2009). O mtDNA apresenta, por exemplo, regiões que exibem pouca variabilidade intraespecífica, mas variação interespecífica suficiente que permitem a estimativa de graus de parentesco e tempos de divergência por meio de relógios moleculares calibrados (Tobe et al., 2010). Assim, há possibilidade de se ordenar filogeneticamente vários haplótipos, analisando a estrutura populacional e determinando padrões de variação geográfico-específica (Lima et al., 2017; Martins-Junior et al., 2018; Zheng e Yang, 2017; Mondin et al., 2018; Cao e Wu, 2019).

As regiões do mtDNA mais comumente utilizadas nesse tipo de estudo são os genes do citocromo b (*CYTB*), do citocromo oxidase I (*COI*), e as regiões não codificadoras I e II (*D-loop I-II*) (Lima et al., 2017; Zheng e Yang, 2017; Martins-Junior et al., 2018; Mondin et al., 2018). Dentre estes, o *CYTB* tem sido considerado o principal locus genético na classificação e caracterização de espécies (Cao e Wu, 2019; Kumar et al., 2019), pelo menos até aqui, visto que os dados genômicos ainda são relativamente escassos.

O citocromo b (*CYTB*) foi sugerido há quase vinte anos como ferramenta genética ideal para determinar os limites de espécies em mamíferos, considerando o conceito de espécie genética (Bradley e Baker, 2001). Um estudo comparando os dados de *CYTB* e *COI* utilizados para reconstrução filogenética e identificação de espécies de mamíferos foi publicado e mostrou que o gene *CYTB* resgata com maior precisão a filogenia dos mamíferos e fornece melhor resolução para a separação de espécies (Tobe et al., 2010).

De particular interesse para a presente Dissertação, é o fato de que vários estudos apontam que o *CYTB* foi útil para determinar as relações filogenéticas de várias espécies de *Sapajus* e *Cebus* (Lynch Alfaro et al., 2012; Lima et al., 2017; Martins-Junior et al., 2018). *CYTB* também foi empregado eficientemente para determinar a diversidade genética de algumas populações de *Cebus* e *Sapajus* (Casado et al., 2010; Oliveira et al., 2011). Nesse contexto, enfatiza-se a relevância do gene mitocondrial *CYTB* em estudos macro e microevolutivos.

I.9 O sistema oxitocinérgico (Oxitocina-Vasopressina)

A oxitocina (OXT) é um neuropeptídeo chave no sistema oxitocinérgico, pois através da interação com seu receptor (OXTR) desencadeia uma cascata de eventos genéticos, bioquímicos e fisiológicos capazes de modular uma variedade de comportamentos sociais e reprodutivos complexos tais como cuidado parental, associações afiliativas e escolha de parceiros reprodutivos (Ludwig e Leng, 2006; Donaldson e Young, 2008; Campbell, 2010; Burkett e Young, 2012; Lucion e Bortolini, 2014; Rilling e Young, 2014; Vargas-Pinilla et al., 2015, 2016; Mustoe et al., 2018). OXT também é um elemento importante no complexo fenômeno associado às propriedades recompensadoras das interações sociais, que vão além da formação de pares de adultos reprodutivos ou da ligação entre filhotes e seus pais (Lieberwirth e Wang, 2014; Numan e Young, 2016). OXT modula também “amizades” entre parceiros não reprodutivos e membros de grupos sociais e traços sociocognitivos mais multifacetados como confiança, inteligência emocional, memória social, preferências sociais de grupo e altruísmo; cuidado parental, controle de ansiedade e agressividade (Vargas-Pinilla et al., 2015, 2016; Aspé-Sánchez et al., 2016; French et al., 2016, 2017; Feldman, 2017). Outros estudos mostram que OXT influencia aspectos cognitivos fundamentais como a memória e aprendizagem

(Feifel et al., 2012; Cardoso et al., 2014). Algumas das regiões cerebrais responsáveis pelo processamento da informação e consolidação da memória, como o hipocampo, hipotálamo, mesencéfalo e núcleo *accumbens*, apresentam elevada expressão de OXTR (Gimpl e Fahrenholz, 2001). Gard et al. (2012), por sua vez, mostraram que OXT é capaz de melhorar a consolidação da memória e o aprendizado após tarefas que avaliam tais domínios cognitivos em modelos animais.

OXT tem nove aminoácidos e é sintetizado por neurônios do hipotálamo e liberado pela hipófise posterior. Desse modo, atua também longe do órgão onde é produzido. Modula duas características fisiológicas que são onipresentes para as fêmeas de mamíferos placentários. Em primeiro lugar, OXT atua periféricamente promovendo as contrações do músculo liso uterino, associadas ao parto e ao nascimento (Arrowsmith e Wray, 2014). Em segundo lugar, a oxitocina atua nas células mioepiteliais da glândula mamária, estimulando a ejeção do leite durante a lactação (Crowley, 2015). Claramente, o nascimento bem-sucedido da prole e o crescimento pós-natal são criticamente dependentes dessas duas facetas da fisiologia reprodutiva de fêmeas mediadas por OXT.

O hipotálamo também contém neurônios que sintetizam um nonapeptídeo adicional, a arginina vasopressina (AVP), um parálogo de OXT. AVP tem similaridade estrutural com OXT dos mamíferos placentários, diferindo nas posições 3 e 8 nos peptídeos maduros. AVP exerce efeitos significativos sobre a função periférica (particularmente osmorregulação e tônus vascular), mas, como OXT, AVP também modula múltiplos comportamentos sociais complexos quando liberada no Sistema Nervoso Central (SNC) (Caldwell e Young 2006; Caldwell et al. 2008; Albers 2012; Goodson 2013; Kelly e Goodson 2014).

Uma condição necessária para ambos os efeitos centrais e periféricos de OXT e AVP é o estreito acoplamento destes com seus receptores cognatos. É a ligação peptídeo-receptor que desencadeia uma série de mudanças nas propriedades celulares que fundamentam a modulação de estados fisiológicos e comportamentais. Mesmo mudanças sutis na estrutura do ligante podem alterar as propriedades de ligação com os receptores e podem diferencialmente ativar as cascatas de sinalização (Koehbach et al., 2013). O receptor de OXT (OXTR) e o receptor de AVP do tipo 1a (AVPR1a) são os receptores que apresentam maior distribuição em tecidos

periféricos além do sistema nervoso central, como musculatura, pulmões e coração (Yamashita e Kitano, 2013; Vaidyanathan e Hammock, 2017). Já os receptores de AVP do tipo 1b (AVPR1b) e do tipo 2 (AVPR2) apresentam a sua distribuição mais restrita: AVPR1b é expresso majoritariamente no sistema nervoso central e AVPR2 é expresso somente nos rins (Yamashita e Kitano, 2013; Song e Albers, 2017).

O acoplamento eficaz de OXT e AVP com os elementos extracelulares e/ou transmembrana dos receptores ativam processos intracelulares mediados por proteínas G (GPCRs) e, a partir de uma perspectiva comportamental, alteram a função de neurônios que expressam esses receptores (Stoop 2014; Grinevich et al. 2016; Busnelli e Chini, 2017). Uma característica adicional que torna o sistema oxitocinérgico (aqui definido como sistema OXT-AVP) intrigante é a capacidade de ambos os nonapeptídeos se ligarem com diferentes níveis de afinidades aos receptores não cognatos (exemplo, OXT com AVPR1a) (Gruber et al., 2012; Manning et al., 2012). Estes receptores, semelhantes a outros acoplados a proteínas G, possuem sete domínios transmembrana que são relevantes na interação com o ligante, além da função estrutural e de ancoragem à membrana (TM1-TM7), quatro alças extracelulares (N-terminal, ECL1-ECL3) que são relevantes para a interação com os peptídeos e quatro alças intracelulares (C-terminal, ICL1-ICL3) que são importantes para a interação com a proteína G (Ocampo Daza et al., 2012; Wacker et al., 2017).

Dada a importância das ações periféricas de OXT para reprodução em mamíferos placentários, não é surpreendente que uma suposição implícita na literatura tenha sido que a sequência de OXT seria altamente conservada entre as quase 4.000 espécies de eutérios (Acher et al., 1995; Caldwell et al., 2008; Donaldson e Young, 2008; Insel, 2010; Gruber, 2014). Diante das evidências da estrutura conservada de OXT em mamíferos placentários, é surpreendente que exista, de fato, uma variação considerável na sequência de aminoácidos de OXT em NWMs. Os primeiros dados sugerindo que havia uma OXT diferente foram publicados em 2011 (Lee et al. 2011), pois indicou que quatro espécies de NWMs dos gêneros *Callithrix*, *Aotus*, *Saimiri* e *Cebus* tinham uma substituição não-sinônima que resultava numa troca de aminoácido na 8ª posição de OXT. Nessas espécies uma leucina (Leu), consenso em mamíferos, teria dado lugar a uma prolina (Pro), produzindo uma variante (ou forma) única,

denominada pelo nosso grupo de Pro8OXT. Nosso grupo de pesquisa expandiu o estudo sobre essa variante em NWMs, demonstrando que Pro8OXT é característica da família Cebidae. Assim, a mesma passou a ser chamada de Cebidae Pro8OXT. Além disso, foram descritas três novas variantes para os NWMs: Ala8OXT e Thr8OXT, em Pitheciidae; e Val3Pro8OXT em *Saguinus* (Vargas-Pinilla et al., 2015). Essa última passou a ser chamada de *Saguinus* Val3Pro8. Ren et al. (2015) confirmaram os achados do nosso grupo de pesquisa e relataram uma variante adicional: Phe2OXT, presente em *Alouatta*, gênero da família Atelidae. Todos os gêneros de Cebidae, clado que se separou dos demais NWMs há cerca de 23 Ma, apresentam a variante Pro8OXT, sugerindo que a mutação ocorreu na linhagem ancestral que originou a família Cebidae. Esse achado, juntamente com o surgimento de variantes relativamente mais recentes (7,5-9 Ma), indica que mutações nas regiões codificadoras do peptídeo de OXT em NWMs continuaram a ocorrer após a separação das famílias Atelidae, Pitheciidae e Cebidae (Mustoe et al., 2018).

Estudos de nosso grupo de pesquisa também mostraram que pelo menos Pro8OXT e Val3Pro8OXT estariam relacionadas ao surgimento do cuidado paternal, comportamento raro em primatas, mas comum em espécies da família Cebidae que também são caracterizados por apresentarem monogamia social, pequeno tamanho corporal e partos gemelares (Vargas-Pinilla et al., 2015). No mesmo estudo, foi demonstrado que algumas alterações de aminoácidos em OXTR tinham sinal de estar sob seleção positiva e estariam coevoluindo com Pro8OXT (Vargas-Pinilla et al., 2015). Em outro estudo do nosso grupo de pesquisa, foi sugerido que o número de elementos de resposta à progesterona na região promotora do gene OXTR, em espécies de NWMs, também estariam correlacionadas com comportamentos observados em machos que cuidam de infantes e recém-nascidos (Vargas-Pinilla et al., 2016), corroborando a ideia de que um conjunto de modificações genéticas foram selecionadas de acordo com demandas ambientais e ecológicas específicas para dotar esses animais de comportamentos adaptativos raros na ordem Primates.

Posteriormente, nosso grupo de pesquisa conduziu experimentos *in vitro* e *in vivo* comparando as variantes Pro8OXT e Val3Pro8OXT com a OXT comum de mamíferos (Leu8OXT) (Parreiras-e-Silva et al., 2017). Foi possível inferir que essas variantes são

agonistas igualmente eficientes, quando comparadas com Leu8OXT, na mediação de rotas dependentes da proteína G. Contudo, apresentam uma capacidade reduzida para o recrutamento das β -arrestinas 1 e 2, diminuindo ou mesmo impedindo a internalização de OXTR, tendo assim um possível e relevante impacto na dessensibilização de todo o sistema (Parreiras-e-Silva et al., 2017). Val3Pro8OXT também apresenta uma capacidade reduzida de recrutamento de β -arrestinas após a interação com o receptor AVPR1a. A capacidade de ambas variantes de estimular o cuidado paterno em ratos também foi mostrada no mesmo estudo (Parreiras-e-Silva et al., 2017). Esses resultados apresentaram, pela primeira vez, um modelo natural para o conceito de agonismo com seletividade funcional (Costa-Neto et al., 2016) com prováveis implicações evolutivas (Parreiras-e-Silva et al., 2017).

Diferentemente do que foi encontrado para os Platyrrhini, considerando OXT, nenhuma variante foi encontrada em Platyrrhini com relação à sequência de aminoácidos de AVP. Por outro lado, noutro estudo de nosso grupo de pesquisa sobre a diversidade de AVPR1b, considerando 20 espécies de NWMs, merece destaque a deleção nas posições de aminoácidos 245 a 248 de AVPR1b, presente neste clado (Fam et al. 2019). Vale lembrar que AVPR1b modula comportamentos vitais, como agressividade, ansiedade, e controle de estresse (Fam et al., 2019 e referências lá contidas). Já para o receptor AVPR1a, de acordo com Ren et al. (2014) indicou que seis substituições de aminoácidos poderiam estar relacionadas à monogamia social nos NWMs.

Estudos populacionais, por sua vez, têm mostrado que variantes na região promotora do gene AVPR1a, foram associadas com os fenótipos chamados de “busca por novidades”, “resposta à recompensa”, “prevenção de danos” e “comportamentos de dominância” tanto em humanos quanto em chimpanzés (Donaldson e Young, 2013; Latzman et al., 2014). Além disso, em humanos, variantes em vários domínios funcionais de AVPR1a, bem como nos receptores AVPR1b e OXTR, têm também sido associadas a uma ampla gama de comportamentos vistos nas síndromes do Espectro Autista (Procyshyn et al., 2016; Ribeiro et al., 2018), o que só reforça a importância destes dois receptores nas funções conectivas relacionadas à interação social.

As espécies *S. robustus* e *S. xanthoternos* foram testadas para o gene OXT e apresentaram Pro8OXT, variante característica dos Cebidae (Vargas-Pinila et al., 2015). Nenhum indivíduo de *S. libidinosus* foi testado para os genes do sistema oxitocinérgico, pelo menos até a presente Dissertação. Curiosamente essa espécie não apresenta cuidado paternal como regra. Porém, as observações na natureza, como visto anteriormente nessa Introdução, mostram a grande tolerância e sociabilidade dos adultos, incluindo machos, com a aproximação dos jovens infantes, indispensável para que os mesmos possam, por observação, aprender as técnicas para produzir e utilizar ferramentas, bem como ter acesso aos recursos alimentares oriundos do uso de ferramentas pelos adultos (Resende e Ottoni, 2002; Ottoni e Izar, 2008). Desse modo, os genes do sistema oxitocinérgico são bons candidatos para serem investigados em indivíduos *Sapajus libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara e do Parque Ecológico do Tietê.

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo geral

Investigar a variabilidade do gene *CYTB*, bem como da região codificadora dos genes candidatos *OXT*, *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1b* em *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara e do Parque Ecológico do Tietê.

II.2. Objetivos específicos

- Identificar as relações filogenéticas de indivíduos *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara e do Parque Ecológico do Tietê utilizando *CYTB*.

- Identificar padrões demográficos que resgatem a história dessas duas populações, pelo menos a mediada pelas fêmeas, através de dados do *CYTB*.

- Caracterizar as sequências nucleotídicas da região codificadora dos genes *OXT*, *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1b* em *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara e do Parque Ecológico do Tietê.

- Comparar os achados, relativos aos genes *CYTB*, *OXT*, *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1b*, obtidos para a espécie *S. libidinosus* com outras da ordem Primates que possam ser relevantes para este estudo.

CAPÍTULO III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1 Extração de DNA e sequenciamento

Foram investigadas amostras de DNA extraídas de fezes de 30 indivíduos da espécie *Sapajus libidinosus* coletadas na região Nordeste do Brasil, provenientes do Parque Nacional Serra da Capivara (SCNP); bem como amostras de DNA de fezes de 10 indivíduos identificados morfológicamente como *S. libidinosus* do Parque Ecológico do Tietê (TEP). Relativo a estes últimos espécimes, há ressalva de que podem se tratar de híbridos entre *S. libidinosus* e *S. nigritus* ou *S. apella*, de acordo com informações pessoais repassadas pelo Dr. Tiago Falótico. Ainda, foram investigadas amostras de DNA extraídos de sangue e/ou tecido de 20 indivíduos representando 20 espécies de Platyrrhini e mais dados obtidos de bancos públicos (anexos 1 e 2). As amostras de *S. libidinosus* foram fornecidas pelo Dr. Tiago Falótico, do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (USP) e as demais amostras de NWMs foram fornecidas pelo Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ), através de colaboração com o veterinário chefe da referida instituição, Dr. Alcides Pissinatti

Este projeto está registrado no sistema oficial brasileiro, que permite a coleta de material biológico em unidades de conservação para fins de pesquisa (SISBIO número 63551462, SISGEN número AF00ED5). Também foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (data de aprovação: 25 de novembro de 2014). Mais recentemente, o Instituto Estadual do Meio Ambiente, vinculado à Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Rio de Janeiro, também autorizou os estudos genéticos com espécimes do CPRJ (procedimento administrativo E-07/002.12978/2017). Este estudo está em conformidade com os princípios definidos pela Associação Americana de Primatologistas (ASP) para o tratamento ético de primatas não humanos (<https://www.asp.org/society/resolutions/EthicalTreatmentOfNonHumanPrimates.cfm>).

As amostras de DNA de *S. libidinosus* foram extraídas utilizando *kit* de reagentes para extração de DNA de amostras de fezes (Qiagen Stool Kit® e Power Fecal Kit®) de acordo com protocolo do fabricante. Para as demais espécies de NWMs o DNA foi extraído usando o QiagenDNeasy Blood & Tissue Kit® também de acordo com as instruções do fabricante. O sucesso da extração foi observado pela visualização em transiluminador UV das amostras de

DNA em gel de agarose 1% com a adição de corante para DNA (GelRed™). As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop® - Uniscience). Um marcador molecular de baixa massa de 100 pb foi utilizado como controle durante a eletroforese.

Os *primers* utilizados para a amplificação da região codificadora dos genes *OXT*, *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1b* estão descritos na Tabela 1. Para a amplificação do gene *CYTB* foram utilizados os *primers* L14724 (5' CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG 3'), de acordo com Irwin et al. (1991); e Mus15398 (5' GAATATCAGCTTTGGGTGTTGRTG 3') de acordo com as condições descritas por Anderson e Yates (2000). A amplificação por PCR foi realizada nas seguintes condições: um passo de desnaturação inicial a 94 °C durante 5 minutos precedeu 35 ciclos de 30s a 94 °C, 30s na temperatura de anelamento de cada *primer* e um passo de extensão de 45s a 72 °C, seguido por uma extensão final por 10 minutos a 72 °C. Os produtos amplificados foram purificados utilizando exonuclease I e fosfatase alcalina (Amersham Biosciences). O sucesso da amplificação foi verificado por eletroforese em um gel de agarose a 2%, corado com GelRed™ em luz ultravioleta. Um marcador molecular de baixa massa de 100 pb foi utilizado como controle. As sequências foram obtidas através de provedor de serviços externos, o qual utiliza método de Sanger usando o Analisador de DNA ABI PRISM® 3730XL (Thermo Fisher Scientific, tipo capilar 96) e verificadas através do software SnapGene® Viewer. 4.3.11.

Tabela 1. *Primers* utilizados para amplificar a região codificante dos genes *OXT*, *OXTR*, *AVPR1a* e *AVPR1 b* em espécies de primatas Platyrrhini através de reação de PCR.

<i>Primer</i>	<i>Forward (5'-3')</i>	<i>Reverse (3'-5')</i>	Referência
<i>OXT</i> ¹	CAGCGCGGCCCTCTTG	CTGTCTGCTCGGCCTCCTG	Este trabalho
<i>OXTR</i> ¹	ACTAGAATCCCAGGGCGCC	AAGATGTGCATCTGCGGC	Este trabalho
<i>OXTR</i> ²	ACCTACCTGCTGCTGCTCAT	GCTCCTTCCTCCTGGGTCT	Este trabalho
<i>VPR1a</i> ¹	CTCCGAGGAAGGCGAGTAG	GATGTAGCGGTCTGCAGTCAT	Este trabalho
<i>VPR1a</i> ²	CACCTCTTCATCCGACACCT	AGCAGATGAAGCCGTAGCAG	Este trabalho
<i>VPR1a</i> ³	TCCATGATCGAGGTGAACAA	GGAGGAAAAGTGCAGGGATAG	Este trabalho
<i>VPR1a</i> ⁴	ATGAGTTCATCCAGGGCTCA	GCTAATGGGCCAAAAAGTCA	Este trabalho
<i>VPR1b</i> ¹	ATCCACACCCTCCCTCCATC	CATGTAGGTGGAGGCGAACA	Fam et al. (2019)
<i>VPR1b</i> ²	ACATCACCTTCCGCTTCCAG	ATGAAGACCTGAGGGAGGCT	Fam et al. (2019)
<i>VPR1b</i> ³	ACGGGTCTACCTYACCTGGA	CGGACCACATCTGGACACTG	Fam et al. (2019)
<i>VPR1b</i> ⁴	TCCATGCTTTTGGGCAACCT	CACTGAGGGTTAGGCTGAGG	Fam et al. (2019)

Além das sequências originais, as análises incluíram sequências codificadoras dos genes candidatos provenientes do GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) e Ensembl (<http://www.ensembl.org>) de espécies adicionais de primatas Platyrrhini, bem como de primatas do Velho Mundo, sendo esses últimos usados como grupos externos (anexos 1 e2). As sequências foram alinhadas usando o algoritmo MUSCLE, conforme implementado no software AliView v.1.26 (Larsson, 2014).

A região codificadora do nonapeptídeo OXT foi sequenciada para as seguintes espécies de NMWs: *Aotus nigriceps*, *Alouatta discolor*, *Alouatta guariba*, *Alouatta ululata*, *Ateles paniscus*, *Callithrix aurita*, *Cebuella pygmaea*, *Leontopithecus chrysopygus*, *Mico chrysoleucus*, *Mico mauesi*, *Callicebus caligatus*, *Callicebus caquetensis*, *Callicebus donacophilus*, *Callicebus dubius*, *Callicebus personatus*, *Pithecia mittermeieri*, *Callibella humilis*, *Brachyteles arachnoides*, *Chiropotes satanas*, *Saguinus midas*, além de *Sapajus*

libidinosus. Para a espécie *S. midas* foram sequenciados dois indivíduos e para a espécie *S. libidinosus* foram sequenciados quatro indivíduos; enquanto para as demais espécies apenas um indivíduo foi sequenciado.

III.2 Índices de diversidade e história demográfica

Os índices de diversidade e os testes de neutralidade descritos a seguir foram obtidos utilizando os dados do gene *CYTB* de *S. libidinosus*. O programa Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier e Lischer, 2010) foi utilizado para medir a variabilidade genética em nível intrapopulacional. Para tal, foram utilizados os índices de diversidade gênica, diversidade nucleotídica, número de transversões, transições e *indels*, bem como o número de haplótipos quando pertinente. Para investigar a história demográfica de *S. libidinosus* foram conduzidos os testes de neutralidade D de Tajima e F_s de Fu, também através do programa Arlequin v.3.5.2.2 (Tajima, 1989; Fu, 1997).

Para identificar as possíveis mudanças no tamanho efetivo da população ao longo do tempo, uma *Bayesian Skyline Plot* (BSP) foi gerada através do programa BEAST v.1.10.4 (Suchard et al., 2018) também com base no conjunto de dados de *CYTB* de *S. libidinosus*. Essa abordagem incorpora incerteza na genealogia usando a integração do MCMC (Markov chain Monte Carlo) sob um modelo coalescente, no qual o tempo das datas fornece informações sobre tamanhos efetivos da população ao longo do tempo. As cadeias foram executadas por 10 milhões de gerações para os dados da população do Parque Ecológico do Tietê (TEP) e por 100 milhões de gerações para os dados da população do Parque Nacional Serra da Capivara (SCNP). Os primeiros 10% foram descartados como *burn-in*. O modelo de substituição foi o HKY+G, selecionado de acordo com o resultado do programa jMODELTEST v.2.1.10 (Darriba et al., 2012), sob o Critério de Informação de Akaike (AIC). Aplicou-se um crescimento de mudança linear para o modelo *skyline* e relógio molecular aleatório. Não há fósseis que possam ser confiavelmente atribuídos a subclados de macacos-prego, por isso foi utilizada a taxa de mutação de 2%, descrita para o gene mitocondrial *CYTB* em primatas (Brown et al., 1979). Adicionalmente, Moorjani et al., (2016) estimaram, com base em sequências genômicas de dez espécies, que os NWMs tinham uma taxa mutacional 1,64 mais rápida que a dos demais primatas. Sendo assim, também utilizamos uma taxa de 3,28% (2 X

1,64 = 3,28%) em nossas análises BSP. A história demográfica ao longo do tempo foi reconstruída utilizando o Tracer v.1.7 (Drummond e Rambaut, 2007).

III.3 Rede de haplótipos

Pelo programa DnaSP v.6 (Rozas et al., 2017) foram identificados os haplótipos do gene *CYTB* de *S. libidinosus* e geradas as matrizes de dados. Foram utilizadas como grupo externo sequências do *CYTB* de três indivíduos de *S. apella*, pertencentes a uma população localizada em Barcelos – Amazonas (Casado et al., 2010). As relações hierárquicas entre os haplótipos foram observadas a partir de redes de haplótipos geradas pelo programa NETWORK v.5 (Rohl, 2000), o qual é baseado na implementação do algoritmo *median-joining*, que gera uma árvore (*minimum spanning tree*) e adiciona os intermediários ausentes usando o algoritmo de máxima parcimônia de Farris (Bandelt et al., 1999).

III.4 Tempos de divergência

O programa BEASTv.1.10.4 (Drummond & Rambaut, 2007) foi utilizado também para inferir os tempos de filogenia e divergência com base nos dados do gene *CYTB* de primatas do Novo Mundo (anexo 2). Executamos a análise MCMC para 50 milhões de gerações, amostrando estados a cada 1.000 gerações com uma árvore inicial aleatória, relógio molecular relaxado *uncorrelated lognormal* e distribuições padrão do programa considerando outros parâmetros. Empregamos o processo de especiação de Yule como *prior* da árvore. O modelo de substituição foi o HKY+G, selecionado de acordo com o programa jMODELTEST v.2.1.10 (Darriba et al., 2012), sob o Critério de Informação de Akaike (AIC). Avaliamos a convergência visualmente usando o Tracer v.1.7 para traçar os escores de probabilidade para todos os parâmetros pelo tempo de geração e calculando tamanhos de amostra efetivos (ESS). Foi utilizado um *burn-in* de 10%. O software TreeAnnotator v.1.10.4 foi usado para resumir todos os nós e as distribuições *a posteriori* de cada parâmetro em uma árvore de *Maximum Clade Credibility* (MCC). A árvore foi visualizada no FigTree v.1.4.4.

Para obter a distribuição posterior dos tempos de divergência estimados, nove pontos de calibração foram aplicados como *priors* normais para restringir a idade dos nós, com base nas informações sobre fósseis de primatas: idade mínima para a Infraordem Simiiformes de $43,5 \pm 4,5$ Ma com base no fóssil *Darwinius masillae* (Franzen et al., 2009); idade mínima

para a Parvordem Platyrrhini de $23,5\pm 3,0$ Ma com base no fóssil ⁺*Dolichocebus gaimanensis* (Kay et al., 2008); idade mínima para a família Hominidae de $15,5\pm 2,5$ Ma (Matsui et al., 2009); idade mínima para a separação *Homo-Pan* de $6,5\pm 1,0$ Ma (Vignaud et al., 2002); idade mínima para a subfamília Pitheciinae de $15,7\pm 2,0$ Ma, com base no fóssil ⁺*Proteropithecica* (Kay et al., 1998); idade mínima para a subfamília Atelinae em $12,6\pm 2,0$ Ma, com base no fóssil ⁺*Stirtonia* (Kay et al., 1987); idade mínima da subfamília Aotinae em $12,5\pm 2,0$ Ma, com base no fóssil ⁺*Aotus dindensis* (Kay & Fleagle, 2010); uma idade mínima para a subfamília Callitrichinae em $13,4\pm 2,0$ Ma, com base em ⁺*Patasola* e ⁺*Lagonimico* (Kay & Fleagle, 2010); e uma idade mínima para a subfamília Cebinae com base em ⁺*Neosaimiri* a $12,5\pm 2,0$ Ma (Rosenberger et al., 1991; Takai, 1994). Para expandir o conjunto de dados, sequências ortólogas provenientes do Genbank de 10 primatas pertencentes à parvordem Catarrhini foram usados como grupos externos: humano (*Homo sapiens*), neandertal (*Homo neanderthalensis*), chimpanzé comum (*Pan troglodytes*), bonobo (*Pan paniscus*), gorila (*Gorilla gorilla*), orangotango (*Pongo abelii*), macaco rhesus (*Macaca mulatta*), macaco-rabo-de-porco (*Macaca nemestrina*), macaco-verde (*Chlorocebus sabaesus*) e gelada (*Theropithecus gelada*).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

IV.1 História populacional e demográfica de *S. libidinosus*

IV.1.1 Filogenia com base em tempos de divergência

Os cálculos do tempo de divergência para a origem e diversificação entre as famílias de NWMs, com base na topologia da árvore inferida a partir do *CYTB*, revelaram ramificações curtas, sugerindo diversificação em períodos relativamente recentes (Figura 1). De acordo com nossas estimativas de tempo, a origem dos Simiiformes teria ocorrido há cerca de 42,34 Ma (Intervalo de confiança de 95% - *Higher Posterior Density* - HPD = 38,58-45,91) e a origem dos Platyrrhini há 21,25 Ma (HPD = 18,69-23,79). O surgimento da subfamília Cebinae, segundo nossas estimativas, teria ocorrido há 15,26 Ma (HPD = 12,23-18,19). A separação entre *Cebus* e *Sapajus* foi estimada em 6,20 Ma atrás (HPD = 4,35-8,34), ao passo que a separação entre *S. libidinosus* e *S. flavius* foi estimada em 0,50 Ma atrás (HPD = 0,30-0,74). O surgimento do gênero *Sapajus* foi estimado em 2,74 Ma (HPD = 1,77-3,81). Nota-se que todos os indivíduos do Parque Nacional Serra da Capivara (SCNP) agruparam no mesmo clado, sugerindo que as amostras testadas no presente trabalho provavelmente são da espécie *S. libidinosus*.

A população do Parque Ecológico do Tietê (TEP) também agrupou em conjunto no clado dos *S. libidinosus*, um fato interessante, pois essa população é constituída por um grupo heterogêneo, fundado por cinco indivíduos. Suspeita-se que essa população seja constituída por alguns indivíduos híbridos, pois não se sabe ao certo a qual espécie pertenciam os indivíduos introduzidos originalmente. De acordo com a cor da pelagem dos animais seriam híbridos de *S. apella*, *S. nigritus* e *S. libidinosus* (Ferreira, 2004). Nossa análise filogenética, baseada em *CYTB* não detectou a presença de híbridos. Contudo, o *CYTB* não é o marcador ideal para identificar híbridos (Amaral et al., 2007), por se tratar de um gene mitocondrial, sistema de herança exclusivamente materna. Caso haja algum tipo de assimetria nos cruzamentos, por exemplo, os machos *S. libidinosus* não acasalarem com fêmeas híbridas, o sinal da hibridação na população não seria detectado. Para tal fim, o mais adequado seria utilizar lócus de evolução rápida, localizados em cromossomos autossômicos, biparentais tais como microssatélites (Turcheto et al., 2015). Porém, a combinação de ambos os tipos de

marcadores genéticos (bi e uniparental) é na verdade o ideal para inferir a natureza assimétrica (ou não) dos cruzamentos, evento relativamente comum na natureza considerando espécies filogeneticamente próximas, ou nem tanto, como mostra o trabalho de Mourthe et al. (2018) com *Alouatta caraya* e *Alouatta guariba clamitans* que pertencem a ramos que podem ter divergido há ~5 milhões de anos. De fato, a estratégia de usar marcadores genéticos uni e biparentais já indicou assimetria na hibridação entre espécies de NWMs. Por exemplo, dados moleculares com mtDNA, cromossomo Y e de loci autossomos foram usados para confirmar a hibridação entre *Alouatta palliata* e *Alouatta pigra*, no México (Cortés-Ortiz et al. 2007; Kelaita e Cortés-Ortiz 2013). A hibridação entre essas espécies parece ser assimétrica (ou unidirecional), pois um cruzamento entre *A. palliata* macho e *A. pigra* fêmea produz prole, enquanto o inverso não. Já no caso dos *Alouatta caraya* e *Alouatta guariba clamitans*, que habitam regiões do sul do Brasil, Mourthe e colegas (2018) usando dados de mtDNA e do cromossomo Y, forneceram a primeira evidência genética de hibridação bidirecional entre membros dessas duas espécies, mas os autores salientaram que o sistema descrito por eles parece ser bastante mais complexo do caso da zona híbrida de *Alouatta palliata* e *Alouatta pigra*, já que detectaram diferenças na viabilidade e fertilidade dos híbridos seja na primeira (F1) ou segunda geração (F2).

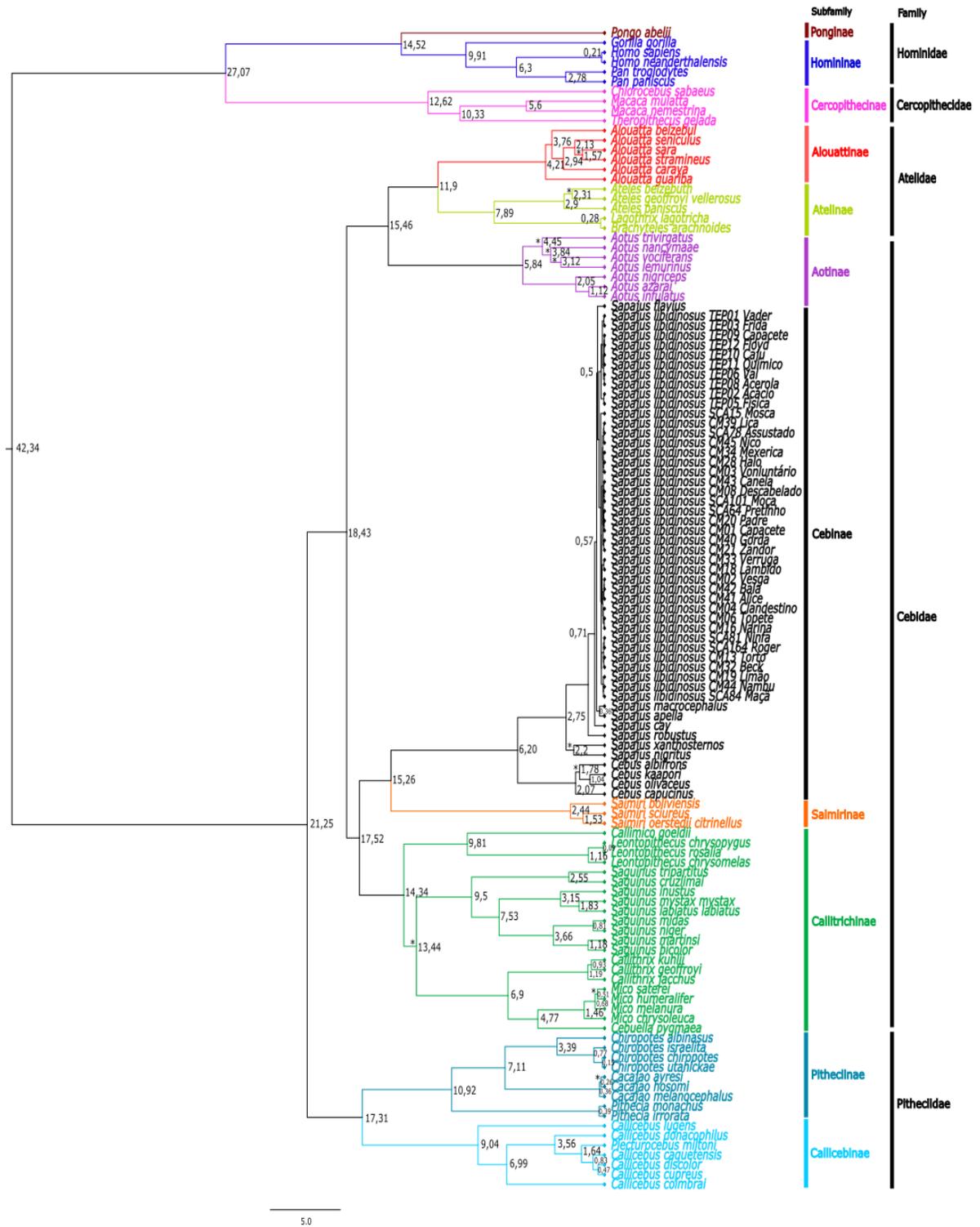


Figura 1. Árvore do tempo de divergência dos Platyrrhini gerada no BEAST com base em seqüências de *CYTB*. Um indivíduo por espécie, exceto para *S. libidinosus*. Nomes próprios atribuídos para cada indivíduo da população do SCNP pelo Dr. Tiago Falótico e membros de sua equipe aparecem identificando as amostras *S. libidinosus*. As probabilidades posteriores são mostradas com asterisco (< 0,95).

A origem de Simiiformes em 42,34 Ma obtida com base na análise de tempos de divergência realizada no BEAST e utilizando-se *CYTB* é bem próxima daquela estimada por Perelman et al. (2011), a qual foi datada em 43,47 Ma, com base em dados de 54 genes nucleares. A data de origem da subfamília Cebinae, por sua vez, datada em 15,26 Ma também é similar a origem relatada por Perelman et al. (2011), em 15,40 Ma. A origem do clado Platyrrhini obtida em 21,25 Ma é relativamente recente. Alguns estudos recalibraram as idades dos principais clados de Platyrrhini e defendem a hipótese de que eles constituem linhagens muito antigas. Esses estudos consideram os registros mais antigos de fósseis, do início do Mioceno da Patagônia e do Chile e possivelmente aqueles do final do Oligoceno da Bolívia, como parte da Parvorder Platyrrhini (Perez et al., 2013; Silvestro et al., 2019; Wang et al., 2018). Perez et al. (2013) através de dados moleculares e fósseis testaram diferentes calibrações para construir as árvores e dataram a origem mínima de Platyrrhini em 20,31 Ma e origem máxima em 28,49 Ma. Silvestro et al. (2019) dataram a origem de Platyrrhini em 32,84 Ma através de dados moleculares e fósseis.

O conjunto de dados provenientes do *CYTB* de primatas e de macacos-prego utilizados no presente estudo fornece suporte adicional para a monofilia de macacos-prego robustos e gráceis (*Sapajus* e *Cebus*, respectivamente) com uma divisão em 6,20 Ma atrás. Uma divisão no chamado Mioceno-Tardio (final do Mioceno, ou seja, época mais recente da Era atual) de *Sapajus-Cebus* foi previamente suportada usando dados mitocondriais (*CYTB*, D-loop e COI) por Lima et al. (2017), com *split* estimado em 5,8 Ma (HPD = 2.24–10.94); dados nucleares e mitocondriais combinados em Perelman et al. (2011) e Springer et al. (2012) estimaram o *split* em 6,0 Ma (HPD = 3,13–9,35) e 5,7 Ma (HPD = 3,55–8,33), respectivamente. Lima et al. (2017) sugerem ainda uma distribuição de *Sapajus* exclusivamente na Mata Atlântica até recentemente, e *Cebus* exclusivamente na Amazônia, e que no meio desses dois biomas emergiu, há cerca de 6,0 Ma o Cerrado, bioma com clima mais seco, que pode ter servido de barreira inicial de isolamento. De forma similar, Lynch Alfaro et al. (2012) e Martins-Junior et al. (2018) com base também em dados mitocondriais, estimaram o *split* entre *Sapajus* e *Cebus* entre 6,2 Ma e 6,8 Ma. Em outras palavras, os relatos até o presente momento convergem em um tempo de divergência no Mioceno-Tardio para macacos-prego robustos e gráceis.

Lima et al. (2017) sustentam que todas as cinco espécies de *Sapajus* (*S. flavius*, *S. cay*, *S. libidinosus*, *S. apella* e *S. macrocephalus*) da Mata Atlântica podem ter divergido antes da expansão de *Sapajus* para outras regiões. Desse modo, Lima e colaboradores sugerem que a simpatria dos macacos-prego gracéis e robustos na Amazônia é resultado da contra invasão de *Sapajus* em uma região já ocupada por *Cebus*. Os autores sustentam também que algumas espécies de *Sapajus* (*S. libidinosus*, por exemplo) teriam invadido os biomas do Cerrado e Caatinga, a partir da Amazônia mais recentemente (<200 mil anos antes do presente), sendo que eles apresentam adaptações cranianas e pós-cranianas para vida em habitats mais secos (Wright et al., 2015; Lima et al., 2017).

Nossas análises sugerem a divergência entre *S. libidinosus* e *S. flavius* em 0,50 Ma, o qual coincide com a estimativa encontrada por Martins-Junior et al. (2018). Contudo, outros dados variam, pois dependem das amostras utilizadas e dos marcadores genéticos utilizados. Por exemplo, *S. libidinosus* já foi relatado ser mais próximo filogeneticamente de *S. nigritus* (Lynch Alfaro et al., 2012; Martins-Junior et al., 2018) ou de *S. apella* (Lima et al., 2017). É importante ressaltar que essas discrepâncias entre os diferentes estudos indicam que a filogenia dos macacos-prego ainda está em aberto e em debate. Ainda, ressaltamos que nossos dados foram estimados com a utilização de um marcador (*CYTB*), desse modo os resultados podem estar refletindo a história deste marcador e não necessariamente das espécies.

IV.1.2 Índices de diversidade e história demográfica

As 30 sequências de 1137 bp do gene mitocondrial *CYTB* de *S. libidinosus* do SCNP produziram 11 haplótipos, 4 sítios com transição, 6 sítios com transversão e nenhum sítio *indels*. A diversidade nucleotídica (π) das sequências de *CYTB* foi de 0.000586 e a diversidade haplotípica (H) foi de 0.5632 ± 0.1098 . Em outras palavras, há 56% de chances de duas sequências do *CYTB*, reunidas ao acaso, serem diferentes nessa população. Já as 10 sequências de *S. libidinosus* do TEP apresentaram 3 haplótipos, 4 sítios com transição, nenhum sítio com transversão e nenhum sítio *indels*. A diversidade nucleotídica (π) da população do TEP foi de 0.001564 e a diversidade haplotípica (H) foi de 0.6222 ± 0.1383 .

Além disso, os nossos resultados indicam que, tanto para a população de *S. libidinosus* do SCNP quanto à população do TEP, há uma relativamente alta diversidade haplotípica e

uma relativamente baixa diversidade nucleotídica. Cezar et al. (2017), observaram uma relativamente alta diversidade haplotípica para o *CYTB* entre híbridos de *Callithrix* ($H = 0,7582$), enquanto a diversidade de nucleotídeos foi baixa ($\pi = 0,00537$). Um baixo valor estimado de π pode ser explicado pelo efeito do fundador, quando um pequeno número de indivíduos funda um novo grupo/bando, com posterior crescimento populacional vegetativo, o que poderia ser o caso da população do SCNP.

O valor obtido para o teste D de Tajima para a população do SCNP foi negativo e estatisticamente significativo (-2.3306 e $p= 0,001$). O valor obtido para o teste Fs de Fu também foi negativo e estatisticamente significativo (-11.7241 e $p= 0,001$). Valor inferior a zero no teste D de Tajima indica excesso de alelos raros, varredura seletiva recente, expansão da população após um gargalo populacional recente ou efeito carona (Tajima, 1989). Valores negativos de Fs de Fu, por sua vez, são evidências de um excesso de alelos, como se espera em casos de expansão populacional recente ou efeito carona, ou seja, alelos neutros em desequilíbrio de ligação com uma variante funcional (Fu, 1997). Evidentemente tais eventos demográficos e evolutivos não são mutuamente excludentes, o que torna mais complicado o apontamento de somente um deles como determinante para explicar o padrão da diversidade encontrado. Em contrapartida, os valores obtidos para os testes D de Tajima e Fs de Fu para a população do TEP não foram estatisticamente significativos, 0.9879 ($p=0.839$) e 1.6967 ($p= 0.829$), respectivamente, o que inviabiliza maiores considerações sobre essa população, pelo menos considerando esse conjunto de testes.

A análise de BSP indicou um aumento progressivo do tamanho efetivo da população (fêmeas) de *S. libidinosus* do SCNP nos últimos 10 mil anos, quando utilizada a taxa de mutação para *CYTB* de 2% (Figura 2A), em concordância com os resultados dos testes de Fs de Fu e D de Tajima, o que reforça a ideia de uma expansão populacional após um gargalo populacional relativamente recente. Ainda, para a população do SCNP, quando se utiliza uma taxa de mutação mais rápida (3,28; Ver Material e Métodos) (Figura 2C), observa-se a topologia da árvore similar a encontrada para a taxa de mutação mais conservadora de 2%, indicando um crescimento progressivo. Contudo, o tempo que teria ocorrido a expansão é ainda mais recente, com início a aproximadamente 6 mil anos.

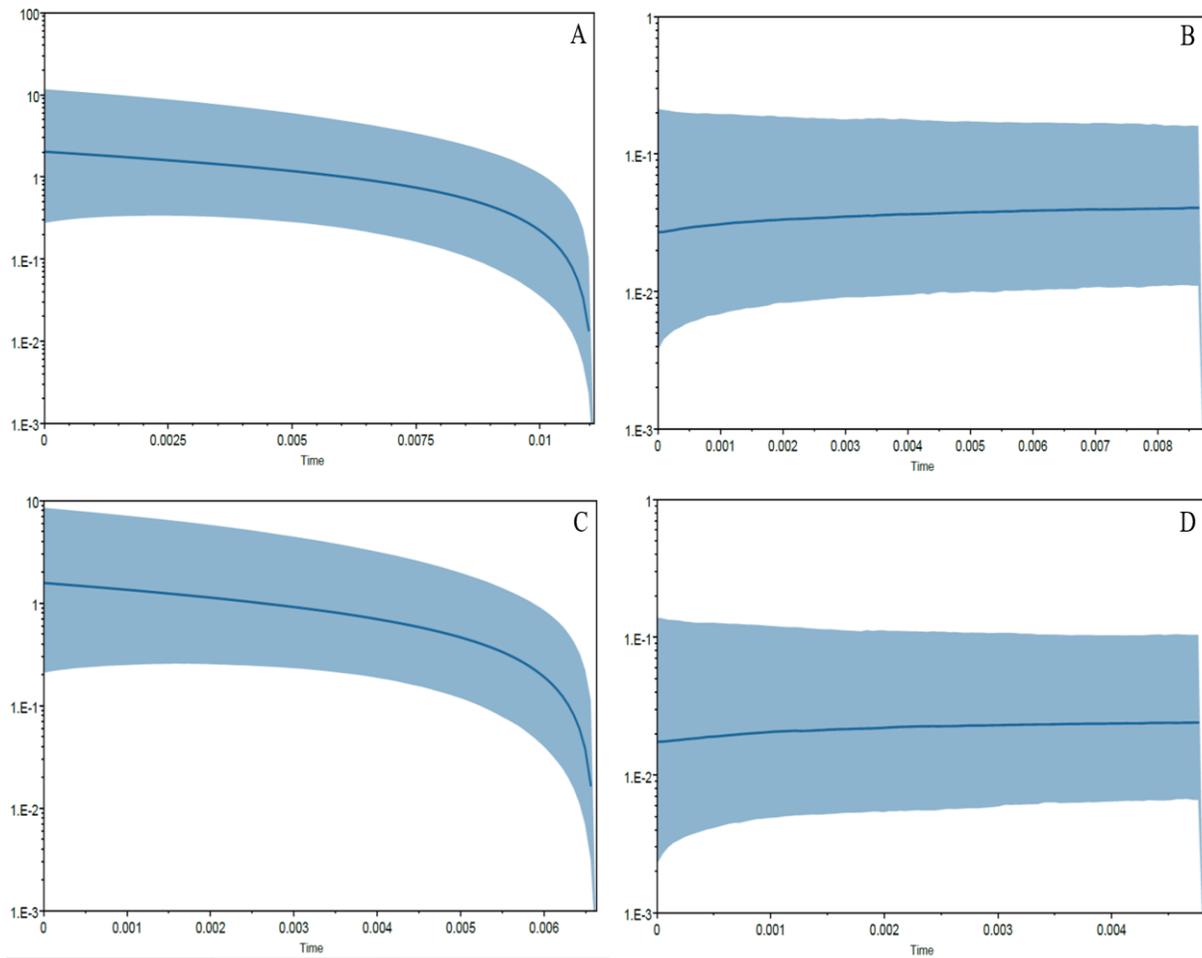


Figura 2. *Bayesian Skyline Plot* com dados do *CYTB* de uma população de *S. libidinosus* do SCNP, com taxa de mutação de 2% (A) e de 3,28% (C); e de uma população de *S. libidinosus* do TEP, com taxa de mutação de 2% (B) e de 3,28% (D). O eixo Y indica o tamanho efetivo das fêmeas da população (N_{ef}), enquanto o eixo X indica o tempo médio em milhões de anos antes do presente. A linha sólida representa a média, enquanto a faixa azul representa intervalos de densidade posterior, 95% mais altos.

Para a população do TEP, a análise de BSP revelou uma leve diminuição no tamanho efetivo da população, mediado pelas fêmeas, há cerca de 1000 anos, para ambas as taxas de mutação testadas aqui (Figuras 2B e 2D). Essa data não é compatível com a formação recente da população do Parque. Esse resultado pode então estar revelando eventos demográficos que teriam ocorrido nas populações originárias de onde os indivíduos do TEP vieram, ou mesmo ser um artefato devido ao pequeno tamanho amostral. O fato de ser uma população artificial, para a qual não se sabe a origem dos indivíduos fundadores, que possivelmente são provenientes de populações diferentes com histórias evolutivas distintas, pode estar interferindo nos resultados da análise de BSP, o que impossibilita maiores considerações.

IV.1.3 Rede de haplótipos

A rede de haplótipos (*Median Joining Network*) construída para os haplótipos do gene mitocondrial *CYTB* de *S. libidinosus* do SCNP e do TEP revelou o haplótipo 7 (H7) sendo compartilhado por vinte indivíduos do SCNP (Figura 3): Beck (CM32), Padre (CM20), Ninfa (SCA81), Pretinho (SCA64), Alice (CM41), Descabelado (CM08), Topete (CM06), Vesga (CM02), Narina (CM16), Capacete (CM01), Bala (CM42), Lica (CM39), Verruga (CM33), Mexerica (CM34), Nico (CM45), Canela (CM43), Moça (SCA101), Limão (CM19), Gorda (CM40) e Roger (SCA164). Dez haplótipos do SCNP aparecem relacionados a H7 com apenas um passo mutacional os separando: H6, Maçã (SCA84); H8, Torto (CM13); H9, Assustado (SCA78); H10, Mosca (SCA15); H11, Clandestino (CM04); H12, Voluntário (CM03); H13, Nambu (CM44); H14, Lambido (CM18); H15, Halo (CM28); e H16, Zandor (CM21).

Foram encontrados três haplótipos na população do TEP, o mais comum foi o H5, compartilhado por seis indivíduos (Figura 3): Químico (TEP11), Capacete (TEP09), Floyd (TEP12), Acerola (TEP08), Val (TEP06) e Caju (TEP10). O haplótipo três aparece em dois indivíduos do TEP: Vader (TEP01) e Frida (TEP03); e está relacionado a H2 e H4, com dois passos mutacionais os separando. H4, presente nos indivíduos Acácio (TEP02) e Física (TEP05), aparece relacionado a H7, visto também no SCNP, com três passos mutacionais os separando. O grupo externo, *S. apella*, apresentou dois haplótipos (H1 e H2) (Figura 3), com um indivíduo apresentando H1 e dois indivíduos apresentando H2. A população de *S. apella* aparece conectado aos demais grupos populacionais de *S. libidinosus* através de um vetor

medial, (nódulo vermelho na Figura 3, denominado aqui de H_a) com 11 passos mutacionais, topologia de rede consistente com o fato de ser outra espécie do gênero *Sapajus*.

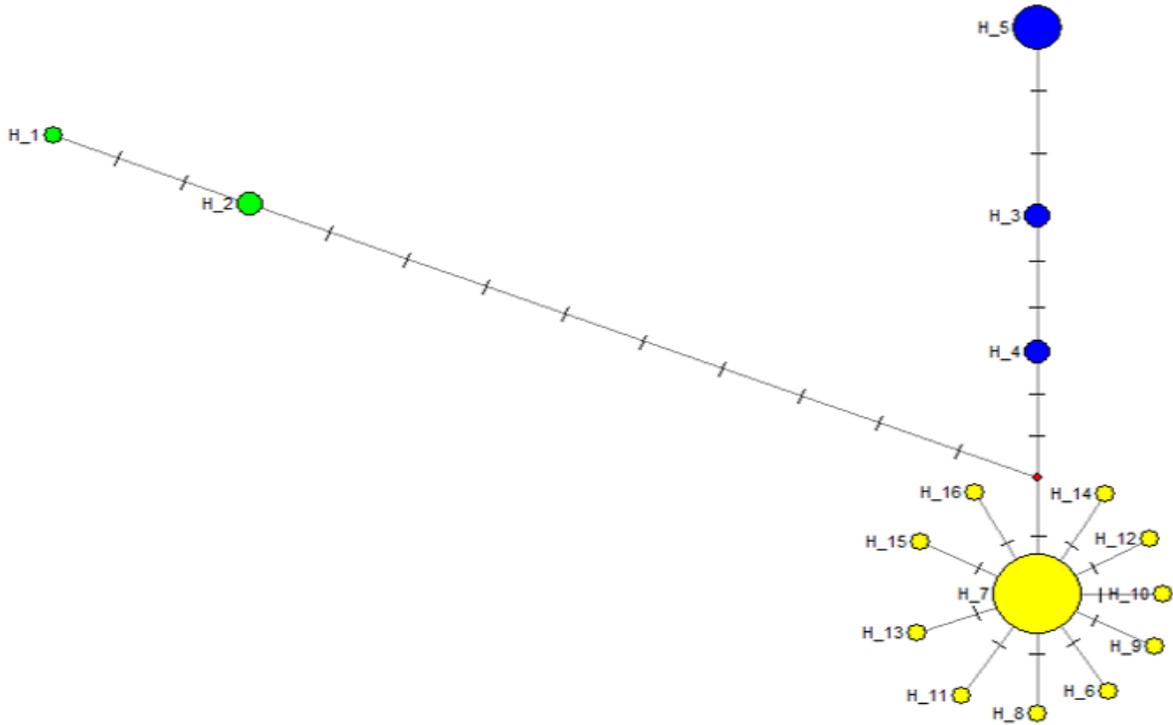


Figura 3. Rede de haplótipos baseada em 1137 pb do gene *CYTB* das populações de *S. libidinosus* do SCNP e do TEP. O tamanho de cada círculo de haplótipos indica o número de indivíduos observados e cada haplótipo é representado pela sua legenda. Cores correspondem a diferentes populações: *S. libidinosus* do SCNP em amarelo, *S. libidinosus* do TEP em azul e *S. apella* de Barcelos – Amazonas, em verde (grupo externo). Barras pequenas entre linhas indicam o número de etapas mutacionais entre os haplótipos.

A rede de haplótipos (*Median Joining Network*) sugere uma expansão populacional relativamente recente para a população do SCNP, indicando H7 como o mais comum, sendo compartilhado por 20 indivíduos, e tendo 10 haplótipos derivados com apenas um passo mutacional. Os vetores médios podem ser biologicamente interpretados como sequências (haplótipos) não amostradas, mas possivelmente existentes, ou ainda sequências ancestrais extintas (Bandelt et al., 1999). No geral, a rede do SCNP tem uma forma de estrela com um haplótipo central compartilhado por mais indivíduos, característica de uma recente expansão demográfica da população (Slatkin e Hudson, 1991; Bandelt et al., 1995). Portanto, a topologia da rede de haplótipos, a BSP, os testes D de Tajima e F_s de Fu indicam uma expansão demográfica recente da população de *S. libidinosus* do SCNP.

O vetor médio (H_a) foi estimado pela análise de MJN a apenas um passo mutacional do haplótipo H7 do grupo de *S. libidinosus* do SCNP e a dois passos mutacionais do haplótipo H4 da população de *S. libidinosus* do TEP. Existe a possibilidade da análise de MJN não estar detectando o haplótipo intermediário que conectaria essas populações de *S. libidinosus* devido ao número amostrado ser baixo (não temos amostras de todas as populações de *S. libidinosus* em toda a sua ocorrência geográfica). Desse modo, o vetor médio pode se tratar de sequências não amostradas possivelmente existentes e não necessariamente de sequências ancestrais extintas. Além disso, parece que o IBAMA introduziu no TEP animais de diferentes origens, não obstante todos terem mtDNA típico de *S. libidinosus*, o que fica evidente pela análise filogenética (Figura 1). Nesse caso, se há de fato a existência de híbridos de *S. apella*, *S. nigrítus* e *S. libidinosus* nesse Parque, sugestão feita a partir da cor da pelagem (Ferreira, 2004), esses eventos de hibridação seriam de natureza unidirecional como vem sendo proposto para alguns NWMs (Cortés-Ortiz et al. 2007). No presente trabalho só linhagens de mtDNA de *S. libidinosus* foram observadas no TEP, de modo que parece que as fêmeas “puras” de *S. libidinosus*, ou fêmeas híbridas, mas com mtDNA de *S. libidinosus*, estão de alguma forma tendo maior sucesso reprodutivo que outras e/ou que há inviabilidade da prole com outras combinações sexo/espécie.

IV.2 Variabilidade de genes do sistema oxitocinérgico em espécies de macacos do Novo Mundo, incluindo *S. libidinosus*

IV.2.1 Variantes de OXT

O gene *OXT* de *S. libidinosus* foi sequenciado para identificar a forma de OXT presente nessa espécie, dado até então desconhecido. Adicionalmente, foram sequenciadas 20 espécies de NWMs com a mesma finalidade (Figura 4). A única espécie com dados previamente conhecidos é *Saguinus midas*, sendo que para todas as demais este é o primeiro registro sobre as formas de OXT presente nas mesmas.

Na Figura 4 estão apresentadas as variantes de OXT em espécies de NWMs, bem como alguns traços comportamentais que os caracterizam (Anexo 3). Como pode ser visto, a espécie *Aotus nigriceps*, do clado Aotinae, apresentou a variante Pro8OXT como as demais espécies já descritas da família Cebidae (Vargas-Pinilla et al., 2015; Ren et al., 2015). As três espécies de bugio (*A. discolor*, *A. guariba*, *A. ululata*), por sua vez, apresentaram a forma mais comum em mamíferos placentários, a Leu8OXT. Contudo, a variação no segundo aminoácido que define a forma Phe2OXT, anteriormente descrita por Ren e colegas (2015) para *A. caraya*, não foi encontrada nas espécies do gênero *Alouatta* testadas no presente estudo, pois estas mantêm uma tirosina nessa posição.

O macaco-aranha-preto (*Ateles paniscus*) apresenta a variante Pro8OXT, assim como as demais espécies já descritas deste gênero, *A. geoffroyi* e *A. belzebuth* (Ren et al., 2015). A espécie *Brachyteles arachnoides* apresentou a forma Leu8OXT, de acordo com outra espécie do gênero, *B. hypoxanthus*, descrita por Ren et al. (2015). Entre os cebídeos, as espécies *C. aurita*, *C. pygmaea*, *L. chrysopygus*, *M. chrysoleucus*, *M. mauesi*, *S. libidinosus* e *C. humilis* tinham a variante Pro8OXT, de acordo com o descrito até o momento para as espécies da família Cebidae já sequenciadas (Lee et al., 2011; Vargas-Pinilla et al., 2015).

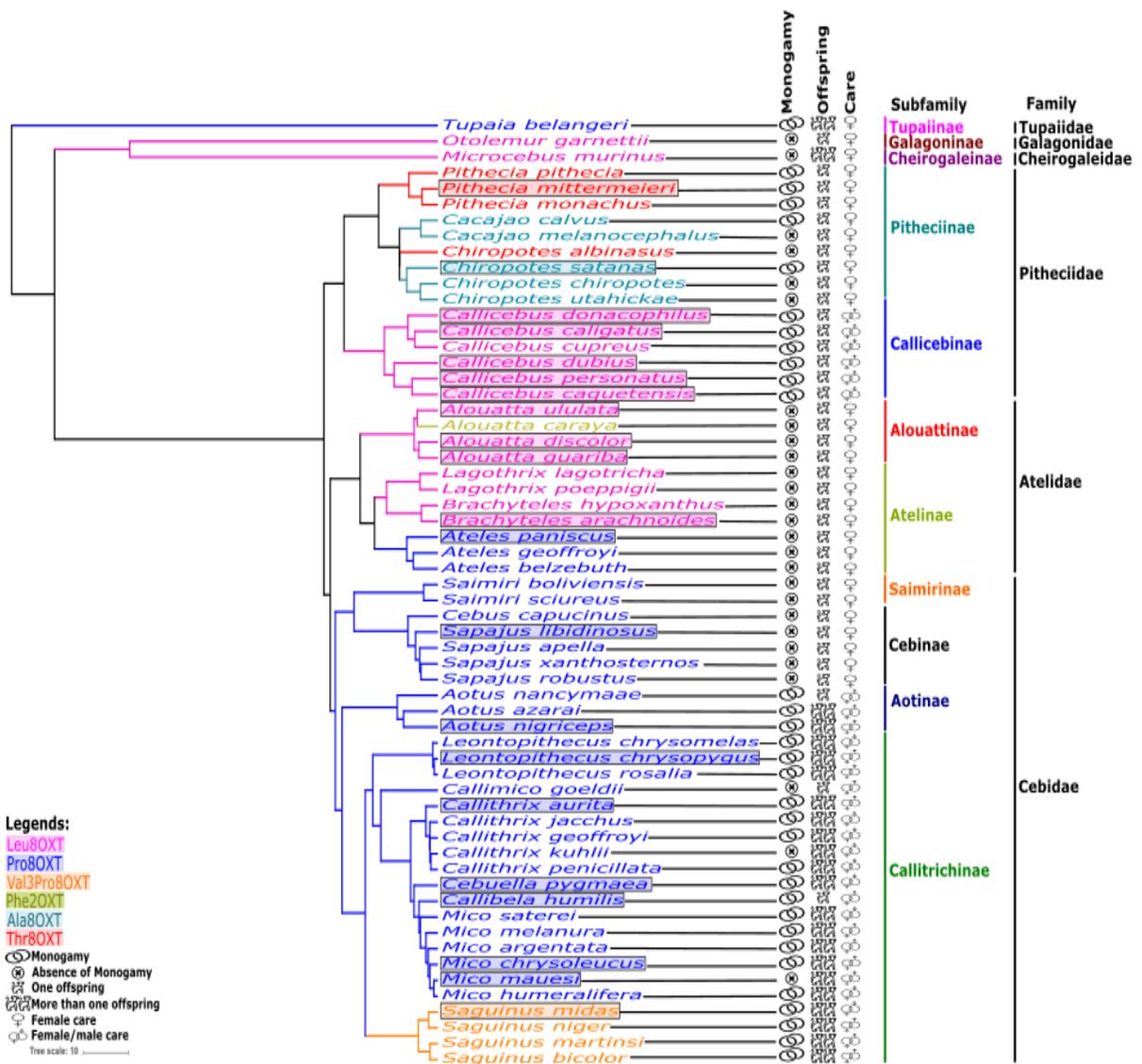


Figura 4. Variantes de OXT em espécies de Platyrrhini e comportamentos sociais complexos mais frequentemente encontrados. As espécies destacadas tiveram a região codificadora do nonapeptídeo OXT sequenciado no presente trabalho.

No que diz respeito à família Pitheciidae, a espécie *Callicebus caquetensis*, *Callicebus caligatus*, *Callicebus donacophilus*, *Callicebus dubius* e *Callicebus personatus*, apresentaram Leu8OXT, que também está presente em *Callicebus cupreus*, descrita por Lee et al. (2011). *Pithecia mittermeier* apresentou a variante Thr8OXT, já descrita para outras duas espécies da família Pitheciidae, *Chiropotes albinasus* e *Pithecia pithecia* (Vargas-Pinilla et al., 2015; Ren et al., 2015). *Chiropotes satanas* apresentou a variante Ala8Pro, presente também em *Chiropotes utahickae* (Vargas-Pinilla et al., 2015).

Os dois indivíduos de *Saguinus midas* apresentaram a variante Val3Pro8OXT, de acordo com o encontrado para outras espécies do mesmo gênero, *S. bicolor*, *S. martinsi* e *S. niger* por Vargas-Pinilla et al. (2015). Entretanto, divergem do relato apresentado por Ren et al. (2015) para a mesma espécie, mostrando *Saguinus midas* como portador da variante Pro8OXT, sem apresentar a mudança na posição 3 da molécula, onde uma valina substitui uma isoleucina, como encontrado no presente trabalho.

IV.2.2 Receptores OXTR, AVPR1a e AVPR1b

Os resultados preliminares provindos do sequenciamento da região codificadora dos receptores OXTR, AVPR1a e AVPR1b de *S. libidinosus* mostram mutações sinônimas (a maioria), bem como algumas não-sinônimas. Para o receptor OXTR destacam-se apenas mutações sinônimas táxon-específicas (*Cebus* e *Sapajus*): na posição 433 há uma mutação C>T nas espécies *Cebus capucinus*, *Sapajus apella* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido leucina (CTG nas demais espécies e TTG nos macacos-prego) na posição 145 do receptor, a qual se encontra na região intracelular 2 (ICL2); na posição 462 há uma mutação C>A nas espécies *C. capucinus*, *S. apella* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido arginina (CGC nas demais espécies e CGA nos macacos-prego) na posição 154 do receptor, a qual corresponde ao domínio transmembrana 4 (TM4); na posição 534 há uma mutação C>T nas espécies *S. apella* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido arginina (CGC nas demais espécies e CGT nos macacos-prego), na posição 178 do receptor, que encontra-se na região extracelular 2 (ECL2).

As sequências do receptor AVPR1a de *Cebus capucinus* e *Sapajus libidinosus* diferem apenas na posição 225: *Cebus capucinus* apresenta um T, no códon GCT, que codifica alanina

na posição 75 do receptor, localizada no domínio transmembrana 1 (TM1), enquanto *S. libidinosus* apresenta um G, constituindo o códon GCG, que também codifica o aminoácido alanina, ou seja, é uma mutação sinônima. Adicionalmente, também foram observadas mutações sinônimas táxon-específicas (*Cebus* e *Sapajus*) para o receptor *AVPR1a*: na posição 240 há uma mutação G>A nas espécies *C. capucinus* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido prolina (CCG nas demais espécies e CCA nos macacos-prego) na posição 80 do receptor, a qual encontra-se na região intracelular 1 (ICL1); na posição 480 há uma mutação G>A nas espécies *C. capucinus*, *S. apella* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido leucina (CTG nas demais espécies e CTA nos macacos-prego) na posição 160 do receptor, a qual encontra-se na região intracelular 2 (ICL2); na posição 501 há uma mutação G>C nas espécies *C. capucinus*, *S. apella* e *S. libidinosus* que codifica o aminoácido serina (TCG nas demais espécies e TCC nos macacos-prego) na posição 167 do receptor, a qual corresponde ao domínio transmembrana 4 (TM4).

Os dados obtidos para *AVPR1b*, o único receptor a apresentar substituição não-sinônima, mostram a existência de uma variante na posição 62, localizada na região intracelular 1 (ICL1) do receptor (Figura 5), já descrita em estudo anterior de nosso grupo de pesquisa (Fam et al., 2019). Dois alelos foram encontrados nas amostras de *S. libidinosus* já estudadas: prolina (Pro) ou leucina (Leu) são encontrados nesta posição. Leu parece ser o aminoácido ancestral já que está presente na maioria dos clados dos primatas. Interessantemente o possível alelo derivado Pro aparece na maioria das espécies da família Cebidae, exceto *Aotus nancymae*, *Saimiri boliviensis* e no clado *Cebus/Sapajus*, que apresentam o alelo ancestral Leu, assim como nas espécies das famílias Atelidae e Pitheciidae. As duas amostras avaliadas de *S. nigritus* apresentaram o alelo Leu. Igualmente interessante é o fato desses dois alelos aparecerem em *S. libidinosus*, pois o alelo Pro aparece em dois indivíduos da população do SCNP (Torto CM11 e Capacete CM15), indicando um provável polimorfismo intraespecífico na posição 62 de *AVPR1b*. Acredita-se, pelas observações de campo (Dr. Tiago Falótico, comunicação pessoal), que Torto, um macho alfa e extremamente habilidoso no uso de ferramentas, possa ser o pai de Capacete, filho da fêmea Canela (Figura 1 mostra que compartilham a mesma linhagem mitocondrial, a mais comum, H7 na Figura 3).

Na posição 150, localizada na região intracelular 1 (ICL1) do receptor AVPR1b, há uma isoleucina (ATC) nas espécies de macacos-prego (*Cebus* e *Sapajus*), enquanto nas demais espécies avaliadas há uma treonina (ACC) nessa mesma posição. Nas espécies *S. libidinosus* e *S. nigritus* há uma metionina (ATG) na posição 212, localizada no domínio transmembrana 5 (TM5), já nas demais espécies é encontrada uma valina (GTG) nessa posição. Foram observadas também mutações sinônimas para o receptor AVPR1b: na posição 153 há uma mutação C>T em 4 indivíduos de *S. libidinosus* (Acácio TEP02, Capacete CM15, Torto CM11 e Lambido CM18), que codifica o aminoácido Glicina (GGC>GGT) na posição 51 do receptor, localizada no domínio transmembrana 1 (TM1); na posição 240 há uma mutação T>C em 5 indivíduos de *S. libidinosus* (Capacete CM15, Lambido CM18, Voluntário CM05, Clandestino CM04 e Torto CM11), que codifica o aminoácido Aspartato (GAT>GAC) na posição 80 do receptor, localizada no domínio transmembrana 2 (TM2); na posição 309 há uma mutação C>T em 4 indivíduos de *S. libidinosus* (Capacete CM15, Torto CM11, Lambido CM18, Voluntário CM05 e Clandestino CM04), que codifica o aminoácido Prolina (CCC>CCT) na posição 103 do receptor, a qual encontra-se no domínio transmembrana 3 (TM3). Note que Torto e Capacete compartilham todas variantes, reforçando seu parentesco afiliativo.

Observa-se também uma deleção de aminoácidos da posição 245 a 248 do receptor AVPR1b em todas espécies de NWMs, incluindo *S. libidinosus* (Figura 6).

CAPÍTULO V. DISCUSSÃO

V.1 Demografia e evolução dos *S. libidinosus* do SCNP e TEP

A história demográfica recuperada com a análise BSP reforça os resultados dos testes F_s de F_u e D de Tajima para a população de *S. libidinosus* do SCNP, os quais também indicaram a possibilidade de um aumento progressivo no tamanho efetivo (expansão) desta população ao longo do tempo. A rede de haplótipos com topologia em estrela também aponta nessa direção assim como o baixo valor de π (0,000586, um valor ~ 3 vezes menor do que o encontrado para a população do TEP), ou seja, um pequeno número de indivíduos, possivelmente aparentados, fundou o grupo/bando, com posterior crescimento populacional.

De acordo com nossos achados, essa expansão teria iniciado há <10 mil anos, em época bem mais recente da estimada da invasão de *S. libidinosus* nos biomas Cerrado e Caatinga (<200 mil anos atrás, fim do Pleistoceno e início do Holoceno; Lima et al., 2017). Desse modo a expansão, mediada pelas fêmeas que estamos observando parece não resgatar o evento mais antigo da chegada na região, mas especulamos que possa estar relacionada com outro evento relevante na história evolutiva dos *S. libidinosus*: o desenvolvimento de sua cultura lítica. Interessantemente, os vestígios do uso de ferramentas por *S. libidinosus* remetem há ~ 3 mil anos (Falótico et al., 2019). Desse modo, como veremos em maiores detalhes abaixo, especulamos que a adoção de um meio cultural para a obtenção de recursos pode estar contribuindo para a manutenção de uma trajetória de expansão populacional de *S. libidinosus* na Serra da Capivara, possivelmente coincidente com o surgimento do clima semiárido que caracteriza o bioma Caatinga há cerca de 4 mil anos (De Oliveira et al., 1999).

A Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro, ocupa uma área de ~ 800 mil km^2 , cerca 10% do território nacional, sendo caracterizado por secas extremas e longos períodos de estiagem (De Souza et al., 2015 e referências lá contidas). Mais recentemente, em nível internacional, esse bioma vem sendo considerado como parte das Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (De Souza et al., 2015 e referências lá contidas). Muitos estudos buscam entender como esse bioma surgiu e se modificou ao longo das eras geológicas, em especial durante o Holoceno, sendo que todos eles apontam para flutuações entre períodos mais úmidos e secos, levando a retrações e expansões de fauna e flora normalmente encontradas e

adaptadas a esses tipos de clima, até o estabelecimento do clima semiárido observado hoje, com secas extremas e períodos de estiagem (De Oliveira et al., 1999; Cruz et al., 2009; Pessenda et al., 2010; Novello et al., 2012; Nace et al., 2014; Mendes, 2016; De Medeiros et al., 2018). Por exemplo, de acordo com o registro de pólen do Vale do Rio Icatu (afluente do rio São Francisco), florestas tropicais de galerias e palmeiras diminuíram gradualmente em abundância naquele vale no Holoceno médio (80-40 mil anos antes do presente), sendo só mais recentemente (~4.000 anos) o estabelecimento do cenário semiárido típico da Caatinga nos dias atuais (De Oliveira et al., 1999; De Medeiros et al., 2018). Behling e colegas (2000), por sua vez, analisaram o sinal de pólen em sedimentos marinhos depositados no delta do rio Jaguaribe, na plataforma continental, a 90 km da costa do Ceará. Os autores buscaram uma assinatura da vegetação local que permitisse fazer uma correlação do sinal do pólen com as mudanças climáticas regionais. Os autores também detectaram uma tendência gradual para condições mais secas entre 6.000 e 2.000 anos atrás.

Atualmente, os macacos-prego selvagens majoritariamente processam castanhas de caju endêmicas (*Anacardium* spp.). Como já comentado, a ocupação por macacos-prego mais antiga conhecida no SCNP é de ~3.000 anos, de acordo com vestígios líticos (Falótico et al., 2019). Sementes dissecadas de *Anacardium* spp. foram encontradas em sítios arqueológicos em Boqueirão da Pedra Furada, indicando a presença de *Anacardium* spp. no SCNP há pelo menos 8.000 anos atrás (De Medeiros et al., 2018; Mota e Scheel-Ybert, 2019), com possíveis flutuações em termos de abundância (Pessiss et al., 2014).

Baseado nos nossos achados, bem como de outros pesquisadores relatados acima, um cenário pode ser proposto: possivelmente os macacos-prego *S. libidinosus* já ocupavam o local que hoje compreende o SCNP de forma bem-sucedida e com sinal de constante expansão há menos de 10 mil anos (segundo a análise de BSP). Assim, a ausência de vestígios do uso de ferramentas por macacos-prego num passado mais distante não necessariamente significa a ausência da espécie no local. Por outro lado, o registro do uso de ferramentas de ~3.000 anos por *S. libidinosus* da Serra da Capivara (Falótico et al., 2019) indica que a inovação tecnológica que permitiu o estabelecimento da cultura adaptativa entre os *S. libidinosus* do SCNP é coincidente temporalmente com os registros que apontam para o mais recente período

semiárido na Caatinga, com início entre 6-2 mil anos atrás (De Oliveira et al., 1999; De Medeiros et al., 2018; Behling et al., 2000). É digno de nota que ao usarmos a taxa de mutação menos conservadora de 3,28%, a expansão da população do SCNP (início há ~6 mil anos atrás), se aproxima muito desse evento inovador registrado pelos estudos arqueológicos de Falótico e colegas publicado recentemente (2019). Ainda, esse número (3,28%) foi obtido por nós com base no estudo de Moorjani et al., (2016) que observaram que o genoma de NWMs tinha, em média uma taxa mutacional 1,64 vezes mais rápida que dos demais primatas, de modo que multiplicamos esse número pela taxa definida para o *CYTB* de primatas (2%). Se considerarmos que o genoma mitocondrial tem taxa mutacional bem maior que a do genoma nuclear para todos os clados no reino animal até agora investigados (Allio et al., 2017), a expansão dos *S. libidinosus* no SCNP teria sido ainda mais recente (<6 mil anos), o que sinaliza para uma aproximação das datas desses eventos, antes do que o contrário.

Uma explicação para a ocorrência do uso de ferramentas em primatas é a "hipótese da necessidade", a qual afirma que a principal função do uso de ferramentas é obter alimentos "alternativos ou substitutos" (*fallback food* ou para alguns *food-scarcity explanation*), em ambientes cujas condições não favorecem a aquisição do alimento preferido de uma forma facilitada e abundante em todas as épocas do ano. Esse tipo de cenário estaria particularmente presente em ambientes similares às savanas, onde podemos incluir o Cerrado e a Caatinga. Tais condições exerceriam a força seletiva necessária para que a inovação ocorresse e uma cultura adaptativa emergisse, pelo menos entre os primatas (Marshall et al., 2009; Harrison et al., 2011). Essa tem sido uma das explicações para o caso da emergência da cultura dos *S. libidinosus* do SCNP, pois haveria benefícios no uso de ferramenta quando há limitações na abundância de alimentos preferidos, como ocorre na Caatinga (Moura e Lee, 2004). Vale lembrar que o termo "Caatinga" é de origem Tupi-Guarani e significa "mata branca", o qual remete ao aspecto geral da vegetação na estação seca, quando as folhas caem. A Caatinga, comparada a outros biomas brasileiros, tem mais alta radiação solar, baixa nebulosidade, a mais alta temperatura média anual, as mais baixas taxas de umidade relativa, evapotranspiração potencial mais elevada, e, marcadamente, precipitações baixas e irregulares, limitadas, na maior parte da área, a um período muito curto no ano (Leal et al., 2003). Então

não é nada surpreendente que temos por lá relativamente poucas espécies animais, com baixo número de espécies endêmicas (Alves et al., 2016; e referências lá contidas). Ainda, embora a espécie *S. libidinosus* tenha uma distribuição que ultrapassa em muito os limites da Caatinga, é lá que o manejo de ferramentas é o mais marcante já descrito.

No entanto, a hipótese da necessidade vem sendo contestada. Por exemplo, Falótico et al. (2017), testaram essa possibilidade com *S. libidinosus* do SCNP, e os autores não encontraram uma correlação positiva entre a falta de alimento preferido e a ocorrência do uso de ferramentas líticas. Uma hipótese alternativa, sugerida pelos autores, testada em outra população estudada de *S. libidinosus*, não os que habitam o SCNP - é a “hipótese da oportunidade” (Spagnoletti et al., 2012; Falótico et al., 2017). A hipótese da oportunidade, no caso dos *S. libidinosus* do SCNP, envolve uma longa permanência no solo (*Terrestriality* é o termo em inglês usado para se referir ao comportamento animal que mostra adaptação para vida no solo, antes do que nas árvores ou em ambientes aquáticos). Alta *terrestriality* entre os *S. libidinosus* é reportada, muito embora eles também busquem nas árvores, na época da frutificação, os caju (*Anacardium occidentale*). A exposição a predadores também é um problema para primatas que passam muito tempo no solo. Interessantemente os macacos-prego do SCNP aprenderam a se proteger de cobras perigosas, ao mesmo tempo em que aproveitam a oportunidade para atacar cobras não perigosas (Falótico et al., 2018). Ou seja, os *S. libidinosus* mostram comportamentos adaptativos que os permite acesso ao solo (alta *terrestriality*) e as muitas fontes de recursos associadas a este. Considerando a hipótese da oportunidade, o uso de ferramentas para acessar alimentos com casca dura, raízes e tubérculos, etc. teria sido inventado e mantido pela exposição repetida às condições ecológicas apropriadas, tais como a presença constante do recurso que precisa de ferramentas e especial manejo para ser acessado, bem como a abundância de materiais que podem ser usados como ferramentas úteis, ou mesmo como matéria prima para sua fabricação. Falótico et al. (2017), mostrou que a falta de alimentos preferenciais seria um fator improvável para prever a ocorrência de uso das ferramentas pelos macacos-prego do SCNP, o que dá suporte para a hipótese da oportunidade.

No nosso entendimento, as hipóteses da necessidade e da oportunidade não são mutuamente excludentes. O registo mais antigo do uso de ferramentas no SCNP (~3 mil anos) está no intervalo de tempo onde o semiárido se estabelece na Caatinga (6-2 mil anos), o que favorece a hipótese da necessidade, pelo menos como gatilho da inovação. Não obstante, os estudos (Falótico et al., 2017) também mostram que mesmo em épocas sazonais/anuais onde há abundância de alimentos preferenciais de fácil acesso, o uso de ferramentas segue regular, o que favorece a hipótese da oportunidade. Importante destacar também que para sabermos exatamente o gatilho que exerceu a pressão seletiva, que catalisou a inovação e que potencializou a aprendizagem social tanto horizontalmente quanto verticalmente, teríamos que ter o registo exato das condições ecológicas existentes na época em que estes eventos multifatoriais teriam ocorrido.

Não obstante não termos uma resposta definitiva sobre as forças seletivas por trás da inovação e manutenção da cultura adaptativa e autóctone observada entre os *S. libidinosus* do SCNP, é certo que estão bem adaptados ao bioma Caatinga, com população mostrando expansão. Esse aspecto de “cultura adaptativa, autóctone e relativamente estável ao longo de 3 mil anos”, também remete a atributos e condições, já descritos anteriormente para chimpanzés (Whiten et al., 2009): Há evidente presença de capacidades cognitivas que incluem potencial inovador significativo e apreciação de fatores causais relevantes (disponibilidade dos recursos, por exemplo), bem como prontidão para adquirir e transmitir inovações no uso de ferramentas. Além disso, observações através de experimentos controlados com *S. libidinosus* mostram também que estes além da capacidade de aprender socialmente, são capazes de reconhecer o comportamento mais eficiente de um indivíduo do grupo, quando comparado ao seu, de modo que passam a adotá-lo (Corat, 2017). Esses fatores, junto com um cérebro grande, se retroalimentam num vortex evolutivo *continuum*, também estariam relacionados com o alto e positivo índice de inteligência geral (g_s) observado no clado *Cebus/Sapajus*, o qual teria surgido independentemente dos outros três eventos dentro da ordem Primates (Reader et al., 2011). Em conjunto esses achados mostram uma flexibilidade comportamental notável, que responde a demanda/desafio ambiental, e um provável, mas até aqui bastante desconhecido,

repertório genético ligado a redes neurais, habilidades cognitivas, memória, tolerância e aprendizagem.

No caso dos *S. libidinosus* do TEP, a sugestão da existência de híbridos entre *S. apella*, *S. nigritus* e *S. libidinosus* baseados na cor da pelagem (Ferreira, 2004), não pode ser corroborada por dados do mtDNA apresentados aqui, já que todas linhagens são típicas de *S. libidinosus*. Pelas nossas análises são clados separados há 0,5-2,2 Ma (Figura 1). Devido à natureza da herança do mtDNA ser exclusivamente materna, cruzamentos assimétricos não podem ser descartados. Além disso, a análise de BSP com dados do TEP revelou uma leve diminuição no tamanho efetivo da população, com início há cerca de 1000 anos. Não obstante, existe a possibilidade de artefato devido ao N estudado ser pequeno e a população ser formada por indivíduos com origens possivelmente distintas.

Malukiewicz et al. (2014), baseado em dados do mtDNA (D-loop), estudaram populações de *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*, bem como zonas híbridas destas. Eles observaram evidências de que em algumas delas havia baixa variabilidade genética, enquanto que em outras, os níveis de variação genética eram comparáveis aos das populações parentais “puras” de *C. jacchus* e *C. penicillata*. Embora os autores salientassem que não haviam medido o efeito da hibridação na aptidão desses saguis, eles argumentaram que a variabilidade genética poderia correlacionar-se positiva e significativamente com o “condicionamento adaptativo” da população. Assim, nas zonas com baixa variabilidade, populações híbridas poderiam ser menos aptas do que as populações parentais das espécies “puras”. De fato, Cortés-Ortiz et al. (2007) usando dados moleculares de marcadores no mtDNA, no cromossomo Y e em cromossomos autossomos mostraram que em zonas híbridas somente as fêmeas F1 resultante de *Alouatta pigra* fêmea e *Alouatta palliata* macho são capazes de produzir descendentes F2 viáveis e férteis quando cruzam com machos *A. pigra* e *A. palliata* “puros”, ou machos híbridos, mas com cromossomo Y de origem *A. pigra*. De acordo com os autores (Cortés-Ortiz et al. 2007), esses achados seriam compatíveis com a regra de Haldane. Vale lembrar que Haldane em 1922 postulou que em um eventual estágio inicial de uma especiação, em uma espécie híbrida, um sexo é inviável ou estéril, sendo mais provável que seja o sexo heterogamético, no caso dos mamíferos o macho (Haldane, 1922).

Mourthe et. al (2018), por sua vez, usando dados de mtDNA e do cromossomo Y, mostraram que há cruzamentos bidirecionais entre *Alouatta caraya* e *Alouatta guariba clamitans*, ou seja, ambas direções de cruzamento (fêmea *Alouatta caraya* X macho *Alouatta guariba clamitans* ou macho *Alouatta caraya* X fêmea *Alouatta guariba clamitans*) estariam produzindo híbridos F1 viáveis. No presente estudo vimos só linhagens de mtDNA de *S. libidinosus*, de modo que, se é uma zona de hibridação, de alguma forma fêmeas “puras” de *S. libidinosus*, ou fêmeas híbridas, mas com mtDNA de *S. libidinosus*, estão de alguma forma tendo maior sucesso reprodutivo que outras e/ou que há inviabilidade da prole oriunda de cruzamentos diferentes, ainda mais considerando a possibilidade de híbridos de três espécies de *Sapajus*. Embora preliminar, esse dado já poderia ser considerado como uma possibilidade no manejo da população de macacos-prego no Parque Ecológico do Tietê, pois desconsiderá-lo pode levar ao insucesso reprodutivo, e conseqüentemente a uma baixa capacidade de a população introduzida sobreviver como “entidade autônoma”.

Desse modo, é bastante oportuno que estudos adicionais com mais dados populacionais, considerando marcadores do mtDNA, tal como o *CYTB*, marcadores do cromossomo Y, bem como sistemas genéticos biparentais, de *S. apella*, *S. nigritus*, e de mais populações de *S. libidinosus* sejam conduzidos.

V.2 Variações no sistema oxitocinérgico

V.2.1 OXT

Nosso estudo ampliou as informações sobre as formas de OXT em NWMs, o qual permite algumas observações. A família Pitheciidae, por exemplo, apresenta três variantes (Thr8OXT, Ala8OXT e Leu8OXT), que podem ter emergido entre 17,31 e 3,39 Ma (Figura 1). No clado são encontradas espécies monogâmicas ou poligâmicas, cuidado parental exercido pela fêmea ou por ambos os sexos, sendo parto de filhote único o mais comum. Na família Atelidae, também são observadas três formas (Phe2OXT, Leu8OXT e Pro8OXT), com apenas espécies poligâmicas, cuidado parental da fêmea e média de um filhote por gestação. Na família Cebidae todos portam a variante Pro8OXT, exceto *Saguinus* com a Val3Pro8OXT (uma forma derivada). Especificamente, na subfamília Callitrichinae é que são observadas essas duas formas de OXT, cuja presença de sinal de seleção positiva, coevolução com formas

cognatas de OXTR, funcionalidade e associação com os traços monogamia social, cuidado direto do pai e de outros machos e parto gemelar são bem documentados (Vargas-Pinilla et al., 2015; Ren et al., 2015; Parreiras-e-Siva, 2017; Vargas-Pinilla et al., 2017). Estudo *in vivo* de nosso grupo de pesquisa mostrou também a possível ação da variante *Cebidae* Pro8OXT e *Saguinus* Val3Pro8OXT na mudança de comportamento de ratos machos, reforçando sua funcionalidade em modular comportamentos complexos.

Note que *Callibela humilis*, *Callithrix kuhlii* e *Calimico goeldi* perdem uma ou mais dessas características, reforçando estudos de nosso grupo que mostram que outros elementos genéticos do sistema oxitocinérgico também estão envolvidos no ganho ou perda desses traços, de acordo com demandas ecológicas e distintas pressões seletivas (Vargas-Pinilla et al., 2015, 2016; Fam et al., 2019). Devemos lembrar que os genes do sistema oxitocinérgico apresentam efeito pleiotrópico e epistático, pois a evolução trabalha de modo coordenado no sistema como um todo. Ou seja, há um repertório genético táxon-específico por trás de traços adaptativos táxon-específicos antes do que somente uma ou duas variantes de grande efeito. Por isso salienta-se a importância dos estudos com os receptores de OXT e AVP, bem como outros genes da via, o que vem sendo feito por nosso grupo de pesquisa, inclusive na presente Dissertação (item abaixo).

Outro aspecto que merece destaque diz respeito à presença da variante Pro8OXT na espécie *S. libidinosus*, assim como em outros *Cebus* e *Sapajus*. Essas espécies não são caracterizadas por cuidado parental masculino direto, assim como não há relatos de que partos gemelares sejam comuns. No caso de *S. libidinosus*, não obstante ausência de cuidado do pai, os machos que utilizam ferramentas no SCNP apresentam tolerância para com os infantes, até mesmo com não relacionados por parentesco, que se aproximam para observá-los manusear as ferramentas e aprender os movimentos (Visalberghi et al., 2007; Ottoni e Izar, 2008; Mannu e Ottoni, 2009). Vale lembrar que os machos *S. libidinosus* mais velhos mais hábeis e tolerantes eram os mais observados (Coelho et al., 2015). Dessa forma, especulamos que variante funcional Pro8OXT pode estar relacionada a machos mais tolerantes (capazes de controle do estresse) em *S. libidinosus*, e que essa característica é possivelmente relevante para a transmissão social da cultura adaptativa observada nessa população. Variância intraespecífica,

ou seja, entre indivíduos da mesma população de *S. libidinosus*, deve estar ligada a outros elementos genéticos moduladores.

V.2.2 Receptores

A maior parte da variação nos receptores OXTR, AVPR1a e AVPR1b em *S. libidinosus* foram sinônimas. No entanto, algumas variações não sinônimas merecem destaque. Foram encontrados dois alelos (Leu e Pro) na posição 62 do receptor AVPR1b. Destacamos novamente que AVPR1b modula comportamentos importantes, como agressividade, ansiedade, e controle de estresse (Fam et al., 2019 e referências lá contidas). Para a posição 62 do AVPR1b do *Homo sapiens* é descrito uma variante com muito baixa frequência em europeus (rs782317607). Contudo, diferentemente do encontrado em nosso estudo, a variante relatada em europeus refere-se a uma substituição A>C, ocasionando a troca de leucina por arginina. Ou seja, dois alelos estariam segregando (Leu > Arg). O alelo com maior frequência (Leu) está também presente nos chimpanzés, bonobos, gorilas e orangotangos (*Pan troglodytes*, *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla* e *Pongo abelii*), além dos neandertais e o homem de Denisova (Fam et al., 2019), indicando ser o ancestral.

O fato de dois alelos (Leu e Pro) estarem segregando em NWMs, bem como em *S. libidinosus* como um polimorfismo intraespecífico pode ser explicado por alguns cenários: paralelismo molecular (substituição paralela). Substituições paralelas referem-se a alterações independentes do mesmo aminoácido ancestral para o mesmo aminoácido derivado (Storz, 2016). Nesse caso, mudanças de Leu para Pro ocorreram em pelo menos três eventos independentes, no ancestral das espécies da família Atelidae, no ancestral do gênero *Aotus* e no ancestral do clado *Cebus/Sapajus*. A presença de Pro em alguns indivíduos *S. libidinosus* do SCNP, no entanto, remete a outra possibilidade: polimorfismo trans-específico, ou seja, ambos alelos (Leu e Pro) estão segregando em pelo menos algumas espécies de NWMs, mas devido à escassez de estudos populacionais, essa informação até o momento está indisponível, exceto para *S. libidinosus*. Seja qual for a hipótese correta (paralelismo molecular ou polimorfismo trans-específico), ambas indicam cenário bastante complexo. Ainda, o alelo Pro na posição 62 de AVPR1b foi associado por nosso grupo de pesquisa com cuidado paterno em NWMs (Fam et al., 2019), considerando outro conjunto de dados, mas que se sobrepõe

aqueles apresentados aqui. Novamente, deve ser salientado que no ramo *Cebus/Sapajus*, onde Leu é mais prevalente, o cuidado paterno é ausente, porém, as observações na natureza relatam a grande tolerância de machos adultos com a aproximação dos infantes, imprescindível para que os mesmos possam aprender as técnicas para produzir e utilizar ferramentas através da observação (Mannu e Ottoni, 2009). Merece nota que um macho alfa, extremamente hábil no manejo de ferramentas e assim, bastante observado, chamado de Torto é portador do alelo Pro, assim como seu filho Capacete. Podemos sugerir que tal variante poderia estar conectada a possíveis variações intraespecíficas nos comportamentos já normalmente tolerantes de *S. libidinosus*, ainda mais considerando o papel de AVPR1b na modulação da agressividade, ansiedade e estresse (Fam et al., 2019 e referências lá contidas).

No que diz respeito à variante encontrada na posição 212 do receptor AVPR1b, as espécies *S. libidinosus* e *S. nigritus* apresentam uma metionina (Met; ATG) na posição e as demais espécies uma valina (Val; GTG). Em humanos, são descritos dois polimorfismos para essa posição: rs1005704550 e rs868952120. Entretanto, nenhum deles apresenta a mesma mutação encontrada nos *Sapajus* (mutação G>A): rs1005704550 descreve uma mutação de A>T, enquanto rs868952120 descreve uma mutação de C>T, ambos alelos ocorrendo em frequências baixas. Infelizmente não são relatadas as populações que esses polimorfismos ocorrem, nem tampouco se os mesmos apresentam consequências funcionais.

A deleção de aminoácidos da posição 245 a 248 encontrada no receptor AVPR1b em NWMs, inicialmente relatada por Fam et al. (2019) também é vista na espécie *S. libidinosus* do presente estudo. A deleção 245–248 foi significativamente associada ao cuidado paterno e à monogamia social em NWMs (Fam et al., 2019). Entretanto, como já comentado, os gêneros *Cebus* e *Sapajus* não exibem tais características comportamentais e carregam essa deleção, o que sugere que pode se tratar de uma deleção antiga na história dos Platyrrhini, pois todas as espécies analisadas até o momento apresentam tal deleção.

Para finalizar é importante dizer que somente estudos funcionais poderão relacionar as mutações não-sinônimas aqui descritas com alguma característica táxon-específica adaptativa ou mesmo intraespecíficas, pois a associação significativa entre variante genética e traço fenotípico não necessariamente é uma conexão real entre causa e efeito.

CAPÍTULO VI. CONCLUSÃO

O presente trabalho representa o início do estudo da variabilidade genética das populações de *S. libidinosus* do SCNP e do TEP. Inicialmente podemos destacar que evidenciamos a possibilidade desses estudos serem conduzidos de maneira não-invasiva, através da extração de DNA de amostras de fezes. Nossos dados mostram a separação entre *Cebus* e *Sapajus* em 6,20 Ma, no final do Mioceno. A separação entre *S. libidinosus* e *S. flavius* foi estimada em 0,50 Ma, em conformidade com o relato de estudos anteriores. A rede de haplótipos MJN, a BSP, o teste D de Tajima e o teste Fs de Fu indicam uma recente expansão demográfica da população de *S. libidinosus* do SCNP, entre 10-6 mil anos atrás. Sugerimos que o desenvolvimento da cultura, com uso de ferramentas na população do SCNP (~3 mil anos), que coincide com o intervalo do estabelecimento do clima semiárido na Caatinga (6-2 mil anos), também pode estar relacionado a esta expansão populacional (medido aqui pelo tamanho efetivo das fêmeas). Para a população do TEP foi observado um leve declínio recente no tamanho efetivo da população, de acordo com a BSP, o que pode se tratar de artefato devido ao N amostral ser baixo. Ainda, se há híbridos entre *S. apella*, *S. nigritus* e *S. libidinosus* no TEP, como indicam dados morfológicos, a natureza de tais eventos pode ser unidirecional, indicando cruzamentos preferenciais e/ou inviabilidade de certas combinações sexo/espécie, já que somente mtDNA *S. libidinosus* foi encontrado.

Registramos o primeiro relato que a variante funcional Pro8OXT está presente na espécie *S. libidinosus*, assim como relatamos pela primeira vez a diversidade de variantes de OXT em espécies de clados de NWMs nunca antes amostrados. Especulamos que Pro8OXT possa estar relacionada com a característica geral de machos tolerantes na espécie *S. libidinosus*, fator indispensável para a transmissão da cultura, por aprendizagem social. Foi observado um possível polimorfismo intraespecífico na posição 62 do receptor AVPR1b em *S. libidinosus* do SCNP, o que poderia, por sua vez, fazer parte do repertório genético que modula comportamentos adaptativos dentro da espécie *S. libidinosus*, e que estar ligado a variação dentro da espécie, ou seja, entre indivíduos na sua capacidade de controle do estresse, agressividade e tolerância.

Os resultados aqui apresentados são os primeiros estudos genéticos de *S. libidinosus* do Parque Nacional Serra da Capivara, uma população com cultura adaptativa autóctone, o que pode representar o ponto inicial de instigantes estudos na área.

REFERÊNCIAS

- Acher R, Chauvet J, Chauvet MT (1995) Man and the chimaera. Selective versus neutral oxytocin evolution. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 395:615–27.
- Allio R, Donega S, Galtier N, Nabholz B (2017) Large Variation in the Ratio of Mitochondrial to Nuclear Mutation Rate across Animals: Implications for Genetic Diversity and the Use of Mitochondrial DNA as a Molecular Marker. *Molecular Biology and Evolution* 34(11):2762–2772.
- Amaral AJ, Silva AB, Grosso AR, Chikhi L, Bastos-Silveira C, Dias D (2007) Detection of hybridization and species identification in domesticated and wild quails using genetic markers. *Folia Zoologica* 56: 285-300.
- Albers HE (2012) The regulation of social recognition, social communication and aggression: vasopressin in the social behavior neural network. *Hormones and Behavior* 6, 283–92.
- Anderson, S, Yates TL (2000) A new genus and species of phyllotine rodent from Bolivia. *Journal of Mammalogy* 8:18–36.
- Arrowsmith S, Wray S (2014) Oxytocin: its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *Journal of Neuroendocrinology* 26:356–69.
- Asher R (2007) A web-database of mammalian morphology and a reanalysis of placental phylogeny. *BMC Evol Biol* 7: 108.
- Aspé-Sánchez M, Moreno M, Rivera MI, Rossi A, Ewer J (2016) Oxytocin and Vasopressin Receptor Gene Polymorphisms: Role in Social and Psychiatric Traits. *Front Neurosci*. doi: 10.3389/fnins.2015.00510
- Bandelt HJ, Forster P, Sykes BC, Richards MB (1995) Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*. 141:743–753.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16:37-48.
- Barton RA (2006) Primate brain evolution: integrating comparative, neurophysiological, and ethological data. *Evol Anthropol* 15:224–236.
- Beck BB (1980) *Animal Tool Behavior: The Use and Manufacture of Tools by Animals*. Garland STPM Press, Michigan University, 307 pp.
- Behling H, Arz HW, Pätzold J, Wefer G (2000) Late Quaternary vegetational and climate dynamics in northeastern Brazil, inferences from marine core GeoB3104-1. *Quat Sci Rev* 19:981-994.
- Bendesky A, Bargmann CI (2011) Genetic contributions to behavioural diversity at the gene–environment interface. *Nat Rev Genet* 12:809–820.
- Bradley RD, Baker A (2001) A test of the genetic species concept: cytochrome-b sequences and mammals. *J Mammal* 82: 960–973.
- Brown WM, George M, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76:1967-1971.
- Burkett JP, Young LJ (2012) The behavioral, anatomical and pharmacological parallels between social attachment, love and addiction. *Psychopharmacology* 224:1-26.
- Busnelli M, Chini B (2017) Molecular basis of oxytocin receptor signalling in the brain: What we know and what we need to know. In: Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.
- Butynski TM (1982) Vertebrate predation by primates: a review of hunting patterns and prey. *J Hum Evol* 11(5):421–430.
- Caldwell HK, Lee HJ, Macbeth AH, Young WS (2008) Vasopressin: Behavioral roles of an “original” neuropeptide. *Progress in Neurobiology* 84:1–24.

- Caldwell HK, Young WS (2006) Oxytocin and vasopressin: genetics and behavioral implications. In: Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology. Springer. pp. 573–607.
- Camargo MR, Mendes FDC (2016) Induced Tool Use as Environmental Enrichment for Captive Capuchin Monkeys (*Sapajus libidinosus*). *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 32(spe), e32ne21.
- Campbell A (2010) Oxytocin and human social behavior. *Personality and social psychology review: an official journal of the Society for Personality and Social Psychology Inc*14:281-95.
- Canale GR, Guidorizzi CE, Kierulff MCM, Gatto CAFR (2009) First record of tool use by wild populations of the yellow-breasted capuchin monkey (*Cebus xanthosternos*) and new records for the bearded capuchin (*Cebus libidinosus*). *Am J Primatol* 71 (5):366–372.
- Cao L, Wu K (2019) Genetic Diversity and Demographic History of Globe Skimmers (Odonata: Libellulidae) in China Based on Microsatellite and Mitochondrial DNA Markers. *Scientific Reports*9:8619.
- Cardoso C, Orlando MA, Brown CA, Ellenbogen MA (2014) Oxytocin and enhancement of the positive valence of social affiliation memories: An autobiographical memory study. *Soc Neurosci e* 9:186–195.
- Casado F, Bonvicino CR, Nagle C, Comas B, Manzur TD, Lahoz MM, Seuánez HN (2010) Mitochondrial Divergence Between 2 Populations of the Hooded Capuchin, *Cebus (Sapajus) cay* (Platyrrhini, Primates). *Journal of Heredity*101(3):261–269.
- Cezar AM, Pessoa LM, Bonvicino CR (2017) Morphological and genetic diversity in *Callithrix* hybrids in an anthropogenic area in southeastern Brazil (Primates: Cebidae: Callitrichinae). *Zoologia (Curitiba)*34:e14881.
- Coelho CG, Falótico T, Izar P, Mannu M, Resende BD, Siqueira JO, Ottoni EB. (2015) Social learning strategies for nut-cracking by tufted capuchin monkeys (*Sapajus spp.*). *Anim Cogn*18(4):911-9.
- Cohen J (2007) Animal behavior. The world through a chimp's eyes. *Science* 316:44–45.
- Cole TM (1992) Postnatal heterochrony of the masticatory apparatus in *Cebus apella* and *Cebus albifrons*. *J Hum Evol* 23 (3):253–282.
- Corat SC (2017) Fatores sociais e cognitivos na difusão de novos padrões comportamentais em macacos-prego (*Sapajus libidinosus*) do Parque Nacional da Serra da Capivara – PI. Tese de doutorado em Psicologia Experimental. Instituto de Psicologia, USP, São Paulo.
- Cortés-Ortiz L, Duda Jr TF, Canales-Espinosa D, Garcia-Orduna F, Rodriguez-Luna E, Bermingham E (2007) Hybridization in large-bodied New World primates. *Genetics*, 176, 2421–2425
- Costa-Neto CM, Parreiras-e-Silva LT, Bouvier M (2016) A pluridimensional view of biased agonism. *Mol Pharmacol* doi:10.1124/mol.116.105940
- Coussi-Korbel S, Frigaszy DM. 1995. On the relation between social dynamics and social learning. *Anim Behav* 50:1441–1553.
- Crowley WR (2015) Neuroendocrine regulation of lactation and milk production. *Comprehensive Physiology* 5:255-91.
- Cruz FW, Vuille M, Burns SJ, Wang X, Cheng H (2009) Orbitally driven east–west antiphasing of South American precipitation. *Nat Geosci* 2:210-214.
- Daegling DJ (1992) Mandibular morphology and diet in the genus *Cebus*. *Int J Primatol* 13:545–570.
- Darriba D, Taboada G, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Meth.* 9:772.
- De Oliveira PE, Barreto AMF, Suguio K (1999) Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian Caatinga: the fossil dunes of the middle São Francisco River. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 152:319-337.
- De Medeiros VB, De Oliveira PE, Santos RA, Barreto AMF, De Oliveira MAT, Pinaya JLD (2018) New Holocene pollen records from the Brazilian Caatinga. *An. Acad. Bras. Ciênc* 201 90:2011-2023.

- De Souza IB, Artigas RC, Viana de Lima ER (2015). The Caatinga and desertification. *Mercator (Fortaleza)* 14 (1); <https://doi.org/10.4215/RM2015.1401.0009>.
- Donaldson ZR, Young LJ (2008) Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science* 322:900-4.
- Donaldson ZR, Young LJ (2013) The Relative Contribution of Proximal 5' Flanking Sequence and Microsatellite Variation on Brain Vasopressin 1a Receptor (*Avpr1a*) Gene Expression and Behavior. *PLoS Genetics* 9:e1003729.
- Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology* 7:214.
- Dunbar RIM (1995) Neocortex size and group size in primates: a test of the hypothesis. *J Hum Evol* 28:287–296.
- Elliot DG (1913) Review of the Primates. Monograph series Vol II. American Museum of Natural History, New York.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programsto perform population genetics analyses under Linux and Windows. *MolecularEcology Resources* 10:564-567.
- Falótico T, Ottoni EB (2013) Stone throwing as a sexual display in wild female bearded capuchin monkeys, *Sapajus libidinosus*. *PLoS One* 8(11):e79535.
- Falótico T, Ottoni EB (2014) Sexual bias in probe tool manufacture and use by wild bearded capuchin monkeys. *Behavioural Processes* 108:117–122.
- Falótico T, Siqueira JO, Ottoni EB (2017). Digging up food: excavation stone tool use by wild capuchin monkeys. *Sci Rep* 24;7(1):6278.
- Falótico T, Verderane MP, Mendonça-Furtado O, Spagnoletti N, Ottoni EB, Visalberghi E, Izar P (2018) Food or threat? Wild capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) as both predators and prey of snakes. *Primates* 59:99–106.
- Falótico T, Proffitt T, Ottoni EB, Staff RA, Haslam M (2019) Three thousand years of wild capuchin stone tool use. *Nat Ecol Evol*3:1034-1038.
- Fam BSO, Reales G, Vargas-Pinilla P, Paré P, Viscardi LH, Sortica VA, Felkl AB, de O Franco Á, Lucion AB, Costa-Neto CM, Pissinatti A, Salzano FM, Paixão-Côrtes VR, Bortolini MC (2019) AVPR1b variation and the emergence of adaptive phenotypes in Platyrrhini primates. *Am J Primatol*81:e23028.
- Feifel D, Macdonald K, Cobb P, Minassian A (2012) Adjunctive intranasal oxytocin improves verbal memory in people with schizophrenia. *Schizophr Res* 139: 207–210.
- Feldman R (2017). The neurobiology of human attachments. *Trends in Cognitive Sciences* 21:80–99.
- Ferreira RG (2004) Coalitions and Social Dynamics of a Semi-free Ranging Cebus Apella Group. Doctoral dissertation. University of Cambridge.
- Ferreira RG, Izar P, Lee PC (2006) Exchange, affiliation, and protective interventions in semifree-ranging brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Am J Primatol* 68(8):765-76.
- Ferreira RG, Jerusalinsky L, Silva TCF, de Souza Fialho M, de Araújo Roque A, Fernandes A, Arruda F (2009) On the occurrence of *Cebus flavius* (Schreber 1774) in the caatinga, and the use of semi-arid environments by cebus species in the Brazilian state of Rio Grande do Norte. *Primates* 50(4):357–362.
- Fong JJ, Brown JM, Fujita MK, Boussau B (2012) A phylogenomic approach to vertebrate phylogeny supports a turtle-archosaur affinity and a possible paraphyletic lissamphibia. *PLoS One*. 7(11):e48990.
- Ford SM, Hobbs DG (1996) Species Definition and Differentiation as Seen in the Postcranial Skeleton of *Cebus*. In: Norconk, M.A., Rosenberger, A.L., Garber, P.A. (Eds.), *Adaptive Radiations of Neotropical Primates*. Plenum Press, New York, pp.229–249.
- Fragaszy DM, Perry S (2003) Towards a biology of traditions. In: Fragaszy DM e Perry S (Eds.), *The biology of traditions: models and evidence*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 1–32.

- Fragaszy D, Izar P, Visalberghi E, Ottoni EB, Oliveira M. (2004) Wild capuchin monkeys use anvils and stone pounding tools. *Am J Phys Anthropol* 64:359–366.
- Franzen JL, Gingerich PD, Habersetzer J, Hurum JH, von Koenigswald W, et al. (2009) Complete primate skeleton from the Middle Eocene of Messel in Germany: morphology and paleobiology. *PLoS ONE* 4:e5723.
- French JA, Taylor JH, Mustoe AC and Cavanaugh J (2016) Neuropeptide diversity and the regulation of social behavior in New World primates. *Front Neuroendocrinol*. doi: 10.1016/j.yfrne.2016.03.004
- French JA, Cavanaugh J, Mustoe AC, Carp SB and Womack SL (2017) Social Monogamy in Nonhuman Primates: Phylogeny, Phenotype, and Physiology. *J Sex Res* 1–25. doi: 10.1080/00224499.2017.1339774
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915–925.
- Galtier N, Nabholz B, Glemin S, Hurst GDD (2009) Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol Ecol* 18:4541–4550.
- Gard PR, Naylor C, Ali S, Partington C (2012) Blockade of pro-cognitive effects of angiotensin IV and physostigmine in mice by oxytocin antagonism. *Eur J Pharmacol* 683: 155–160.
- Gilissen C et al. (2014) Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 511:344–347.
- Gimpl G, Fahrenholz F (2001) The oxytocin system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev* 81 :629–683.
- Goodall J (1986) *The Chimpanzees of Gombe: Patterns of Behavior* (Cambridge, MA, US: Harvard University Press).
- Goodson JL (2013). Deconstructing sociality, social evolution and relevant nonapeptide functions. *Psychoneuroendocrinology* 38:465–78.
- Giraldeau LA, Caraco Y, Valone T (1994) Social foraging: Individual learning and cultural transmission of innovations. *Behav Ecol* 5:35–43.
- Grinevich V, Knobloch-Bollmann HS, Eliava M et al. (2016) Assembling the puzzle: pathways of oxytocin signaling in the brain. *Biological Psychiatry* 79:155–64.
- Gruber CW, Koehbach J, Muttenthaler M (2012) Exploring bioactive peptides from natural sources for oxytocin and vasopressin drug discovery. *Future* 4:1791–98.
- Gruber CW (2014) Physiology of invertebrate oxytocin and vasopressin neuropeptides. *Experimental Physiology* 99:55–61.
- Gumert MD, Hoong LK, Malaivijitnond S (2011) Sex differences in the stone tool-use behavior of a wild population of Burmese long-tailed macaques (*Macaca fascicularis aurea*). *American Journal of Primatology* 73:1e11.
- Hall KRL, Schaller GB (1964) Tool-using behavior of the California sea otter. *Journal of Mammalogy* 45:287e298.
- Harrison ME, Marshall AJ (2011) Strategies for the use of fallback foods in apes. *Int. J. Primatol.* 32:531–565.
- Hawes JE, Peres CA (2014) Ecological correlates of trophic status and frugivory in neotropical primates. *Oikos* 123:365–77.
- Hunt GR (1996) Manufacture and use of hook-tools by New Caledonian crows. *Nature* 379:249e251.
- Insel TR (2010) The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron* 65:768–79.
- Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC (1991) Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.* 32:128–144.
- Izawa K (1979) Foods and feeding behavior of wild black-capped capuchin (*Cebus apella*). *Primates* 20(1):57–76.

- Izar P, Ferreira RG, Sato T (2006) Describing the organization of dominance relationships by dominance-directed tree method. *Am J Primatol* 68(2):189-207
- Johnson MR et al. (2016) Systems genetics identifies a convergent gene network for cognition and neurodevelopmental disease. *Nat Neurosci* 19:223–32.
- Kay RF, Madden RH, Plavcan JM, Cifelli RL, Guerrero-Diaz J (1987) *Stirtonia victoriae*, a new species of Miocene Colombian primate. *J Hum Evol* 16:173-196.
- Kay RF, Johnson DJ and Meldrum DJ (1998) A new pitheciid primate from the middle Miocene of Argentina. *Am J Primatol* 45:317-336.
- Kay RF, Fleagle JG, Mitchell TRT, Colbert M, Bown T, et al. (2008) The anatomy of *Dolichocebus gaimanensis*, a stem platyrrhine monkey from Argentina. *Journal of Human Evolution* 54:323–382.
- Kay RF, Fleagle JG (2010) Stem taxa, homoplasy, longlineages, and the phylogenetic position of *Dolichocebus*. *Journal of Human Evolution* 59:218–222.
- Kelaita MA, Cortés-Ortiz L (2013) Morphological variation of genetically confirmed *Alouatta Pigra* × *A. palliata* hybrids from a natural hybrid zone in Tabasco, Mexico. *American Journal of Physical Anthropology*, 150, 223–234
- Kelly AM, Goodson JL (2014). Social functions of individual vasopressin–oxytocin cell groups in vertebrates: What do we really know? *Frontiers in Neuroendocrinology* 35:512–29.
- Koehbach J, Stockner T, Bergmayr C et al. (2013) Insights into the molecular evolution of oxytocin receptor ligand binding. *Biochemical Society Transactions* 41:197–204.
- Koops K, Visalberghi E, van Schaik CP (2014) The ecology of primate material culture. *Biol Lett* 10:20140508.
- Kumar R, Pandey BK, Sarkar UK, Nagpure NS, Baisvar VS, Agnihotri P, Awasthi A, Mishra A, Kumar N (2019) Population genetic structure and geographic differentiation in butter catfish, *Ompok bimaculatus*, from Indian waters inferred by cytochrome b mitochondrial gene. *Mitochondrial DNA Part A* 28: 442-450.
- Laland, KN (2018) *Darwin's Unfinished Symphony: How Culture Made the Human Mind*. 1st edition. Princeton University Press, New Jersey, 464 pp.
- Langguth A, Alonso C (1997) Capuchin monkeys in the Caatinga: tool use and food habits during drought. *Neotrop Primates* 5:77–78.
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics* 30(22): 3276-3278.
- Latzman RD, Hopkins WD, Keebaugh AC, Young LJ (2014) Personality in chimpanzees (*Pan troglodytes*): Exploring the hierarchical structure and associations with the vasopressin V1A receptor gene. *PLoS ONE* 9(4):e95741.
- Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC (2003) *Ecologia e conservação da caatinga*. Recife: Ed. Universitária da UFPE. 822 p.
- Lee AG, Cool DR, Grunwald WC et al. (2011) A novel form of oxytocin in New World monkeys. *Biology Letters* 7:584–7.
- Lieberwirth C, Wang Z (2014) Social bonding: regulation by neuropeptides. *Frontiers in Neuroscience* 8.
- Lima MG, Buckner JC, Silva-Júnior JS, Aleixo A, Martins AB, Boubli JP, Link A, Farias IP, Silva MN, Röhe F, Queiroz H, Chiou KL, Fiore A, Alfaro ME and Lynch Alfaro JW (2017) Capuchin monkey biogeography: understanding *Sapajus* Pleistocene range expansion and the current sympatry between *Cebus* and *Sapajus*. *Journal of Biogeography* 44(4):810-820.
- Love TM (2014) Oxytocin, Motivation and the Role of Dopamine. *Pharmacol Biochem Behav* 119:49-60.
- Lynch Alfaro JW, Boubli JP, Olson LE, Di Fiore A, Wilson B, Gutierrez-Espeleta GA, Chiou KL, Schulte M, Neitzel S, Ross V, Schwochow D, Farias I, Janson C and Alfaro ME (2012) Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. *Journal of Biogeography* 39:272–288.

- Malukiewicz J, Boere V, Fuzessy LF, Grativol AD, French JA, de Oliveira e Silva I, Pereira LC, Ruiz-Miranda CR, Valença YM, Stone AC (2014). Hybridization effects and genetic diversity of the common and black-tufted marmoset (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*) mitochondrial control region. *Am J Phys Anthropol* 155:522-536.
- Mann J, Sargeant BL, Watson-Capps JJ, Gibson QA, Heithaus MR, Connor RC, Patterson E (2008) Why do dolphins carry sponges? *PLoS ONE*:e3868.
- Manning M, Misicka A, Olma A et al. (2012) Oxytocin and vasopressin agonists and antagonists as research tools and potential therapeutics. *Journal of Neuroendocrinology* 24:609–28.
- Mannu M, Ottoni EB (2009) The Enhanced Tool-Kit of Two Groups of Wild Bearded Capuchin Monkeys in the Caatinga: Tool Making, Associative Use, and Secondary Tools. *American Journal of Primatology* 71:242–251.
- Marshall AJ, Boyko CM, Feilen KL, Boyko RH, Leighton M (2009) Defining fallback foods and assessing their importance in primate ecology and evolution. *Am. J. Phys. Anthropol.* 140:603–614.
- Masterson TJ (1997) Sexual dimorphism and interspecific cranial form in two capuchin species: *Cebus albifrons* and *C. apella*. *Am J Phys Anthropol* 104:487–511.
- Martins-Junior AMG, Amorim N, Carneiro JC, Affonso PRAM, Sampaio I and Schneider H (2014) Aluelements and the phylogeny of capuchin (*Cebus* and *Sapajus*) monkeys. *American Journal of Primatology* 77:368–375.
- Martins-Junior AMG, Carneiro J, Sampaio I, Ferrari SF, Schneider H (2018) Phylogenetic relationships among Capuchin (Cebidae, Platyrrhini) lineages: An old event of sympatry explains the current distribution of *Cebus* and *Sapajus*. *Genetics and Molecular Biology* 41(3):699-712.
- Matsui A, Rakotondraparany F, Munechika I, Hasegawa M, Horai S (2009) Molecular phylogeny and evolution of prosimians based on complete sequences of mitochondrial DNAs. *Gene* 441:53–66.
- McGrew WC (2003) Ten dispatches from the chimpanzee culture wars. In: de Waal FBM, Tyack PL (Eds.), *Animal social complexity: intelligence, culture, and individualized societies*. Harvard University Press, Cambridge, pp. 419–439.
- McGrew WC (2010) Chimpanzee technology. *Science* 328:579–580.
- Mendes VR (2016) Registro sedimentar quaternário na Bacia do Rio Parnaíba, Piauí: um estudo multi-indicadores voltado à investigação de mudanças climáticas. IGC/USP, 100 p.
- Miyashita T, Coates MI, Farrar R, Larson P, Manning PL, Wogelius RA, Edwards NP, Bergmann JA, Palmer AR, Currie PJ (2019) Hagfish from the Cretaceous Tethys Sea and a reconciliation of the morphological–molecular conflict in early vertebrate phylogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(6):2146-2151.
- Mondin LAC, Machado CB, Resende EK, Marques DKS, Galetti Jr PM (2018) Genetic Pattern and Demographic History of *Salminus brasiliensis*: Population Expansion in the Pantanal Region during the Pleistocene. *Front. Genet.* 9:1.
- Moorjani P, Amorim CE, Arndt PF, Przeworski M (2016) Variation in the molecular clock of primates. *Proc Natl Acad Sci* 113(38):10607–10612.
- Moura ACA, Lee PC (2004) Capuchin Stone Tool Use in Caatinga Dry Forest. *Science* 306:1909.
- Moura ACA (2004) The capuchin monkey and the Caatinga dry forest: A hard life in a harsh habitat. PhD thesis, University of Cambridge.
- Moura ACA (2007) Stone banging by wild capuchin monkeys: an unusual auditory display. *Folia Primatol* 78(1):36–45.
- Mourthe I, Trindade RA, Aguiar LM, Trigo TC, Bicca-Marques JC, Bonatto SL (2018) Hybridization Between Neotropical Primates with Contrasting Sexual Dichromatism. *International Journal of Primatology*. 40:99–113.
- Mota L, Scheel-Ybert R (2019) Landscape and firewood use in Toca do Boqueirão da Pedra Furada (Piauí, Brazil) during early and Mid-Holocene. *J Archaeol Sci Rep* 23:281–290.
- Muniz L, Vigilant L (2008) Isolation and characterization of microsatellite markers in the white-faced capuchin monkey (*Cebus capucinus*) and cross-species amplification in other New World monkeys. *Molecular Ecology Resources* 8: 402–405.

- Mustoe A, Taylor JH, French JA (2018) Oxytocin structure and function in New World monkeys: from pharmacology to behavior. *Integr Zool* 13(6):634-654.
- Nace TE, Baker PA, Dwyer GS, Silva CG, Rigsby CA, Burns SJ, Giosan L, Otto-Blesner B, Liu Z, Zhu J (2014) The role of North Brazil Current transport in the paleoclimate of the Brazilian Nordeste margin and paleoceanography of the western tropical Atlantic during the late Quaternary. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 415:3-13.
- Navarrete AF, Reader SM, Street SE, Whalen A, Laland KN (2016) The coevolution of innovation and technical intelligence in primates. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 371:371.
- Novello VF et al. (2012) Multidecadal climate variability in Brazil's Nordeste during the last 3000 years based on speleothem isotope records. *Geophys Res Letters* 39:148-158.
- Numan M, Young LJ (2016) Neural mechanisms of mother-infant bonding and pair bonding: similarities, differences, and broader implications. *Hormones and Behavior* 77:98-112.
- Ocampo Daza D, Lewicka M and Larhammar D (2012) The oxytocin/vasopressin receptor family has at least five members in the gnathostome lineage, including two distinct V2 subtypes. *Gen Comp Endocrinol* 175:135-143.
- Oliveira CG, Gaiotto FA, Costa MA, Martinez RA (2011) Molecular genetic analysis of the yellow-breasted capuchin monkey: recommendations for *ex situ* conservation. *Genetics and Molecular Research* 10 (3): 1471-1478.
- Otoni EB, Mannu M (2001) Semifree-ranging Tufted Capuchins (*Cebus apella*) Spontaneously Use Tools to Crack Open Nuts. *International Journal of Primatology* 22:347-358.
- Otoni EB, Izar P (2008) Capuchin monkey tool use: overview and implications. *Evolut Anthropol* 17 (4):171-178.
- Overington S, Morand-Ferron J, Boogert NJ, Lefebvre L (2009) Technical innovations drive the relationship between innovativeness and residual brain size in birds. *Anim Behav* 78:1001-1010.
- Parreiras-e-Silva LT et al. (2017) Functional New World monkey oxytocin forms elicit an altered signaling profile and promotes parental care in rats. *Proc Natl Acad Sci* 114:9044-9049.
- Pennisi E (2006) Social animals prove their smarts. *Science* 312:1734-1738.
- Perelman P, Johnson WE, Roos C et al. (2011) A molecular phylogeny of living primates. *Plos Genetics* 7:e1001342.
- Perez SI, Tejedor MF, Novo NM, Aristide L (2013) Divergence Times and the Evolutionary Radiation of New World Monkeys (Platyrrhini, Primates): An Analysis of Fossil and Molecular Data. *PLoS One* 8:e68029.
- Perry S, Baker M, Fedigan L, Gros-Louis J, Jack K., MacKinnon KC, Manson JH, Panger M, Pyle K, Rose L (2003) Social conventions in wild white-faced capuchin monkeys: Evidence for traditions in a neotropical primate. *Curr Anthropol* 44:241-268.
- Perry S (2011) Social traditions and social learning in capuchin monkeys (*Cebus*). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 366:988-996.
- Pessenda LCR, Gouveia SEM, Ribeiro AS, De Oliveira PE, Aravena R (2010) Late Pleistocene and Holocene vegetation changes in northeastern Brazil determined from carbon isotopes and charcoal records in soils. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 297:597-608.
- Procyshyn TL, Hurd PL, Crespi BJ (2016) Association testing of vasopressin receptor 1a microsatellite polymorphisms in non-clinical autism spectrum phenotypes. *Autism Res* doi: 10.1002/aur.1716.
- Reader SM, Laland KN (2002) Social intelligence, innovation and enhanced brain size in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:4436-4441.
- Reader SM, Hager Y, Laland KN (2011) The evolution of primate general and cultural intelligence. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 366:1017-1027.
- Reader SM, Morand-Ferron J, Flynn E (2016) Animal and human innovation: Novel problems and novel solutions. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 371:371.

- Reis ACS (1976) Clima da caatinga. *An Acad Brasil Ciên* 48:325–335.
- Ren D (2014) Genetic Diversity of Microsatellite RS3 in AVPR1a Promoter Region in Primates. *Austin J Biotechnol Bioeng* 1(4):3.
- Ren D, Lu G, Moriyama H et al. (2015) Genetic diversity in oxytocin ligands and receptors in New World Monkeys. *Plos One* 10:e0125775.
- Resende BD, Ottoni E (2002) Ontogeny of nutcracking behavior in semifree-ranging group of tufted capuchin monkeys. Abstract of the XIXth Congress of the International Primatology Society 3190320.
- Ribeiro OPL, Vargas-Pinilla P, Kappel DB, Longo D, Ranzan J, Becker MM, Dos Santos Riesgo R, Schuler-Faccini L, Roman T, Schuch JB (2018) Evidence for Association Between OXTR Gene and ASD Clinical Phenotypes. *J Mol Neurosci* 65:213–221.
- Rilling JK, Young LJ (2014) The biology of mammalian parenting and its effect on offspring social development. *Science* 345:771–76.
- Rohl A. 2000. Network: Phylogenetic Network Analysis, v.3.1.1.1 Fluxus Technology, Ltd: Germany.
- Rosenberger AL, Hartwig WC, Takai M, Setoguchi T, Shigehara N (1991) Dental variability in Saimiri and the taxonomic status of Neosaimiri fieldsi, an early squirrel monkey from La Venta, Colombia. *Int J Primatol* 12:291–302.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol Biol Evol* 34:3299–3302.
- Salgado EV, Hevia JN, Nunes EP, Rodrigues MMA (2015) Rainfall patterns and the contribution of litter in the caatinga dry tropical forest I. *Revista Ciência Agronômica* 46:299–309.
- Schaik CP, Ancrenaz M, Borgen G, Galdikas B, Knott CD, Singleton I, Suzuki A, Utami SS, Merrill M (2003) Orangutan cultures and the evolution of material culture. *Science* 299:102–105.
- Seed A, Byrne R (2010) Animal tool-use. *Current Biology* 20:1032e1039.
- Silva JS Jr (2001) Especiação nos macacos-prego e cairaras, gênero *Cebus* Erxleben, 1777 (Primates, Cebidae). PhD Thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Silvestro D, Tejedor MF, Serrano-Serrano ML, Loiseau O, Rossier V, Rolland J, Zizka A, Antonelli A, Salamin N (2019) Early Arrival and Climatically-Linked Geographic Expansion of New World Monkeys from Tiny African Ancestors. *Systematic Biology* 68:78–92.
- Simon C, Buckley TR, Frati F, Stewart JB, Beckenbach AT (2006) Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Syst* 37: 545–579.
- Slatkin M, Hudson RR (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129:555–562.
- Sol D (2003) Behavioural flexibility: A neglected issue in the ecological and evolutionary literature? *Animal Innovation*, eds Reader SM, Laland KN (Oxford Univ Press, Oxford), pp 62–82.
- Song Z, Albers HE (2017). Cross-talk among oxytocin and arginine-vasopressin receptors: Relevance for basic and clinical studies of the brain and periphery. *Frontiers in Neuroendocrinology* 51:14–24.
- Spagnoletti N, Visalberghi E, Verderane MP, Ottoni E, Izar P, Frigaszy D (2012) Stone tool use in wild bearded capuchin monkeys, *Cebus libidinosus*. Is it a strategy to overcome food scarcity? *Animal Behaviour* 83(5):1285–1294.
- Springer MS, Meredith RW, Gatesy J, Emerling CA, Park J, Rabosky DL, Stadler T, Steiner C, Ryder OA, Janecka JE, Fisher CA, Murphy WJ (2012) Macroevolutionary dynamics and historical biogeography of primate diversification inferred from a species supermatrix. *PlosOne* 7:e49521.
- Stephan H, Bauchot R, Andy OJ (1970) Data on size of the brain and various brain parts in insectivores and primates. *The Primate Brain*, eds Noback CR, Montagna W (Appleton-Century-Crofts, New York), pp 289–297.

- Stoop R (2014) Neuromodulation by oxytocin and vasopressin in the central nervous system as a basis for their rapid behavioral effects. *Current Opinion in Neurobiology* 29:187–93.
- Storz JF (2016) Causes of molecular convergence and parallelism in protein evolution. *Nat Rev Genet* 17(4):239–250
- Suchard MA, Lemey P, Baele G, Ayres DL, Drummond AJ & Rambaut A (2018) Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10 *Virus Evolution* 4, vey016.
- Tabuce R, Asher RJ, Lehmann T (2008) Afrotherian mammals: a review of current data. *Mammalia* 72: 2–14.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595
- Takai M (1994) New specimens of *Neosaimiri fieldsi*, a middle Miocene ancestor of the squirrel monkeys from La Venta, Colombia. *J Hum Evol* 27:329–360.
- Tebich S, Taborsky M, Fessler B, Dvorak M (2002) The ecology of tool-use in the woodpecker finch (*Cactospiza pallida*). *Ecology Letters* 5:656–664.
- Tobe SS, Kitchener AC, Linacre AMT (2010) Reconstructing Mammalian Phylogenies: A Detailed Comparison of the Cytochrome b and Cytochrome Oxidase Subunit I Mitochondrial Genes. *PLoS ONE* 5(11): e14156.
- Turchetto C, Segatto AL, Beduschi J, Bonatto SL, Freitas LB (2015) Genetic differentiation and hybrid identification using microsatellite markers in closely related wild species. *AoB Plants* 7:plv084.
- Vallender EJ (2011) Comparative genetic approaches to the evolution of human brain and behavior. *Am J Hum Biol* 23:53–64.
- van Schaik CP, Knott CD (2001) Geographic variation in tool use on *Neesia* fruits in orangutans. *American Journal of Physical Anthropology* 114:331–342.
- van Schaik CP, Pradhan GR (2003) A model for tool-use traditions in primates: implications for the coevolution of culture and cognition. *J Human Evol* 44:645–664.
- van Schaik CP, Burkart JM (2011) Social learning and evolution: the cultural intelligence hypothesis. *Phil Trans R Soc B* 366:1008–1016.
- Vargas-Pinilla P, Paixão-Côrtes VR, Paré P, Tovo-Rodrigues L, Vieira CMAG, Xavier A, Comas D, Pissinatti A, Sinigaglia M, Rigo MM, Fioravanti Vieira G, Lucion AB, Salzano FM, Bortolini MC (2015) Evolutionary pattern in the OXT-OXTR system in primates: Coevolution and positive selection footprints. *Proc Natl Acad Sci* 112:88–93.
- Vargas-Pinilla P, Babb P, Nunes L, Paré P, Rosa G, Felkl A, Longo D, Salzano FM, Paixão-Côrtes VR, Gonçalves GL, Bortolini MC (2016) Progesterone Response Element Variation in the OXTR Promoter Region and Paternal Care in New World Monkeys. *Behav Genet* 47:77–87.
- Vaidyanathan R, Hammock EA (2017) Oxytocin receptor dynamics in the brain across development and species. *Developmental Neurobiology* 77:143–57.
- Verderane MP, Izar P (2019). Maternal care styles in primates: considering a New World species. *Psicologia USP*, 30, e190055.
- Vignaud P, Durringer P, Mackaye HT, Likies A, Blondel C, et al. (2002) Geology and palaeontology of the Upper Miocene Toros-Menalla hominid locality Chad. *Nature* 418:152–155.
- Visalberghi E, Frigaszy D, Ottoni E, Izar P, de Oliveira MG, Andrade FR (2007) Characteristics of hammer stones and anvils used by wild bearded capuchin monkeys (*Cebus libidinosus*) to crack open palm nuts. *Am J Phys Anthropol* 132(3):426–444.
- Vissers LELM, Gilissen C, Veltman JA (2015) Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet* 17:9–18.
- Vogel, G (1999) Chimps in the wild show stirrings of culture. *Science*, 284: 2070–2073.

- Wacker D, Stevens RC and Roth BL (2017) How Ligands Illuminate GPCR Molecular Pharmacology. *Cell* 170:414–427. doi: 10.1016/j.cell.2017.07.009.
- Wang X, Lim BK, Ting N, Hu J, Liang Y, Roos C, Yu L (2018) Reconstructing the phylogeny of new world monkeys (platyrrhini): evidence from multiple non-coding loci. *Current Zoology* 072.
- Westergaard GC, Fragaszy DM (1987) The manufacture and use of tools by capuchin monkeys (*Cebus apella*). *J Comp Psychol* 101:159–168.
- West-Eberhard MJ (2003) *Developmental Plasticity and Evolution* (Oxford Univ Press, Oxford).
- Whiten A, Goodall J, McGrew WC, Nishida T, Reynolds V, Sugiyama Y, Tutin CEG, Wrangham RW, Boesch C (1999) Cultures in chimpanzees. *Nature* 399:682e685.
- Whiten A, Horner V, Wall FB (2005) Conformity to cultural norms of tool use in chimpanzees. *Nature* 437:737–740.
- Whiten A, van Schaik CP (2007) The evolution of animal ‘cultures’ and social intelligence. *Phil Trans R Soc B* 362:603–620.
- Whiten A, Spiteri A, Horner V, Bonnie KE, Lambeth SP, Schapiro SJ, Wall FB (2007) Transmission of multiple traditions within and between chimpanzee groups. *Curr Biol* 17:1038–1043.
- Whiten A, Schick K, Toth N (2009) The evolution and cultural transmission of percussive technology: integrating evidence from palaeoanthropology and primatology. *J Hum Evol.* 57(4):420–435.
- Wright KA (2007) The relationship between locomotor behavior and limb morphology in brown (*Cebus apella*) and weeper (*Cebus olivaceus*) capuchins. *Am J Primatol* 69:736–756.
- Wright KA, Wright BW, Ford SM, Fragaszy D, Izar P, Norconk M, Masterson T, Hobbs DG, Alfaro ME, Lynch Alfaro JW (2015) The effects of ecology and evolutionary history on robust capuchin morphological diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 82:455–466.
- Yamashita K, Kitano T (2013) Molecular Phylogenetics and Evolution Molecular evolution of the oxytocin – oxytocin receptor system in eutherians. *Mol Phylogenet Evol* 67:520–528.
- Zheng L, Yang J (2017) Genetic diversity and population demography of the endemic species *Acrossocheilus longipinnis* (Teleostei, Cyprinidae) based on mtDNA COI and cyt b gene sequences. *Mitochondrial DNA Part A* 29: 403–408.

ANEXO 1

Espécies de primatas analisadas para os genes do sistema oxitocinérgico e suas respectivas referências.

Espécies	<i>OXT</i>	<i>OXTR</i>	<i>AVPR1a</i>	<i>AVPR1b</i>
<i>Alouatta caraya</i>	Ren et al. (2015)	KT182966.1	KJ641440.1	N/A
<i>Alouatta discolor</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Alouatta guariba</i>	Este trabalho	N/A	N/A	MK890323.1
<i>Alouatta ululata</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Aotus azarai</i>	N/A	KT182982.1	KJ641434.1	N/A
<i>Aotus nancymae</i>	JF315861.1	XM_012471068.2	ENSANAT00000044525.1	XM_012459204.1
<i>Aotus nigriceps</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Ateles belzebuth</i>	Ren et al. (2015)	KT182968.1	KJ641439.1	N/A
<i>Ateles geoffroyi</i>	Ren et al. (2015)	KT182967.1	KJ641438.1	N/A
<i>Ateles paniscus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Brachyteles arachnoides</i>	Este trabalho	N/A	N/A	MK890324.1
<i>Brachyteles hypoxanthus</i>	Ren et al. (2015)	KT182963.1	KJ641435.1	N/A
<i>Cacajao calvus</i>	Ren et al. (2015)	KT182972.1	KJ641444.1	N/A
<i>Cacajao melanocephalus</i>	KM186275	KM186287	N/A	MK890340.1
<i>Callibella humilis</i>	Este trabalho	N/A	N/A	MK890333.1
<i>Callicebus caligatus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callicebus caquetensis</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callicebus cupreus</i>	JF315862.1	KT182969.1	KJ641441.1	N/A
<i>Callicebus donacophilus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callicebus dubius</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callicebus personatus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callicebus coimbrai</i>	N/A	N/A	N/A	MK890339.1
<i>Callimico goeldii</i>	KM186267	KM186281	KJ641429.1	MK890335.1
<i>Callithrix argentata</i>	N/A	N/A	KJ641424.1	N/A
<i>Callithrix aurita</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Callithrix geoffroyi</i>	KM186262	KM186278	KJ641427.1	MK890327.1
<i>Callithrix jacchus</i>	XM_002747304.1	XM_002758625.1	ENSCJAT00000011866.4	XM_002760726.2
<i>Callithrix kuhlii</i>	Ren et al. (2015)	KT182976.1	KJ641423.1	N/A
<i>Callithrix penicillata</i>	Ren et al. (2015)	KT182978.1	N/A	N/A
<i>Callithrix pygmaea</i>	N/A	KT182973.1	N/A	MK890334.1
<i>Carlito syrichta</i>	N/A	N/A	XM_008074126.2	XM_008053930.1

<i>Cebuella pygmaea</i>	Este trabalho	KM186280	N/A	MK890334.1
<i>Cebus capucinus imitator</i>	XM_017504852.1	XM_017501600.1	ENSCCAT000000 28223.1	XM_017525482 .1
<i>Cercocebus atys</i>	N/A	XM_012059968.1	ENSCATT000000 64950.1	XM_012039814 .1
<i>Chiropotes albinasus</i>	KM186277	KM186289	N/A	MK890342.1
<i>Chiropotes chiropotes</i>	Ren et al. (2015)	KT182971.1	KJ641443.1	N/A
<i>Chiropotes satanas</i>	Este trabalho	KM186288.1	N/A	N/A
<i>Chiropotes utahickae</i>	KM186276	KM186288	N/A	MK890341.1
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	XM_008019220.1	XM_007985098.1	N/A	XM_007988695 .1
<i>Colobus angolensis palliatus</i>	N/A	XM_011961277.1	ENSCANT000000 33868.1	XM_004028271 .2
<i>Gorilla gorilla</i>	XM_031004971.1	XM_031009515.1	ENSGGOT000000 43433.1	XM_004028271 .3
<i>Homo sapiens</i>	NM_000915.3	NM_000916.3	ENST0000029917 8.3	NM_000707.3
<i>Lagothrix lagotricha</i>	Ren et al. (2015)	KT182964.1	KJ641436.1	N/A
<i>Lagothrix poeppigii</i>	Ren et al. (2015)	KT182965.1	KJ641437.1	N/A
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	KM186268	N/A	N/A	MK890329.1
<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Leontopithecus rosalia</i>	KM186269	KT182980.1	KJ641430.1	MK890328.1
<i>Macaca fascicularis</i>	N/A	NM_001319545.1	ENSMFAT000000 09170.1	NM_001287703 .1
<i>Macaca mulatta</i>	XM_001115045.2	NM_001044732.1	XM_001116798.4	NM_001246222 .1
<i>Macaca nemestrina</i>	N/A	XM_011734209.1	ENSMNET000000 45619.1	XM_011746878 .1
<i>Mandrillus leucophaeus</i>	N/A	XM_012000637.1	ENSMLT000000 34366.1	XM_012001007 .1
<i>Mico chrysoleucus</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Mico humeralifer</i>	KM186265	KM186279	N/A	MK890330.1
<i>Mico mauesi</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Mico melanura</i>	KM186263	N/A	N/A	MK890332.1
<i>Mico saterei</i>	KM186264	N/A	N/A	MK890331.1
<i>Microcebus murinus</i>	ENSMICT00000013 788.1	ENSMICG00000002 030.1	ENSMICT0000004 6693.2	XM_012761001 .1
<i>Nomascus leucogenys</i>	XM_003277949.2	XM_003264935.2	ENSNLET0000002 1789.3	XM_003272950 .3
<i>Otolemur garnettii</i>	XM_003788219.1	XM_003785470.1	ENSOGAT000000 31626.1	XM_003792217 .1
<i>Pan paniscus</i>	N/A	XM_024928337.1	ENSPPAT0000002 9514.1	XM_003822930 .3
<i>Pan troglodytes</i>	XM_002830099.1	XM_002813482.1	ENSPTRT0000007 3540.2	XM_525039.5
<i>Papio anubis</i>	XM_003904999.1	XM_003894143.1	ENSPANT000000	XM_003893207

			01750.2	.2
<i>Ptilocolobus tephrosceles</i>	N/A	N/A	XM_023225115.1	XM_023187029.2
<i>Pithecia mittermeier</i>	Este trabalho	N/A	N/A	N/A
<i>Pithecia pithecia</i>	Ren et al. (2015)	KT182970.1	KJ641442.1	N/A
<i>Pongo abelii</i>	XM_001160221.3	XM_001144020.3	ENSPPYT00000005588.2	XM_009238636.1
<i>Propithecus coquereli</i>	N/A	N/A	ENSPCOT00000015223.1	XM_012657858.1
<i>Rhinopithecus bieti</i>	N/A	N/A	ENSRBIT00000042068.1	XM_017880841.1
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	N/A	XM_010369904.2	ENSRROT00000054408.1	XM_010362490.1
<i>Saguinus bicolor</i>	KM186272	KM186282	N/A	MK890338.1
<i>Saguinus martinsi</i>	KM186271	KM186283	N/A	MK890337.1
<i>Saguinus midas</i>	Este trabalho	KT182981.1	KJ641431.1	N/A
<i>Saguinus niger</i>	KM186270	KM186284	N/A	MK890336.1
<i>Saimiri boliviensis</i>	XM_003941063.1	XM_003927113.2	ENSSBOT00000041523.1	XM_003930448.2
<i>Saimiri sciureus</i>	JF_315866.1	JF_330026.1	KJ641433.1	N/A
<i>Sapajus apella</i>	Ren et al. (2015)	KT182983.1	KJ641432.1	N/A
<i>Sapajus libidinosus</i>	Este trabalho	Este trabalho	Este trabalho	Este trabalho
<i>Sapajus robustus</i>	KM186273	KM186285	N/A	MK890326.1
<i>Sapajus xanthosternos</i>	KM186274	KM186286	N/A	MK890325.1
<i>Theropithecus gelada</i>	N/A	N/A	XM_025402843.1	N/A
<i>Tupaia chinensis</i>	XM_006163953.2	XM_006152039.1	N/A	XM_006159267.1

ANEXO 2

Espécies de primatas analisadas para o gene *CYTB* e suas respectivas referências.

Espécies	Número de acesso
<i>Alouatta_belzebul</i>	DQ387034.1
<i>Alouatta_caraya</i>	KT626649.1
<i>Alouatta_guariba</i>	KR528422.1
<i>Alouatta_sara</i>	KR902386.1
<i>Alouatta_seniculus</i>	HQ644333.1
<i>Alouatta_stramineus</i>	AF289983.1
<i>Aotus_azarai</i>	KC757385.1
<i>Aotus_infulatus</i>	HQ005494.1
<i>Aotus_lemurinus</i>	HQ005506.1
<i>Aotus_nancymae</i>	HQ005509.1
<i>Aotus_nigriceps</i>	HQ005498.1
<i>Aotus_trivirgatus</i>	HQ005499.1
<i>Aotus_vociferans</i>	HQ005503.1
<i>Ateles_belzebuth</i>	KR902369.1
<i>Ateles_geoffroyi</i>	KR902388.1
<i>Ateles_paniscus</i>	KM591218.1
<i>Brachyteles_arachnoides</i>	AF289989.1/KR528394.1
<i>Cacajao_ayresi</i>	EU560411.1
<i>Cacajao_hosomi</i>	EU560418.1
<i>Cacajao_melanocephalus</i>	FJ531649.1
<i>Callicebus_caquetensis</i>	KX353779.1
<i>Callicebus_coimbrai</i>	Este trabalho
<i>Callicebus_cupreus</i>	KC959986.1
<i>Callicebus_discolor</i>	KX353788.1
<i>Callicebus_donacophilus</i>	FJ785423.1
<i>Callicebus_lugens</i>	DQ337707.1
<i>Callimico_goeldii</i>	NC_024628.1
<i>Callithrix_geoffroyi</i>	KU253509.1
<i>Callithrix_jacchus</i>	AY434079.1
<i>Callithrix_kuhlii</i>	KU253510.1
<i>Cebuella_pygmaea</i>	NC_021942.1
<i>Cebus_albifrons</i>	KU694249.1
<i>Cebus_capucinus</i>	JN409305.1
<i>Cebus_kaapori</i>	KY173241.1
<i>Cebus_olivaceus</i>	FJ529106.1
<i>Chiropotes_albinasus</i>	NC_021946.1

<i>Chiropotes_chiropotes</i>	FJ531667.1
<i>Chiropotes_israelita</i>	KC592392.1
<i>Chiropotes_utahickae</i>	Este trabalho
<i>Gorilla_gorilla</i>	NC_011120.1
<i>Homo_neanderthalensis</i>	ENST00000361789
<i>Homo_sapiens</i>	J01415.2
<i>Lagothrix_lagothricha</i>	KC757398.1
<i>Leontopithecus_chrysomelas</i>	KR528398.1
<i>Leontopithecus_chrysopygus</i>	MG933868.1
<i>Leontopithecus_rosalia</i>	KR528404.1
<i>Mico_chrysoleucus</i>	KR528411.1
<i>Mico_humaralifer</i>	Este trabalho
<i>Mico_melanura</i>	Este trabalho
<i>Mico_saterei</i>	Este trabalho
<i>Pan_paniscus</i>	GU189672.1
<i>Pan_troglodytes</i>	JF727205.1
<i>Pithecia_irrorata</i>	AY226183.1
<i>Pithecia_monachus</i>	FJ531668.1
<i>Plecturocebus_miltoni</i>	KU694288.1
<i>Pongo_abelii</i>	U38274.1
<i>Saguinus_bicolor</i>	KR528403.1
<i>Saguinus_cruzlimai</i>	KP182174.1
<i>Saguinus_inustus</i>	KM370853.1
<i>Saguinus_labiatatus</i>	HM367996.1
<i>Saguinus_martinsi</i>	Este trabalho
<i>Saguinus_midas</i>	AJ489760.1
<i>Saguinus_mystax_mystax</i>	HM368011.1
<i>Saguinus_niger</i>	Este trabalho
<i>Saguinus_tripartitus</i>	HM368076.1
<i>Saimiri_boliviensis</i>	KR902432.1
<i>Saimiri_oerstedii</i>	HQ644336.1
<i>Saimiri_sciureus</i>	FJ785425.1
<i>Sapajus_apella</i>	KY173251.1
<i>Sapajus_cay</i>	FJ529060.1
<i>Sapajus_flavius</i>	KR528427.1
<i>Sapajus_libidinosus</i>	Este trabalho
<i>Sapajus_macrocephalus</i>	FJ529102.1
<i>Sapajus_nigritus</i>	KY173338.1
<i>Sapajus_robustus</i>	KR528406.1
<i>Sapajus_xanthosternos</i>	KY173341.1

ANEXO 3

Comportamentos sociais complexos em espécies de primatas e suas respectivas referências.

Espécies	Monogamia/poligamia	Referência	Cuidado parental	Referência	Prole	Referência
<i>Tupaia belangeri</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Otolemur garnettii</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Microcebus murinus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Pithecia pithecia</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Pithecia mittermeyer</i>	Monogamia	Reichard and Boesch, 2003	Feminino	Claussen, 1982	Apenas 1	Reichard and Boesch, 2003
<i>Pithecia monachus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Cacajao calvus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Cacajao melanocephalus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Chiropotes albinus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Chiropotes satanas</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Chiropotes chiropotes</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Chiropotes utahickae</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Callicebus donacophilus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Callicebus caligatus</i>	Monogamia	Ferrari et al., 2000	Ambos	Snowdon, 1990	Apenas 1	Ferrari et al., 2000
<i>Callicebus cupreus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Callicebus dubius</i>	Monogamia	Ferrari et al., 2000	Ambos	Snowdon, 1990	Apenas 1	Ferrari et al., 2000
<i>Callicebus personatus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity	Apenas 1	Animal Diversity

				Web		Web
<i>Callicebus caquetensis</i>	Monogamia	Ferrari et al., 2000	Ambos	Snowdon, 1990	Apenas 1	Ferrari et al., 2000
<i>Alouatta ululata</i>	Poligamia	Rímoli et al., 2012	Feminino	Pinto e Roberto, 2011	Apenas 1	Pinto e Roberto, 2011
<i>Alouatta caraya</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Alouatta discolor</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	mais de 1 (média 1)	Animal Diversity Web
<i>Alouatta guariba</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Lagothrix lagotricha</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Lagothrix poeppigii</i>	Poligamia	Fernández-Duque et al., 2012	Feminino	de Andrade et al., 2018	Apenas 1	de Andrade et al., 2018
<i>Brachyteles hypoxanthus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Brachyteles arachnoides</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Ateles paniscus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	mais de 1 (média 1)	Animal Diversity Web
<i>Ateles geoffroyi</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Ateles belzebuth</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Saimiri boliviensis</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Saimiri sciureus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Cebus capucinus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Sapajus libidinosus</i>	Poligamia	Di Bitetti and Janson, 2001	Feminino	Di Bitetti and Janson, 2001	Apenas 1	Di Bitetti and Janson, 2001
<i>Sapajus apella</i>	Poligamia	Di Bitetti and Janson, 2001	Feminino	Di Bitetti and Janson,	Apenas 1	Di Bitetti and Janson, 2001

				2001		
<i>Sapajus xanthosternos</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Sapajus robustus</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Feminino	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Aotus nancymaae</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Aotus azarai</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Aotus nigriceps</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Leontopithecus rosalia</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Callimico goeldii</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Callithrix aurita</i>	Poligamia	Coutinho and Corrêa, 1995	Ambos	Santos and Martins, 2000	mais de 1	Stevenson and Rylands, 1988
<i>Callithrix jacchus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Callithrix geoffroyi</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Callithrix kuhlii</i>	Poligamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Callithrix penicillata</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Cebuella pygmaea</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Callibela humilis</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	Apenas 1	Animal Diversity Web
<i>Mico saterei</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web

<i>Mico melanura</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Mico argentata</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Mico chrysoleucus</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Mico mauesi</i>	Poligamia	Ferrari, 2008	Ambos	Cezar et al., 2017	mais de 1	Ferrari, 2008
<i>Mico humeralifera</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Saguinus midas</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Saguinus niger</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Saguinus martinsi</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web
<i>Saguinus bicolor</i>	Monogamia	Animal Diversity Web	Ambos	Animal Diversity Web	mais de 1	Animal Diversity Web