Universidade de São Paulo
Instituto de Psicologia
Neurociências e Comportamento

Ricardo Lúcio Basso Rosa

Comunicação olfatória no roedor social
***Trinomys yonenagae* (Caviomorpha: Echimyidae)**

São Paulo
2011

Ricardo Lúcio Basso Rosa

Comunicação olfatória no roedor social

***Trinomys yonenagae* (Caviomorpha: Echimyidae)**

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo
para obtenção do título de
Mestre em Psicologia**

**Área de Concentração:
Neurociências e
Comportamento (NeC)**

**Orientadora: Profa. Dra
Elisabeth Spinelli de Oliveira**

**São Paulo
2011**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Rosa, Ricardo Lúcio Basso.

Comunicação olfatória no roedor social *Trinomys yonenagae* (*Caviomorpha:Echimyidae*) / Ricardo Lúcio Basso Rosa; orientadora Elisabeth Spinelli de Oliveira. -- São Paulo, 2011.

63 f.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Percepção olfativa 2. Habituação 3. Discriminação 4. Comunicação química animal 5. Rabo-de-facho (roedores) I. Título.

BF271

Nome: Rosa, Ricardo Lúcio Basso

Título: Comunicação olfatória no roedor social *Trinomys yonenagae* (Caviomorpha: Echimyidae)

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Psicologia
Área de concentração:
Neurociências e Comportamento
(NeC)**

Aprovado em:

Banca Examinadora

**Prof. Dr. _____
Julgamento: _____**

**Instituição: _____
Assinatura: _____**

**Prof. Dr. _____
Julgamento: _____**

**Instituição: _____
Assinatura: _____**

**Prof. Dr. _____
Julgamento: _____**

**Instituição: _____
Assinatura: _____**

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais Adilson e Sylvia, que sempre puseram minha educação em primeiro lugar.

À minha orientadora Elisabeth Spinelli de Oliveira pela ajuda durante todas as fases do meu trabalho, da elaboração do projeto até a conclusão da dissertação, e também por me dar a oportunidade de fazer parte do LECO.

A todo o pessoal do LECO, aos os que ainda fazem parte e aos que já não estão mais lá, por toda a ajuda durante a minha iniciação científica e meu mestrado. A Jorge Nei Silva de Freitas pela ajuda na confecção dos gráficos e com a estatística.

À Faculdade de Filosofia Ciências e Letras por me proporcionar o Laboratório de Ecofisiologia de Roedores Silvestres e o Biotério, onde pude realizar meus experimentos e desenvolver minha dissertação.

Ao Instituto de Psicologia por me dar a oportunidade de fazer o mestrado.

Às agências financiadoras FAPESP, pela verba de material, e CAPES, pela bolsa de mestrado.

*Milhares de gênios vivem e morrem
encobertos por si mesmos ou pelos
outros*

Mark Twain

Resumo

ROSA, R.L.B. **Comunicação olfatória no roedor social *Trinomys yonenagae* (Caviomorpha: Echimyidae)**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Vários aspectos do relacionamento entre mamíferos, como pareamento sexual e relações de grupo, requerem o reconhecimento de indivíduos. Sinais químicos são fundamentais nesse contexto, pois permitem a identificação individual e sexual. Roedores são animais que apresentam um senso olfatório muito desenvolvido e o empregam em sua comunicação social. Neste trabalho foi investigada a espécie de rato-de-espinho *Trinomys yonenagae*, conhecido como rabo-de-facho. *T. yonenagae* habita o semiárido, é colonial e fossorial. É uma das espécies mais conhecidas entre os equimídeos e um elemento-chave na “Área de Preservação das Dunas e Veredas do Médio São Francisco”, na Caatinga. Um paradigma habituação-discriminação foi usado para investigar a capacidade de *T. yonenagae* discriminar odores vindos da urina de conspecíficos desconhecidos. Foram usados: a) machos como sujeitos ($n = 8$) e fêmeas como doadoras ($n = 2$); b) fêmeas como sujeitos ($n = 8$) e machos como doadores ($n = 2$); c) machos como sujeitos ($n = 8$) e fêmeas como doadoras do pool de urina ($n = 8$); d) fêmeas como sujeitos ($n = 8$) e machos como doadores do pool de urina ($n = 8$). A duração de cada sessão dos testes foi de 10min. Durante três dias consecutivos o mesmo sujeito foi exposto ao odor A de um único doador. No quarto dia (teste de discriminação), o sujeito foi exposto simultaneamente ao odor A e ao odor de um novo doador (B), e o tempo de investigação de A e B foi medido. Não houve diferença significativa para as fêmeas, tanto na habituação [Anova, $F=0,82$; $p=0,454$] quanto na discriminação [teste t de Student [$t_7=1,078$; sig. (2-tailed)= $0,317$] quando o odor era individual. Porém, houve diferença estatisticamente significativa [$F=3,67$; $p=0,043$] tanto na habituação, como na discriminação [$t_7 = 3,605$; sig. (2-tailed)= $0,009$] quando as fêmeas investigaram o odor vindo de um pool de urina. Entre os machos, tanto no grupo de doadores individuais quanto no grupo do pool de urina houve diminuição significativa [$F=6,866$; $p=0,005$] e [$F=7,42$; $p=0,004$ (pool)] no tempo em que os animais investigavam o odor A, da primeira para a segunda e terceira habituação. Na discriminação, também houve diferença significativa [$t_7=4,466$; sig. (2-tailed)= $0,003$] e [$t_7=3,629$; sig. (2-tailed)= $0,008$ (pool)] sendo o odor B mais investigado do que o odor A. Os resultados indicam que *Trinomys yonenagae* pode discriminar odores de coespecíficos e que há diferenças entre machos e fêmeas. Essa capacidade é significativa para um roedor de pequeno porte, de vida colonial, fossorial e de baixo metabolismo.

Palavras-chave: Percepção olfativa; habituação; discriminação; comunicação química animal; rabo-de-facho

Abstract

ROSA, R.L.B. **Olfactory communication in the social rodent *Trinomys yonenagae* (Caviomorpha: Echimyidae)**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Many aspects of mammalian social relationships, such as sexual pair bonds and group relationships, require individual recognition. Chemical cues are essential in this context, because they allow individual and sexual identification. In this work, olfactory communication in the spiny rat *Trinomys yonenagae*, known as rabo-de-facho, was investigated. This species is colonial, fossorial and is endemic to sand dunes fields at the “Área de Preservação das Dunas e Veredas do Médio São Francisco”, in the arid Brazilian Caatinga. A habituation-discrimination paradigm was used in order to investigate if *T. yonenagae* is capable to discriminate scents from unknown conspecifics urine. The following groups were investigated: a) males as subjects ($n = 8$) and females as donors ($n = 2$); b) females as subjects ($n = 8$) and males as donors ($n = 2$); c) males as subjects ($n = 8$) and females as urine pool donors ($n = 8$); d) females as subjects ($n = 8$) and males as urine pool donors ($n = 8$). The period of each test session was 10 min. During three consecutive days the same subject was exposed to the odor of a single donor (A). At fourth day (discrimination test), the subject was exposed simultaneously to odor A and the odor of a new donor (B), and the investigation time of A and B was measured. There wasn't significant difference for females both during the habituation [Anova, $F=0,82$; $p=0,454$] and discrimination [Student t test – $t_7=1,078$; sig.(2-tailed)= $0,317$] tests, when the source of odor was individual. However, there were statistical differences [$F=3,67$; $p=0,043$] both at habituation and at discrimination [$t_7 = 3,605$; sig.(2-tailed)= $0,009$] tests, when females investigated the odor from the urine pool. For males, both individual urine scent and urine pool tests showed significant decrease [$F=6,866$; $p=0,005$ and $F=7,42$; $p=0,004$, respectively] of the time that males spent investigating odor A, from first to second and third habituation tests. At the discrimination test, in both groups odor B was significantly more investigated than odor A [$t_7=4,466$; sig.(2-tailed)= $0,003$] and [$t_7=3,629$; sig. (2-tailed)= $0,008$ (pool)]. The results indicate that *Trinomys yonenagae* is capable of discriminating odors from conspecifics, but in this context the behavior of males and females differs. This olfactory competence is compatible with the life-style, the habitat and the low metabolic rate found in *T. yonenagae*.

Keywords: Olfactory perception; habituation; discrimination; animal chemical communication; rabo-de-facho

Sumário

1. Introdução.....	8
1.1 – Olfacção: mecanismos anatômicos e fisiológicos.....	8
1.2 – Olfacção, memória e emoção.....	11
1.3 – Interações sociais e olfacção.....	13
1.4 – <i>Trinomys yonenagae</i> Rocha, 1995.....	16
1.5 - <i>Trinomys yonenagae</i> em estudos de contexto evolutivo.....	17
1.6 – <i>Trinomys yonenagae</i> e a comunicação olfatória.....	19
1.7 – Objetivo.....	22
 2. Material e Métodos.....	 23
2.1 - Sujeitos e condições de alojamento.....	23
2.1.1 – Coleta e armazenamento das amostras de urina.....	24
2.1.2 – Aparato experimental.....	25
2.2 – Procedimento.....	25
2.2.1 – Registros e análise do comportamento.....	26
2.3 - Análise estatística.....	26
 3. Resultados.....	 28
 4. Discussão.....	 35
Conclusão.....	44
 Bibliografia.....	 45
 Anexos (A-I).....	 55-63

1. Introdução

A comunicação química, que está presente nos grupos mais basais de metazoários, está vinculada à sobrevivência das espécies por participar dos comportamentos ingestivos (localização de alimentos), de defesa (localização presa/predador) e reprodutivos (localização do parceiro). Por sua importância é um sentido muito estudado em invertebrados e vertebrados, não sendo exceção a esta regra os mamíferos e mais precisamente os roedores, os quais dependem da olfação em questões muito importantes de sua vida social.

1.1. Olfacção: mecanismos anatômicos e fisiológicos

Os aspectos anatômicos e funcionais da olfação são relativamente bem conhecidos, e são temas de muitos trabalhos recentes mostrados na literatura. Na maioria dos mamíferos, sendo os primatas e cetáceos uma exceção, o epitélio olfatório é muito desenvolvido e localiza-se na parte superior da cavidade nasal (**fig. 1**). Basicamente neste epitélio estão os neurônios bipolares, dotados de axônio longo, cujo feixe forma os nervos olfatórios; e de dendrito único do qual se projetam cílios que contêm os receptores olfatórios, e que estão em contato com os odores presentes na cavidade nasal. Os nervos olfatórios dirigem-se ao bulbo olfatório, onde convergem nos dendritos das células mitrais formando os glomérulos olfatórios. Os axônios que emergem dos glomérulos formam o trato olfatório, o qual se projeta para o córtex olfatório. As projeções do bulbo olfatório ao córtex olfatório são diretas.

A figura 2 mostra que o processamento da olfação apresenta características próprias e envolve projeções ao córtex orbitofrontal via tálamo, que são responsáveis pela percepção e discriminação de odores, e para estruturas do sistema límbico. Essas projeções olfatórias límbicas são responsáveis por mediar os aspectos emocionais e motivacionais do olfato, como também muitos dos efeitos comportamentais e fisiológicos dos odores (ver livro-texto de KANDEL *et al.*, 2003).

Fig. 1. Uma visão simplificada da cavidade nasal e parte da via olfatória: os receptores moleculares estão nas membranas dos dendritos dos neurônios receptores, os feixes de axônios atravessam a lâmina cribriforme do etmóide, e projetam-se para os glomérulos no bulbo, o trato olfatório projeta-se para o córtex olfatório (traduzido de Leffingwell, 2002).

Vias básicas da informação olfatória no cérebro

Fig. 2. Diagrama representativo da olfação indicando as conexões olfatórias do sistema límbico, responsáveis pelo processamento dos componentes emocionais e de memória, assim como a via talâmica-cortical do reconhecimento consciente dos odores (modificado de Freeman, 1991).

Em 1991, o grupo de Linda Buck e Richard Axel apresentou a família de proteínas que corresponde aos receptores de odor (RO) e alguns dos genes responsáveis pela expressão dos RO. O uso de técnicas de biologia molecular, de cromatografia gasosa, de imagem e registros eletrofisiológicos, empregando roedores e drosófilas, mostrou que diferentes odores correspondem a diferentes padrões de atividade neuronal, como se cada odor possuísse seu próprio código de ativação. Os padrões de atividade parecem ser associados a comportamentos específicos, tais como, atração ou repulsão ao odor (AXEL, 2004; BUCK, 2004). Acredita-se que existam centenas de diferentes receptores, cada um deles codificado por um gene diferente. Cada neurônio olfatório possui moléculas receptoras para diferentes odorantes e cada substância odorante estimula diferentes neurônios (MALNIC *et al.*, 1999). A sensibilidade para cada tipo de substância estimulante parece ter uma distribuição espacial

própria na mucosa olfatória. Conforme a substância desloca-se ao longo da mucosa, cada neurônio sensível àquela substância produz seu próprio padrão temporal de resposta e transmite essa informação a núcleos integrados, que associam esse padrão com o odorante em particular (AXEL, 2004; BUCK, 2004; AXEL & BUCK, 1991). Para uma revisão dos principais aspectos anatômicos e funcionais da olfação em mamíferos ver MALNIC *et al.*, 1999; AXEL, 2004; BUCK, 2004 e os livros de ALBERTS *et al.*, 1997 e KANDEL *et al.*, 2003.

Como descrito, portanto, a olfação está intimamente associada aos centros da emoção e memória do encéfalo de mamíferos, o que faz com que este sentido exerça grande influência sobre aspectos motivacionais e associativos do comportamento, como será mostrado a seguir.

1.2. Olfação, memória e emoção

Evidências apontam que a percepção olfatória é altamente dependente do aprendizado e memória. Experimentos com seres humanos mostraram que odores familiares são identificados e discriminados mais rapidamente do que odores desconhecidos. Os mesmos experimentos também mostraram que os mamíferos têm dificuldade de identificar elementos odorantes dentro de uma mistura simples de odores. Isso porque os odores são codificados como entidades percebidas em sua totalidade no córtex piriforme, que é o córtex olfatório primário (WILSON & STEVENSON, 2003). Rabin & Cain (1984), testaram, em humanos, 80 tipos diferentes de odor, e seus dados também mostraram que a memória para odores é maior para aqueles odores que são familiares, isto é, que já são conhecidos por experiência prévia pelos sujeitos dos testes. Herz (1998), também em experimentos com humanos, usou estímulos visuais, táteis, auditivos e olfatórios, associando esses estímulos a certos eventos durante o período dos testes de memória associativa. Os estudos mostraram que o estímulo olfatório é semelhante aos outros estímulos, no sentido de elicitar memórias, isto é, no grau de

acurácia com que os eventos são lembrados. No entanto, os odores evocam memórias que têm um maior valor emocional ou afetivo.

Nenhum outro sistema sensorial em mamíferos possui o tipo de ligação direta que o sistema olfatório faz com os núcleos do sistema límbico da emoção e memória, o que explica porque memórias evocadas por odores são tão potentes emocionalmente (ver HERZ, 1996). Só duas sinapses separam o nervo olfatório da amígdala, a qual tem importante papel na expressão da emoção e memória emocional (ver CAHILL *et al.*, 1995). Somente três sinapses separam o nervo olfatório do hipocampo, envolvido na seleção e transmissão de informação na memória de trabalho, memória de curto e longo prazo e funções da memória declarativa (ver SCHWERTDTEGER *et al.*, 1990).

Inúmeros dados de experimentação animal indicam que a amígdala desempenha importante papel na olfação. Estudos com roedores silvestres mostram que lesões na amígdala prejudicam a memória olfatória relacionada a empareiramento sexual em *Microtus ochrogaster*. Em condições normais a fêmea tem a gravidez interrompida quando em contato com macho desconhecido, mas não quando em contato com o macho com o qual estão habituadas. Fêmeas com lesão na amígdala parecem não reconhecer o parceiro, tendo desta forma a gravidez interrompida (WOLFF, 2003).

A percepção do odor e o comportamento relacionado resultam da associação aprendida entre o odor e o contexto emocional no qual o odor foi encontrado pela primeira vez (ver HERZ, 2005). Um exemplo disso é que camundongos aprendem a associar um determinado odor com a recompensa de açúcar e um outro odor com a não-recompensa. No mesmo experimento, quando o animal é confrontado com amostras dos dois odores, passa mais tempo investigando o odor associado ao açúcar (SCHELLINCK *et al.*, 2001) do que ao odor sem recompensa. Em síntese, é de se esperar, portanto, que espécies com alta capacidade de memória, como é o caso dos mamíferos, estabeleçam associações relevantes entre odores e estratégias comportamentais, o que se mostra muito útil nas relações sociais destes animais.

1.3. Interações sociais e olfação

Vários aspectos do relacionamento entre mamíferos, como empareiramento sexual, hierarquia de dominância e relação em grupo, requerem a habilidade de reconhecer indivíduos. Isso pode, por exemplo, alterar o comportamento (amigável, hostil) entre dois indivíduos em um encontro direto. A habilidade de reconhecer, assim como, de responder a indivíduos em particular, é vantajosa em muitos contextos e situações sociais. Principalmente entre os mamíferos mais derivados, que são capazes de aprender e reter informações sobre determinado indivíduo e usar isso para um ajuste comportamental em um encontro posterior.

Sinais químicos (odores) podem oferecer informações sobre o gênero, o grau de maturidade sexual, o estado de saúde e a identidade individual (em BRENNAN, 2001). Sendo assim, os sinais químicos assumem, em pequenos mamíferos, o papel que outras características de atração sexual, tal como tamanho do corpo, armas e ornamentos, assumem em grandes mamíferos (revisto por BLAUSTEIN, 1981). A comunicação química pode ser vista como um modo relativamente pouco dispendioso de transmissão de informação para conspecíficos, em que as substâncias odorantes são sintetizadas pelo organismo do animal com um baixo custo energético e metabólico. É também considerada uma sinalização de longa duração (em FRANCESCO LI, 2000). Essas propriedades da comunicação química podem ser ainda mais relevantes para animais que habitam ambientes de condições extremas, como por exemplo, regiões áridas e ainda para aqueles que tenham baixos valores de metabolismo basal.

A sinalização social entre mamíferos envolve secreção, detecção e interpretação de marcas químicas. Em roedores estes sinais originam-se de glândulas, fezes e da urina; podendo ser liberados no ambiente e investigados posteriormente pelos outros indivíduos, ou ser liberados diretamente na presença do indivíduo receptor. Estes sinais diretos dividem-se, de acordo com o contexto social, em sinais de reconhecimento de identificação de indivíduos coespecíficos e de parceiros sexual, assim como sinais de alarme, usados durante interações

sociais agressivas (ALBERTS, 1992). Considera-se ainda que a olfação pode alterar os estados emocionais, exercendo dessa forma grande influência sobre o comportamento social de roedores.

A capacidade de diferenciar odores está envolvida com a escolha de parceiros. Hormônios produzidos pelos animais alteram as características da urina e podem, por exemplo, sinalizar estro nas fêmeas e status dominante do macho. Camundongos machos experientes sexualmente mostraram preferência por urina de fêmeas receptivas, em comparação à urina de fêmeas em diestro, indicando que hormônios produzidos no período receptivo aumentam a atratividade da urina da fêmea. O mesmo trabalho mostrou também que machos preferiram odores da urina de fêmeas com ovários retirados há pelo menos 14 dias, frente à urina de machos intactos, sugerindo que a discriminação entre as urinas de machos e fêmeas não depende exclusivamente de hormônios ovarianos (BEAUCHAMP, 1973).

Em linhagens de laboratório de camundongos, o odor dos machos causa diminuição da ansiedade em fêmeas e diminuição da atividade locomotora/exploratória em fêmeas receptivas, o que facilita o empareiramento e a cópula (BEHR *et al.*, 2009). Outro estudo mostrou também que, em camundongos machos, a urina de machos desconhecidos potencializa os comportamentos agressivos, úteis na defesa contra invasões do território e do grupo, enquanto que a urina de fêmeas tem ação inibitória sobre o comportamento agressivo exercendo, portanto, um efeito facilitador no empareiramento (DIXON e MACKINTOSH, 1971).

Ratos Wistar submetidos a choques inescapáveis nas patas excretam certas substâncias na urina e fezes, as quais, sendo percebidas por um rato-testemunha, causam aumento nos níveis de ansiedade, o que é indicado pelo aumento da locomoção e do comportamento de enterrar. Estudos do grupo submetido aos choques identificaram na urina altas concentrações de 2-heptanona, uma substância que já havia sido considerada como substância de alarme em insetos, mas cuja função em mamíferos é desconhecida. Os dados

indicam que também em roedores essa substância possa ter a função de induzir ansiedade e sinalizar perigo, promovendo a ação conjunta dos membros do grupo, nas respostas de defesa por conta do aparecimento de um predador ou a invasão do território (GUTIERREZ-GARCIA *et al.*, 2006).

A presença e o grau de vários componentes na urina de animais variam de acordo com o sexo, o status social e o ciclo estral das fêmeas (LIN *et al.*, 2005). Moléculas presentes na urina de fêmeas de mamíferos sinalizam a presença do estro (ver POOLE, 1985). Altos níveis de agressão das fêmeas são comuns quando elas estão reprodutivamente ativas, mas não estão receptivas. Neste contexto, os machos de várias espécies de roedores histricomorfos usam o mecanismo de “jatos de urina”, espalhando urina sobre as fêmeas durante a corte, o que familiariza a fêmea com o odor daquele macho, aumentando a tolerância e diminuindo a agressividade (ver KLEIMAN, 1974).

A informação transmitida pela urina depende também da dieta do animal, a qual pode influenciar os componentes e a atratividade da urina. Experimentos em laboratórios mostram que a urina de fêmeas de porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*) que foram alimentadas com comida de rato (linhagens albinas de *Rattus norvergicus*) se mostrou menos atrativa para os machos do que urina de fêmeas alimentadas com comida para porquinho-da-índia. O estudo concluiu que modificações significativas na dieta levam a alterações fisiológicas que produzem substâncias que são reconhecidas como exógenas (BEAUCHAMP, 1976). Este conjunto de dados evidencia ainda a participação de metabólitos excretados na urina em ajustes comportamentais, sejam eles derivados do metabolismo de hormônios ou da própria dieta.

Fêmeas de *Myodes glareolus* (espécie anteriormente conhecida como *Clethrionomys glareolus* ou “bank vole”) mostraram ser capazes de discriminar odores dos machos de acordo com o status dos mesmos: em testes de preferência de dupla escolha, as fêmeas foram mais atraídas por odores de machos dominantes do que de subordinados. Como os dominantes

possuem níveis mais elevados de testosterona, e a produção de atrativos sexuais é andrógeno-dependente, os dominantes têm prioridade na escolha das fêmeas. Fêmeas também demonstraram maior interesse por odores da região anogenital de machos intactos do que de machos castrados (KRUCZEK, 1994). Filhotes dessa espécie gerados a partir de fêmeas com machos dominantes tiveram maior índice de sobrevivência na infância e maior taxa de maturidade sexual do que filhotes de fêmeas que acasalaram com machos subordinados (KRUCZEK e ZATORSKA, 2008).

Em roedores a preferência das fêmeas por machos pode depender da frequência do contato de determinada fêmea com o odor de um macho em particular, servindo como estimativa da qualidade do macho, pois os machos dominantes marcam mais que os subordinados (TANG-MARTINEZ *et al.*, 1993). Portanto, como tem sido mostrado na literatura, a olfação desempenha um importante papel na vida social e nos mecanismos de empareiramento em roedores.

1.4. *Trinomys yonenagae* Rocha, 1995 (Rodentia, Hystricognathi, Caviomorpha, Echimyidae)

Os ratos-de-espinho (Rodentia, Echimyidae) formam o mais abundante grupo de mamíferos não-voadores nas florestas Neotropicais. *Proechimys* predomina na Amazônia e *Trinomys* na Mata Atlântica. O comportamento dos equimídeos é em geral relativamente pouco conhecido apesar da importância do clado. Uma exceção é *Trinomys yonenagae*, o rabo-de-facho, que constitui a única espécie endêmica de mamíferos de pequeno porte de uma área específica da Caatinga (ROCHA, 1992) dentro, portanto, de um bioma que sofre forte impacto de atividades humanas.

Em 1991, os rabos-de-facho foram coletados pela primeira vez, no paleodeserto de dunas fixas de 7.000 km², que está localizado na margem esquerda do rio São Francisco, BA, no domínio morfoclimático da Caatinga (RODRIGUES, 1991; ROCHA, 1992, 1995), e a

espécie foi descrita como *Proechimys* [*Trinomys*] *yonenagae*, Rocha, 1995). A região abriga uma fauna com altos índices de endemismos (RODRIGUES, 1996) e presentemente é reconhecida como “Área de Preservação Ambiental das Dunas e Veredas do Médio Rio São Francisco”, de acordo com o Centro de Recursos Ambientais da Bahia. A espécie passou a ser denominada *Trinomys yonenagae* Rocha, 1995 quando a monofilia de *Proechimys* foi revista e *Trinomys* foi elevado ao status de gênero (LARA *et al.*, 1996; LARA & PATTON, 2000; GALEWISK *et al.*, 2005).

1.5. *Trinomys yonenagae* em estudos de contexto evolutivo

Atualmente *T. yonenagae* é uma das espécies mais conhecidas entre os equimídeos (LUCESI, 2010; MIZUKAMI, 2010; FREITAS *et al.*, 2010, 2008, 2003; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2009; ALVES, 2008, 2005; CARMO, 2008; MANAF, 2005; RIOS, 2005; MONEA, 2004; NEVES, 2004; SANTOS, 2004; MANAF *et al.*, 2003a; MANAF *et al.*, 2003b; MANAF, 2000; SANTOS, 1997; ROCHA, 1995, 1992), e é adequada a estudos comparativos com outras espécies filogeneticamente próximas e de habitat distinto (ALMEIDA, 2008; ROCHA, *et al.* 2007; SALDANHA-FILHO, 2007; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2006; MARCOMINI, 2004; RIBEIRO, 2004; MARCONATO, 2003; SPINELLI OLIVEIRA, 2003; MANAF *et al.*, 2003a; MANAF *et al.*, 2003b; MARCOMINI & SPINELLI OLIVEIRA, 2000, 2003; MANAF, 2000; BARROS *et al.*, 1998; MENDES, 1998; FONSECA, 1998).

A história evolutiva da Caatinga sugere que *T. yonenagae* tem um ancestral de ambiente florestado úmido, o que se reflete na sua fisiologia. Estudos do balanço ingestivo, alimentar e hídrico (SPINELLI OLIVEIRA *et al.*, 1995; MENDES, 1998), e de parâmetros respiratórios e metabólicos indicam que *T. yonenagae* não se diferencia marcadamente de outras espécies de *Trinomys* que habitam florestas úmidas. Tanto a espécie do semi-árido como a da Mata Atlântica (*T. iheringi*) apresenta, por exemplo, taxa de metabolismo basal

mais baixa do que ratos de linhagem Wistar (BARROS *et al.*, 1998). Entretanto, *T. yonenagae* apresenta baixos valores da temperatura corporal, inferiores a de Wistar e *T. iheringi* (BARROS *et al.*, 1998; LUCHESI & SPINELLI OLIVEIRA, 2010). A baixa taxa de metabolismo e valores baixos temperatura corporal são consideradas como exaptações importantes para a sobrevivência do rabo-de-facho na Caatinga.

Há convergência de *T. yonenagae* com roedores de deserto com relação à morfologia: o tamanho do corpo e a massa corporal estão entre os menores do clado, a bula timpânica é inflada, a pelagem é críptica (relativamente mais clara), as patas posteriores são compridas, e a cauda é alongada e apresenta um pincel de pêlos na extremidade. Essa última característica é responsável pelo seu nome popular, rabo-de-facho, e é importante na estabilização da locomoção bípede no substrato arenoso (ROCHA, 1992; 1995; ROCHA, *et al.* 2007).

Do ponto de vista comportamental *T. yonenagae* também difere de outras espécies silvícolas do mesmo gênero (FREITAS *et al.*, 2008; FREITAS *et al.*, 2003; MANAF *et al.*, 2003a; MANAF *et al.*, 2003b; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000; MANAF, 2000), que são considerados terrestres, solitárias e territoriais (KLEIMAN, 1974; BERGALLO, 1995). Dados de campo descrevem os rabos-de-facho como fossoriais e coloniais: esses roedores constroem e mantêm galerias relativamente profundas (3 metros) e extensas (até 15 metros) onde passam o dia, e durante a noite forrageiam no ambiente aberto e claro das dunas (ROCHA, 1992), daí a importância da pelagem críptica encontrada nessa espécie.

Estudos no cativeiro também mostram que todos os ratos cavam, mesmo no substrato de maravalha ou areia das caixas de alojamento, embora existam significativas diferenças na frequência de cavar, independentemente do sexo, idade e massa corporal dos indivíduos, atributos que podem estar relacionados ao sistema social da espécie. Também mostram capacidade de enterrar sementes e depois recuperá-las, indicando que a memória e a

percepção olfativa são de relevância especial para esses roedores (MARCONATO, 2003; MIZUKAMI, 2010).

Os rabos-de-facho apresentam um padrão agregado de distribuição de adultos nas dunas (SANTOS, 2004; ROCHA, 1992). Estudos em cativeiro confirmam a existência de uma organização comunal caracterizada por um grande repertório de comportamentos afiliativos, o que inclui cuidado parental e aloparental, e alta tolerância intra-específica (FREITAS *et al.*, 2008; MANAF, 2005; FREITAS *et al.*, 2003; MANAF *et al.*, 2003a; MANAF *et al.*, 2003b; MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000; MANAF, 2000). Os dados também indicam um papel social diferenciado das fêmeas, tanto em estudos de campo (SANTOS, 2004) como em cativeiro (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2009; FREITAS *et al.*, 2003; FREITAS *et al.*, 2008; MANAF, 2000).

1.6. *Trinomys yonenagae* e a comunicação olfatória

Nos últimos anos vários estudos usando diferentes espécies de *Trinomys* têm contribuído para o entendimento da evolução de processos fisiológicos e comportamentais em animais do bioma neotropical - que tem particularidades próprias - já que grande parte da literatura sobre roedores é permeada pelo que Peter Slader chama de “*temperate bias*”.

Neste sentido *T. yonenagae* pode ser considerado um bom modelo para estudos sobre comunicação química. O modo de vida subterrâneo destes roedores favorece este tipo de comunicação, em oposição a outros. Embora a comunicação visual seja fundamental para a exploração do ambiente aberto das dunas - os rabos-de-facho apresentam grandes globos oculares - ela é de menor importância no interior dos túneis e galerias subterrâneas, onde os ratos permanecem durante o dia sem contato com a luz. Além do mais, os sinais químicos liberados pelos animais ficam confinados no interior dos túneis, aumentando sua disponibilidade e duração no meio. Em geral, considera-se que haja o favorecimento do uso

de sinais químicos na comunicação social em animais de vida fossorial (FRANCESCOLI, 2000), o que se aplicaria ao *T. yonenagae*.

Com relação ao ambiente árido da Caatinga haveria também uma pressão seletiva favorável à comunicação olfativa. Segundo Alberts (1992), a combinação de altas temperaturas e altas tensões de vapor d'água, condições encontradas no ambiente de florestas úmidas, afetaria a persistência de moléculas odoríferas, aumentando sua evaporação e, dessa forma, diminuindo a duração das marcas químicas. Em ambientes secos ocorreria o contrário. Assim, a Caatinga representa um ambiente com condições que favorecem o aumento da duração dos sinais químicos, reforçando as vantagens da comunicação olfativa para os indivíduos da espécie *T. yonenagae*.

Observações feitas em cativeiro sugerem que os indivíduos *T. yonenagae* interessam-se em investigar a urina uns dos outros (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2000). A importância da produção e percepção de odores nas relações de grupo em roedores coloniais e sociais é conhecida há alguns anos (MYKYTOWYCZ & GOODRICH, 1974). Portanto, o contexto social de *T. yonenagae* também favorece o uso da comunicação química. Marcas de odor num contexto social estimulam a aproximação e a interação social entre desconhecidos, contribuindo para a coesão social e diminuindo os níveis de agressividade entre os machos (RYAN *et al.*, 2008).

Alem do possível papel de sinais químicos na urina, um estudo histológico e comportamental demonstrou a presença de uma glândula anal sebácea de cheiro (GC) em *T. yonenagae* (MANAF *et al.*, 2003b). Esta glândula parece ser uma plesiomorfia de ratos-de-espinho já que várias espécies do clado (*Trinomys albispinus*, *T. iheringi*, *Proechimys cayennensis*, *Thrichomys apereoides* e *Clyomys bishop*) apresentam uma GC com características morfológicas semelhantes às do rabo-de-facho (MANAF & SPINELLI OLIVEIRA, 2006).

Os rabos-de-facho utilizam a comunicação olfatória pela GC durante interações diádicas com um co-específico desconhecido, independentemente do sexo, mas não durante a exploração de ambiente desconhecido. Esse sinal é considerado parte de uma seqüência de comportamentos afiliativos envolvidos com o reconhecimento de indivíduos ou classes de indivíduos, e com a redução da agressividade e aumentando a coesão social (MANAF *et al.*, 2003).

A GC libera um característico odor de *tutti-frutti*®, quando é evertida em um processo ativo que envolve a contração de uma espessa camada de musculatura esquelética que circunda o sítio de secreção. Esta característica anatômica também indica que a comunicação olfativa deva ser muito significativa para os rabos-de-facho.

Apesar de todos estes fatores não há na literatura nenhum trabalho sobre discriminação olfatória em nenhuma espécie do gênero *Trinomys* ou de equimídeos. O presente estudo é inédito e pretende contribuir para o conhecimento mais abrangente da comunicação olfatória em roedores, a partir de uma espécie neotropical que apresenta uma história evolutiva própria e com características bem diversas daquelas encontrada em roedores do clado dos sciurognatas, principalmente daqueles de habitat no hemisfério norte, que são o objeto majoritário de estudo sobre olfação.

1.7. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi o de investigar o reconhecimento e discriminação de odores no roedor social *Trinomys yonenagae* (Caviomorpha, Echimyidae). Para tanto foram usadas amostras de urina coletadas de doadores conspecíficos desconhecidos como fonte do odor, tanto em machos como fêmeas. De acordo com o paradigma habituação-discriminação (*sensu* HALPIN, 1986), a habituação ocorre quando o tempo gasto investigando o odor de um mesmo indivíduo diminui a cada teste, indicando que o animal reconhece esse odor como familiar. É de se esperar que um animal que perceba a diferença entre dois odores diferentes gaste mais tempo examinando o novo odor do que o odor a que ele está habituado. Neste trabalho será testada a seguinte hipótese: dadas as características do habitat, da anatomia e do padrão comportamental considera-se que *Trinomys yonenagae* seja capaz de discriminar diferenças no odor vindo da urina de indivíduos coespecíficos, sendo este odor vindo da urina de doadores individuais ou de um pool de vários doadores.

2. Material e Métodos

O procedimento experimental e a espécie animal foram os mesmo usados em um estudo-piloto já realizado durante a graduação pelo mestrando, e que foi apresentado como monografia para a obtenção do título de bacharel em Biologia, no Depto de Biologia, FFCLRP, USP, em julho de 2008.

2.1. Sujeitos e condições de alojamento

T. yonenagae adultos (massa: 130 ± 30 g), nascidos no Biotério do Departamento de Biologia da FFCLRP/USP (licença IBAMA 129/98) de matrizes coletadas no paleodeserto de dunas fixas da Vila de Ibiraba, Barra, BA ($10^{\circ}48'S$, $42^{\circ}50'W$). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas do tipo padrão para roedores de laboratório (40 x 34 x 16cm), limpas semanalmente e forradas de maravalha, colocadas em salas isoladas de interferências externas, com sistema de renovação de ar, temperatura e umidade constantes ($25 \pm 2^{\circ}C$), ciclo claro-escuro invertido (12h C: e 12h E, com luzes apagadas às 14h e acesas às 02h) e luminosidade entre três e 120Lux. Os animais receberam regularmente água e ração para roedores (NUVILAB) *ad libitum*, complementada com frutas, sementes e vitamina (Rarical®). Todos os procedimentos ocorreram de acordo com os princípios e normas éticas da legislação brasileira que dizem respeito à manutenção e uso de animais em experimentação. Todos os testes foram realizados com indivíduos isolados, isto é, que já estavam alojados individualmente (um indivíduo por gaiola) a pelo menos seis meses antes dos experimentos.

Para os testes de discriminação foram usados os seguintes grupos: oito machos como sujeitos e duas fêmeas (odor A e Odor B) como doadoras; oito fêmeas como sujeitos e dois machos como doadores; oito fêmeas como sujeitos e oito machos (pool de urina) como doadores; oito machos como sujeitos e oito fêmeas (pool) como doadoras. Nestes dois últimos grupos as amostras de urina coletadas de quatro doadores foram misturadas e então esta

mistura (pool) foi congelada e usada posteriormente como o odor A da habituação e discriminação. Outros quatro animais serviram de doadores para o odor B, usado na discriminação. Os indivíduos escolhidos como sujeitos eram desconhecidos dos indivíduos usados como doadores, e não tiveram, de forma alguma, contato prévio ou ficaram alojados juntos. Os testes foram feitos em uma sala isolada do Biotério com as mesmas condições ambientais do alojamento.

2.2. Coleta e armazenamento das amostras de urina

A urina foi coletada individualmente usando-se gaiolas metabólicas de aço (JONES *et al.*, 1993) modificadas para pequenos roedores (40 x 15cm) (Movart, Brazil), com funil e uma série de redes metálicas que servem de piso, o que permite a coleta separada de fezes e as amostras de urina (Figura 4). As amostras foram coletadas no dia anterior aos testes e armazenadas adequadamente no congelador.

Fig. 3 Terrário acrílico (20 x 22 x 34cm), com quatro tampas circulares e uma tampa retangular central, por onde o animal era introduzido no terrário antes dos testes.

Fig. 4 Gaiola metabólica (40 x 15cm) (Movart, Brazil). Para a coleta da urina o roedor é colocado no compartimento superior. A urina passa então pelo funil e cai no tubo conectado à boca do funil.

Fig. 3

Fig. 4

2.3. Aparato experimental para a realização dos testes

O aparato experimental consiste de um terrário acrílico (20 x 22 x 34cm), com uma tampa lateral de plástico opaco, a qual possui quatro aberturas circulares (raio: 3,5 cm), dispostas como um quadrilátero, sendo duas superiores (direita e esquerda) e duas inferiores (direita e esquerda), sendo que para a apresentação do odor aos animais foram usadas somente as duas aberturas inferiores (Figura 3). Essas entradas possuem encaixes para tampas vazadas duplas, que quando rosqueadas se prendem e fecham as entradas. Além dessas quatro aberturas existe ainda uma abertura quadrada no centro que foi utilizada para a introdução do animal dentro do terrário.

Para a apresentação do odor ao animal do teste foi usado papel de filtro, previamente recortado em círculos pouco menores que a tampa, de modo que se encaixasse entre as duas tampas vazadas do terrário. Antes de cada sessão de teste uma alíquota da urina foi descongelada e um volume de 50 µl retirado com pipeta Boeco (Germany), sendo este volume o mesmo para todos os testes. A urina foi então adicionada ao papel de filtro, o qual foi colocado entre as duas tampas circulares. Essas tampas, quando encaixadas, uma na outra, prendem o papel de filtro em seu interior, permitindo que o odor da urina seja investigado pelo animal sem que ocorra o contato dele com o papel. Um pedaço de papel de filtro das mesmas dimensões, sem amostra de urina, foi colocado da mesma maneira na abertura circular adjacente, entre as duas tampas circulares de plástico, sendo designado de controle.

2.4. Procedimento

Foi usado o paradigma de habituação-discriminação (*sensu* HALPIN, 1986), seguindo a modificação empregada por Swaisgood *et al.* (1999), para os testes de discriminação de odor. Em cada teste de habituação, feitos em três dias consecutivos, um mesmo indivíduo foi exposto ao odor de um único doador (odor A). No quarto dia o teste de discriminação foi feito apresentando-se ao indivíduo o odor A e o odor B coletado de um

outro doador. Em cada sessão de testes de habituação a posição do papel de filtro controle e daquele contendo o odor A foi trocada, a fim de se descartar a possibilidade de preferência do animal por um determinado lado.

Em todas as sessões experimentais, tanto de habituação como de discriminação, cada animal foi observado por 10 min. Durante este intervalo foi medido o tempo gasto pelo animal na investigação de cada abertura, contendo tanto a amostra de urina no papel de filtro, como a adjacente contendo o papel de filtro sem urina (controle), nos testes de habituação (odor A e controle) e no de discriminação (odor A, odor B). O critério para se determinar o início da investigação das amostras é aquele em que os animais aproximam/mantém o focinho a pelo menos um centímetro da superfície da tampa com o papel de filtro (controle e odor). As sessões foram filmadas para assegurar a precisão da medida e para a quantificação de outros parâmetros comportamentais, caso seja necessário.

2.5. Registro e análises do comportamento

Os registros foram feitos através de uma câmera portátil (marca Sony®, modelo Handycam Vision CCD-TRV15, sobre um tripé), sendo em seguida armazenados e analisados no computador. Posteriormente, os testes foram também analisados com auxílio do programa "*Etholog*" versão 2.2. (Ottoni, 2000).

2.6. Análises estatísticas

Os seguintes testes foram utilizados, de acordo com as características dos dados obtidos: Teste *t* de Student para diferença de médias; teste ANOVA para medidas repetidas; teste Tukey de comparação múltipla, de acordo com Zar (1996). Para os resultados dos testes de habituação nas três sessões foi usado o teste ANOVA para medidas repetidas para verificar se houve diminuição significativa entre os tempos de investigação do odor A na habituação. Os resultados da habituação (odor A pareado com controle) e da discriminação (odor A

pareado com odor B) foram analisados através do teste estatístico bi-caudal t de Student, para dupla pareadas. Também foi aplicado, para a análise das três sessões de habituação, o teste *post-hoc* de comparação múltipla de Tukey, para avaliar diferenças entre os tempos de investigação do odor A da sessão de habituação 1 em relação às sessões 2 e 3; sessão 2 em relação à 3.

Todos os procedimentos estatísticos foram efetuados através do programa “SPSS” (versão 13.0) com nível de significância (α) de 5%.

3. Resultados

Os animais exibiram um diversificado comportamento investigativo frente aos odores, nos testes de habituação e discriminação. Aparentemente os animais percebiam e investigavam o odor enquanto estavam explorando o terrário, parece que não detectavam o odor à distância. Houve algumas tentativas de morder e bater com as patas na tampa na qual o papel de filtro com o odor estavam. O interesse pelo odor diminuía ao longo do teste, sendo que apenas nos primeiros minutos a frequência e o tempo de investigação eram altos.

Fig. 5. Discriminação olfatória em machos de *Trinomys yonenagae* ($n = 8$) frente à urina de fêmeas adultas desconhecidas ($n = 1$ para odor A; $n = 1$ para odor B), sendo três sessões de habituação (1, 2 e 3) e uma de discriminação (4 e 5) de 10min cada. Pontos representam os tempos individuais de investigação do odor A nas sessões de habituação (1,2,3) e na discriminação (4); Odor B na discriminação (5). Barras indicam a média e o erro padrão. * $p < 0.05$

Como mostrado na Fig. 5, no grupo machos como sujeitos e fêmeas como doadoras, houve diminuição no tempo que os roedores gastaram investigando o odor A, da primeira sessão (17,2 segundos; SD = 13) para a segunda (5,5 s; SD = 3,6) e terceira (3,55 s; SD = 3),

caracterizando um processo de habituação – Anova [$F = 6,866$; $df = 21$; $p = 0,005$]. Também na sessão de discriminação, os machos gastaram um tempo significativamente maior investigando o odor B (10,65 s; $SD = 5,4$), quando comparado ao odor A (5 s; $SD = 3,6$) - teste t [$t_7 = 4,466$; sig. (2-tailed) = 0,003; valor crítico = 1,895]. O teste Post-Hoc de Tukey de comparações múltiplas mostrou que o tempo de investigação do odor A na sessão 1 da habituação diferiu estatisticamente do tempo de investigação nas sessões 2 [$p = 0,021$] e 3 [$p = 0,007$]. Porém, a sessão 2 não diferiu da sessão 3 [$p = 0,874$]. Em relação ao controle (não incluso no gráfico) – sessão 1 (3,0 s; $SD = 2,9$); 2 (2,8 s; $SD = 3,2$); 3 (2,7 s; $SD = 2,2$) - o tempo de investigação do odor A foi significativamente maior na primeira sessão de habituação [$t_7 = 3,629$; sig. (2-tailed) = 0,008], mas não na segunda [$t_7 = 1,478$; sig. (2-tailed) = 0,183] e terceira [$t_7 = 1,217$; sig. (2-tailed) = 0,263] sessões de habituação, indicando que, nas sessões 2 e 3, o odor A teve uma atratividade similar ao papel de filtro seco usado como controle.

Como mostrado na Fig. 6, para o grupo das fêmeas investigando a urina de doadores machos, não houve diferença estatisticamente significativa - teste Anova medidas repetidas [$F = 0,82$; $df = 21$; $p = 0,454$] - entre os tempos de investigação do odor A das sessões de habituação [sessão 1 – 10 s, $SD = 8,4$; sessão 2 – 7,2 s, $SD = 6,2$; e sessão 3 – 5,5 s, $SD = 6$]. Na sessão 4 (discriminação) não houve diferença estatisticamente significativa – teste t [$t_7 = 1,078$; sig. (2-tailed) = 0,317; valor crítico = 1,895] - entre o tempo gasto pela fêmea investigando o odor B [8,1 s; $SD = 8,7$] (urina do novo doador), quando comparado ao odor A [4,5 s; $SD = 6,2$] (urina apresentada nas sessões 1, 2 e 3). O teste Post-Hoc mostrou que o tempo de investigação do odor A na sessão 1 da habituação não diferiu estatisticamente do tempo de investigação nas sessões 2 [$p = 0,724$] e 3 [$p = 0,427$], assim como a sessão 2 não diferiu da sessão 3 [$p = 0,873$]. Quanto ao controle – sessão 1 (5,0 s; $SD = 3,0$); 2 (5,8 s; $SD = 8,7$); 3 (4,5 s; $SD = 3,1$) - neste grupo o teste t não indicou diferenças estatísticas em relação ao odor A em nenhuma das três sessões de habituação – sessão 1 [$t_7 = 1,924$; sig. (2-tailed) =

0,096]; sessão 2 [$t_7 = 0,862$; sig. (2-tailed) = 0,417]; sessão 3 [$t_7 = 0,570$; sig. (2-tailed) = 0,586].

Fig. 6

Fig. 6. Discriminação olfatória em fêmeas de *Trinomys yonenagae* ($n = 8$) frente à urina ($n = 1$ para odor A; $n = 1$ para odor B) de machos adultos desconhecidos, sendo três sessões de habituação (1, 2 e 3) e uma de discriminação (4 e 5) de 10min cada. Pontos representam os tempos individuais de investigação do odor A nas sessões de habituação (1,2,3) e na discriminação (4); Odor B na sessão de discriminação (5). Barras indicam a média e o erro padrão. * $p < 0.05$

Fig. 7

Fig. 7. Discriminação olfatória em fêmeas de *Trinomys yonenagae* (n= 8) frente à urina (n = 4 para odor A; n = 4 para odor B) de machos adultos desconhecidos, sendo três sessões de habituação (1, 2 e 3) e uma de discriminação (4 e 5) de 10min cada. Pontos representam os tempos individuais de investigação do odor A nas sessões de habituação (1,2,3) e na discriminação (4); Odor B na sessão de discriminação (5). Barras indicam a média e o erro padrão. *p< 0.05

O gráfico da Fig. 7 mostrou que, diferentemente dos resultados das fêmeas, frente à urina de dois doadores machos (Fig. 2), para este grupo, onde as fêmeas investigaram uma mistura (pool) de urina de oito doadores machos, houve diferença estatística significativa - teste Anova medidas repetidas [$F = 3,67$; $df = 21$; $p = 0,043$] - entre os tempos de investigação do odor A nas sessões de habituação [sessão 1 – 13 s, SD = 13,5; sessão 2 – 3,5 s, SD = 2,8; e sessão 3 – 3,4 s, SD = 2,15]. Na sessão 4 (discriminação) novamente houve diferença estatística significativa – teste t [$t_7 = 3,605$; sig. (2-tailed) = 0,009; valor crítico = 1,895] - entre o tempo gasto pela fêmea investigando o odor B [5,9 s; SD = 3,6] (pool de urina de quatro machos desconhecidos), quando comparado ao odor A [1 s; SD = 0,8] (pool de urina apresentada nas sessões 1, 2 e 3). Como indicado pelo teste Post-Hoc de Tukey, o tempo de investigação do odor A não diferiu estatisticamente da primeira sessão de habituação para a

segunda [$p = 0,073$] e terceira [$p = 0,069$], assim como a segunda sessão não diferiu da terceira [$p = 0,999$]. Porém, como já mostrado, quando analisadas em conjunto, o teste Anova medidas repetidas acusou diferença significativa entre as três sessões de habituação. Houve diferença estatística entre os tempos de investigação do controle [sessão 1 – 2,0 s, SD = 1,9; sessão 2 – 3,6 s, SD = 6,7; e sessão 3 – 2,6 s, SD = 2,5] e do odor A na sessão 1 de habituação, como indicado pelo teste t [$t_7 = 2,754$; sig. (2-tailed) = 0,042], mas não na sessão 2 [$t_7 = 0,025$; sig. (2-tailed) = 0,980] e sessão 3 [$t_7 = 0,570$; sig. (2-tailed) = 0,586].

Fig. 8

Fig. 8. Discriminação olfatória em machos de *Trinomys yonenagae* ($n = 8$) frente à urina ($n = 4$ para odor A; $n = 4$ para odor B) de fêmeas adultas desconhecidas, sendo três sessões de habituação (1, 2 e 3) e uma de discriminação (4 e 5) de 10min cada. Pontos representam os tempos individuais de investigação do odor A nas sessões de habituação (1,2,3) e na discriminação (4); Odor B na sessão de discriminação (5). Barras indicam a média e o erro padrão. * $p < 0,05$

O gráfico da Fig. 8 mostrou que, no grupo machos como sujeitos frente a um pool de urina de doadoras fêmeas ($n = 8$), houve diminuição significativa no tempo que os roedores

gastaram investigando o odor A, da primeira sessão (13,5 segundos; SD = 8,4) para a segunda (4,6 s; SD = 3,8) e terceira (3,5 s; SD = 3,5), caracterizando um processo de habituação – Anova [$F = 7,42$; $df = 21$; $p = 0,004$]. Na sessão 4 (discriminação) novamente houve diferença estatística significativa – teste t [$t_7 = 3,629$; sig. (2-tailed) = 0,008; valor crítico = 1,895] – entre o tempo gasto pela macho investigando o odor B (5,9 s; SD = 4,63), quando comparado ao odor A (1,5 s; SD = 1,95). Para este grupo, o teste de Tukey mostrou diferenças estatísticas entre as sessões de habituação 1 e 2 [$p = 0,013$] e entre as sessões 1 e 3 [0,006], mas não entre as sessões 2 e 3 [$p = 0,925$]. Em relação ao controle [sessão 1 – 4,0 s, SD = 1,8; sessão 2 – 2,7 s, SD = 2,25; e sessão 3 – 2,5 s, SD = 2,4], o odor A foi mais investigado na primeira sessão de habituação [$t_7 = 3,527$; sig. (2-tailed) = 0,010], mas não na segunda [$t_7 = 1,743$; sig. (2-tailed) = 0,125] e terceira [$t_7 = 0,620$; sig. (2-tailed) = 0,555] sessões de habituação.

Os gráficos de dispersão dos valores individuais (Fig. 5, 6, 7 e 8) mostraram uma grande variação do tempo de investigação do odor A, entre os sujeitos do teste, na primeira sessão de habituação dos três grupos experimentais, principalmente no grupo “fêmeas frente ao pool de urina dos machos”, onde apenas dois valores se destacam fortemente do resto do grupo, contribuindo para a elevação da média. Esta dispersão não se mostrou tão forte nas sessões de habituação 2 e 3, tão pouco nas sessões de discriminação, com exceção do grupo (Fig. 6) “fêmeas frente à urina de machos” (doadores individuais), onde dois dados (um para odor A e outro para Odor B) se destacaram do resto do grupo, contribuindo para a elevação da média.

Fig. 9

Fig. 9. Média dos tempos nas categorias comportamentais: Sem Atividade, Atividade e Cheirar, de fêmeas de *T. yonenagae* (n = 8) frente à urina de machos (n = 1 para odor A) (n = 1 para odor B), durante as sessões de habituação 1, 2 e 3, e na discriminação (4).

Como mostrado no gráfico (Fig.9) os animais apresentaram um alto nível de atividade em todas as sessões do experimento. As categorias “Cheirar”, em que foi medido o tempo que os animais cheiravam não apenas as aberturas com o papel de filtro, mas sim todo o terrário, e “Atividade”, que incluiu todo tipo de atividade que não fosse cheirar, tiveram tempos maiores do que a categoria “Sem Atividade”, em todas as sessões. Na sessão de discriminação (4), onde o teste t não indicou diferença significativa entre os tempos de investigação do odor A e odor B, houve o maior nível de atividade, bem como a maior diferença entre a categoria “Sem Atividade” e as categorias “Cheirar” e “Atividade”. A falta de discriminação das fêmeas neste grupo não pode ser atribuída à baixa atividade exploratória, já que os dados mostram grande atividade em todas as sessões dos testes.

4. Discussão

Os resultados dos testes apóiam a hipótese de que *T. yonenagae* seja capaz de discriminar odores de coespecíficos. Os resultados obtidos indicaram que, nos grupos machos como sujeitos e fêmeas como doadoras (individuais), e no grupo fêmeas como sujeito e machos como doadores (pool), estatisticamente houve habituação com o odor A e discriminação entre o odor A (habitado) e o novo odor (B), corroborando a hipótese que *Trinomys yonenagae* pode discriminar odores individuais de conspecíficos. Porém, no grupo em que as fêmeas investigaram o odor vindo de apenas dois doadores machos, não houve diferença estatística na habituação, e tão pouco na discriminação. A falta de interesse pelo odor dos machos, como também a não ocorrência de discriminação neste último grupo, podem indicar uma menor atratividade da urina dos dois doadores em particular, pois quando a urina veio do pool de oito doadores, os dados indicaram um maior interesse e discriminação significativa por parte das fêmeas.

Há vários trabalhos na literatura relatando experimentos de discriminação olfatória em mamíferos e mais especificamente em roedores, realizados com protocolos semelhantes ao que foi empregado no presente estudo. Zenuto e Fanjul (2002), no trabalho de discriminação olfatória com o tuco-tuco (*Ctenomys talarum*), um roedor caviomorfo relativamente próximo filogeneticamente aos equimídeos, deixavam amostras do odor da habituação durante toda a noite dentro da gaiola dos sujeitos do experimento, entre as sessões de teste da habituação. O odor era retirado da gaiola uma hora antes de se iniciarem os testes. Swaisgood *et al.* (1999), no trabalho sobre discriminação olfatória no panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), usou o mesmo procedimento de habituação usado por Zenuto e Fanjul (2002). Ambos os trabalhos demonstraram que houve discriminação olfatória pelos sujeitos do experimento. No presente trabalho, porém, o período de habituação dos sujeitos ao odor A limitou-se aos 10 minutos de

cada teste de habituação, não havendo uma exposição adicional ao odor A durante a noite, como foi feito nos dois trabalhos anteriores.

Tang-Martinez *et al.* (1993), em seu experimento de discriminação olfatória no hamster dourado (*Mesocricetus auratus*), usou, como no presente trabalho, 10 minutos como período de habituação para fêmeas expostas ao odor de doadores machos. A diferença em relação ao presente trabalho é que, para as fêmeas do hamster dourado, havia apenas uma sessão de habituação, sendo que logo após esta sessão havia o teste de discriminação, onde eram confrontados o odor apresentado na breve habituação e o odor de um novo doador. Esse método se mostrou adequado e suficiente, pois os experimentos demonstraram que houve discriminação pelas fêmeas em relação ao odor dos machos. O hamster dourado mostrou menor discriminação para fezes, discriminação razoável para urina e discriminação maior para maravalha e odor vindo de glândulas.

Um estudo piloto, realizado antes do início dos testes do atual trabalho, mostrou que a metodologia adotada aqui, com três sessões de habituação de 10 minutos cada seria adequada para que os sujeitos se habituassem ao odor A. Diferentemente do atual trabalho, que só usou urina como fonte de odor, muitos dos trabalhos de discriminação realizados com roedores fizeram uso de mais de uma fonte de odor em seus experimentos. Existem várias descrições de diferenças nos níveis de discriminação em relação às diferentes fontes de odor usadas, bem como a total falta de discriminação para alguns odores. Halpin (1974), usando gerbils (*Meriones unguiculatus*), e Newman e Halpin (1988), no trabalho com o camundongo-da-pradaria (*Microtus ochrogaster*), encontraram altos níveis de discriminação para maravalha, baixos níveis para urina e nenhuma discriminação para fezes. Martin e Beauchamp (1982) relataram, em experimentos com cobaias machos, taxas maiores de discriminação para odores de secreções glandulares, em relação à urina. No atual trabalho, a urina, em vez das fezes, foi usada como fonte de odor porque em todos os trabalhos citados até aqui as fezes, dentre todas as fontes de odor usadas, tiveram o menor grau de

discriminação, bem como despertou um menor interesse de investigação. A urina, em vez da maravalha, foi escolhida porque sua estocagem em grande quantidade para uso posterior se mostrou muito mais viável do que a maravalha.

A capacidade de diferenciar entre um odor ao qual o animal está habituado e um novo odor assume um importante papel em aspectos do comportamento social em roedores, como por exemplo, no acasalamento e reconhecimento de parceiros. Os resultados das sessões de habituação indicam uma diminuição não significativa no tempo em que as fêmeas investigaram o odor vindo de doadores individuais machos. Porém, os resultados indicaram que as fêmeas se habituaram ao odor vindo de um pool de quatro doadores machos, indicando que elas tem a capacidade de discriminar. Essa capacidade tem implicações sobre aspectos da vida social deste roedor, como o empareiramento.

Trabalhos têm mostrado que fêmeas de várias espécies de roedores exibem menor agressividade quando habituadas ao odor do parceiro. Tang-Martinez *et al.* (1993) verificaram que fêmeas de hamster dourado exibiram menor agressividade e um maior nível de interação com o macho cujo odor estavam habituadas, em relação a machos desconhecidos. Além disso, essas fêmeas tiveram ninhadas maiores, em relação às fêmeas que tiveram filhotes com machos ao quais não estavam habituadas. Estresse e agressão diminuem a progesterona circulante no organismo da fêmea, causando falhas na implantação do óvulo no útero e reabsorção do feto. Dessa forma, é sugerido que a familiaridade da fêmea com o odor do macho facilita o acasalamento, influencia na escolha da fêmea, afetando o sucesso reprodutivo de ambos os sexos (TANG-MARTINEZ *et al.*, 1993). Se uma fêmea de camundongo, que está grávida e junto ao parceiro ao qual está habituada, é exposta por determinado tempo à urina de um macho desconhecido, a gravidez é interrompida (ver livro-texto de KLEIMAN, 1974). Coopersmith e Banks (1983), em seus experimentos com o lemingue marrom (*Lemmus trimucronatus*), relataram que em casais de roedores em que a fêmea estava habituada ao odor do macho o comportamento sexual é facilitado, contatos

sociais acontecem com maior frequência e os machos ejaculam mais, em relação aos machos aos quais as fêmeas não estavam habituadas.

Sinais químicos precisam ser altamente polimórficos, a ponto de cada indivíduo possuir uma assinatura única. Muitos genes influenciam odores direta e indiretamente, alterando níveis hormonais e outros metabólitos. O MHC (complexo de histocompatibilidade) é considerado um dos responsáveis pelas diferenças individuais nos odores. Ratos e camundongos já mostraram ser capazes de discriminar odores de indivíduos que diferiam somente em um alelo dentro da região do MHC. Odores associados ao MHC são usados, por exemplo, na escolha de parceiros e reconhecimento de parentesco. Vários experimentos recentes têm mostrado que a preferência aos odores de conspecíficos varia com a idade do indivíduo receptor. Em um teste de dupla escolha, machos de "bank vole" em idade pré-pubertal se interessaram mais por urina de fêmeas conhecidas. Com a maturidade sexual, porém, tanto machos quanto fêmeas preferiram odores vindos de indivíduos desconhecidos (KRUCZEK, 2003).

Na fase do desmame fêmeas do camundongo-do-pinheiral (*Microtus pinetorum*) mostraram preferência por odores familiares. Porém, com a idade, passaram a preferir odores de conspecíficos desconhecidos do sexo oposto (SOLOMON, 1999). Fêmeas de "bank vole" em idade pré-pubertal preferiram odor de machos conhecidos e seus irmãos que foram criados juntos no ninho, frente a odores de machos desconhecidos e irmãos biológicos que foram criados em outro ninho. Com a maturidade sexual, estas mesmas fêmeas passaram a preferir odores vindos de machos desconhecidos, frente a odores vindos de seus irmãos, sugerindo que fêmeas pré-pubertais usam um mecanismo de associação social, baseado na familiaridade, enquanto que fêmeas maduras sexualmente usam mecanismos genéticos (ajuste fenotípico) como critério de preferência de odores nos testes (KRUCZEK, 2007). A preferência de adultos por odores de indivíduos desconhecidos pode ser visto como uma estratégia que evita a endogamia, impedindo a cópula com indivíduos aparentados.

A capacidade de discriminar entre indivíduos familiares e desconhecidos seria um pré-requisito para esta estratégia. No atual trabalho, fêmeas de *T. yonenagae* não mostraram ser capazes, pelo menos estatisticamente, de discriminar odores de doadores machos individuais. Porém, foram capazes de discriminar odores de um pool de vários doadores machos. Em um recente trabalho, fêmeas de *T. yonenagae* mostraram preferência por odor do parceiro, em vez do odor de um macho desconhecido (MANAF e SPINELLI OLIVEIRA, 2009). Tanto fêmeas quanto machos do camundongo-da-pradaria preferiram o odor de seus parceiros ao odor de conspecíficos do sexo oposto desconhecidos. Machos e fêmeas construíram um ninho ou simplesmente ficaram por mais tempo no lado do labirinto em Y no qual estava o odor do parceiro (NEWMAN e HALPIN, 1988). A preferência pelo parceiro, frente a um desconhecido, em *T. yonenagae* e no camundongo-da-pradaria pode ser vista como uma característica que, em roedores sociais, contribui para a estabilidade e coesão do grupo. Porém, em *T. yonenagae*, o mesmo estudo mostrou que algumas fêmeas preferiram o odor de um macho desconhecido, frente ao odor do parceiro.

Fêmeas do rato toupeira *H. glaber* mostraram preferência por odores de machos desconhecidos, frente a odores de machos de seu próprio grupo. Como os membros de uma mesma colônia possuem um alto grau de parentesco entre si, este seria um modo de se evitar a endogamia. Apesar do comportamento altamente xenófobo observado no *H. glaber*, machos em dispersão podem eventualmente ser aceitos e procriarem com fêmeas de outras colônias (CLARKE e FAULKES, 1999). Dados de campo indicam que *T. yonenagae* possui alta fidelidade às galerias nas quais nasceram (filopatria natal), o que resultaria em um alto grau de parentesco entre indivíduos da mesma colônia. Os dados indicam também que, diferentemente do rato toupeira, onde são os machos que se deslocam até colônias vizinhas, em *T. yonenagae* são as fêmeas que realizam deslocamentos exploratórios até outras colônias, podendo usar isto para a cópula em outras galerias, evitando assim a endogamia (SANTOS, 2004).

Diferenças ou similaridades no MHC são usados não somente para evitar a endogamia, mas também como mecanismo de isolamento reprodutivo, influenciando positivamente na escolha de parceiros conspecíficos. Porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*) machos mostraram preferência por urina de machos conspecíficos, frente à urina de fêmeas de *Galea mustelóides* (BEAUCHAMP, 1973). Fêmeas de rato toupeira com formas cromossomais $2n = 52$ e $2n = 58$ foram testadas com odores de machos $2n = 52$ e 58 . As fêmeas em estro preferiram o odor de machos homocromossomais a elas, enquanto que fêmeas em diestro não mostraram preferência entre um odor e outro. Os resultados sugerem que a discriminação olfatória atua como um mecanismo de isolamento reprodutivo no processo de especiação do rato toupeira (NEVO *et al.*, 1976).

A capacidade de reconhecer e discriminar odores de conspecíficos também assume grande importância em contextos sociais e nas relações de grupo. O comportamento social de muitos animais requer a habilidade de usar as marcas de odor para distinguir indivíduos (revisado por BRENNAN, 2001). Em espécies de mamíferos habitando savanas e campos abertos a existência em colônias pode ser considerado um mecanismo antipredatório, havendo uma clara tendência desses animais em viver próximos de conspecíficos (em KLEIMAN, 1974). A existência colonial aumenta a sobrevivência de filhotes que andam para longe da mãe, pois os adultos do grupo cuidam da segurança deles (em KLEIMAN, 1974). Porém, para os filhotes, nem todos os tipos de interações sociais são benéficas, sendo comum o encontro de filhotes com outros indivíduos conspecíficos, os quais eles precisam diferenciar de seus pais, evitando assim interações hostis. A preferência dos filhotes por odores familiares teria a função de mantê-los na segurança de seu grupo ou família. Em um teste de dupla escolha, filhotes de porquinho-da-índia de 10 dias preferiram o odor da urina da mãe, frente à urina de outras fêmeas lactantes, indicando reconhecimento do odor da mãe, o que contribui para a permanência do filhote próximo à mãe e ao ninho (JACKEL e TRILLMICH, 2003). Filhotes do “bank vole” *C. glareolus* vocalizam quando estão longe da mãe, porém vocalizam menos

quando estão próximos ao ninho, o que sugere que sinais químicos vindos do ninho diminuem o estresse causado pelo isolamento, indicando o reconhecimento de odores familiares pelos filhotes (MARCHLEWSKA-KOJ, 2000).

Como é um roedor colonial, a manutenção da coesão de grupos sociais e familiares em *T. yonenagae* talvez dependa da capacidade de reconhecer companheiros e também discriminar entre companheiros e indivíduos estranhos ao grupo, conspecíficos ou não, evitando assim a dissolução do grupo. No rato canguru, um roedor fossorial de deserto, tanto machos quanto fêmeas demonstraram maior interesse pelos odores de companheiros de seu próprio grupo do que por odores de desconhecidos, indicando reconhecimento de companheiros (MURDOCK e RANDALL, 2001). O Riain e Jarvis (1997), no trabalho com o rato toupeira *H. glaber*, que assim como *T. yonenagae*, é social e fossorial, observaram que os odores dos membros do grupo parecem ser importantes para manutenção da coesão da colônia, além de prevenir a invasão de indivíduos de outras colônias. Mamíferos sociais se comportam diferentemente em relação a estranhos e membros de sua colônia. Experimentos realizados com ratos de laboratório mostraram que, se um indivíduo é retirado de seu grupo por poucos dias, ele é atacado pelos outros membros quando é reintroduzido neste grupo. Porém, se o rato retirado for mantido com maravalha vinda da colônia, ele não é atacado (revisado por POOLE, 1985). No rato toupeira *H. glaber*, se um membro da colônia é retirado por apenas 12 horas ele é rejeitado quando reintroduzido. Parentes de outra colônia também são rejeitados, indicando que o reconhecimento é feito com base na familiaridade e não na similaridade genética (O' RIAIN e JARVIS, 1997).

Como revisado por Kleiman (1974), em roedores histricognathas sociais é comum os membros de um grupo urinarem uns nos outros, permitindo dessa forma que os membros de um mesmo grupo ou colônia dividam o mesmo odor. Em roedores de deserto (*Pediolagus*), indivíduos de um mesmo grupo urinam em um local em comum (ver POOLE, 1985). No rato toupeira os membros de um mesmo grupo usam um local em comum para urinarem,

formando um odor único para a colônia, compartilhado por todos os indivíduos de um mesmo grupo, o que simplifica as pistas olfatórias usadas para o reconhecimento (O'RIAIN e JARVIS, 1997). Como os resultados indicaram, tanto machos quanto fêmeas de *T. yonenagae* mostraram ser capazes de discriminar odores vindos de uma mistura de urina de vários doadores. Observações feitas em cativeiro indicam que, em *T. yonenagae*, os indivíduos de uma mesma gaiola, e portanto de um mesmo grupo, usam um local em comum para urinarem, sugerindo que, em seu meio natural, os membros de um mesmo grupo ou galeria provavelmente possuem um local em comum, onde todos urinam. Isto poderia gerar um odor único ao grupo, permitindo que os membros desta colônia reconheçam os companheiros com base neste odor único compartilhado por todos.

Alguns estudos têm mostrado que a atratividade e consequentemente o comportamento de aproximação ou repulsão frente a determinado odor pode depender de associação com o indivíduo do qual veio o odor, uma associação aprendida por experiência prévia. Experimento com o camundongo *Mus spretus* Lataste testou a influência da interação social entre dois conspecíficos sobre a atratividade do odor do competidor. Antes da interação entre os animais, os competidores se mostravam igualmente atraídos pelo odor um do outro. Porém, depois de estabelecida uma relação de dominância, por conta de uma interação agonista na arena, os machos subordinados passaram a evitar a urina do competidor dominante. Tais resultados sugerem que o comportamento de repulsão do subordinado ao odor do dominante seja útil aos dois lados, pois o subordinado passa a evitar interações hostis e danosas com o oponente dominante, reconhecidamente mais forte. A capacidade do subordinado de reconhecer e então evitar o odor do dominante tem, portanto, implicações nas relações sociais destes roedores, pois possibilita a manutenção da estrutura hierárquica do grupo (HURST *et al.*, 1997).

A capacidade de associar um odor a determinado indivíduo é tratada, pela literatura, como de suma importância em roedores territoriais e agressivos. Porém, em roedores sociais,

esta associação se mostra tão ou até mais importante, visto que nas relações sociais destes roedores, onde o padrão de distribuição é agregado, é muito mais comum para um indivíduo ter encontros sucessivos com um mesmo conspecífico, o qual ele precisa reconhecer para responder de forma específica. Já foi demonstrado que *T. yonenagae* possui altos níveis de comportamento social e afiliativo, com baixos níveis de agressividade, tanto em machos (FREITAS *et al.*, 2008) como em fêmeas (FREITAS *et al.*, 2010). Porém, o comportamento agressivo é observado com certa frequência entre companheiros de caixa, em cativeiro. A capacidade de reconhecer determinado odor, como mostrado nos testes de habituação e de discriminação permite que este roedor relacione determinado odor a uma experiência prévia e então promova um ajuste comportamental em relação a determinado indivíduo, evitando assim interações danosas.

Conclusão

Os resultados indicam que *Trinomys yonenagae* pode discriminar odores de coespecíficos e que há diferenças entre machos e fêmeas. A capacidade de *Trinomys yonenagae* de discriminar entre odores que estão habituados e novos odores permite, por exemplo, a identificação individual, tendo por isso grande importância em aspectos de sua vida social, como por exemplo, na preferência e escolha de parceiros sexuais e, como também são roedores sociais e coloniais, no reconhecimento de conspecíficos do mesmo grupo social ou colônia, servindo neste último caso como um fator que promove a coesão entre os integrantes do grupo.

Bibliografia ¹

ALBERTS, A.C. 1992. Constraints on the design of chemical communication systems in terrestrial vertebrates. *American Naturalist*, **39**: 62-89.

ALBERTS, Bruce *et al.*: **Biologia Molecular da Célula**. 3ª edição – Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 1278p.

ALMEIDA, C.E.P. **Mudanças evolutivas da estrutura social de Equimideos (Rodentia) como exaptação e adaptação a um ambiente semi-árido**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

ALVES, I.M.M. **Análise de unidades comportamentais exibidas por díades de *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em laboratório e em situação de pós-captura**. Monografia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

ALVES, I.M.M. **A influência do tempo de permanência em cativeiro sobre o comportamento: Um estudo de caso com *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

AXEL, Richard. **Scents and sensibility: A molecular logic of olfactory perception**. Nobel Lecture, December 8, 2004.

BARROS, R.C.H.; OLIVEIRA, E. SPINELLI; ROCHA, P.L.B.; BRANCO, L.G.S. 1998. Respiratory and metabolic responses of the spiny rats *Proechimys yonenagae* and *Proechimys iheringi* to CO₂. *Respiration Physiology*, **111**: 223-231.

BEAUCHAMP, G.K. 1973. Attraction of male guinea pigs to conspecific urine. *Physiology and Behavior*, **10**: 589-594.

¹ (de acordo com as Normas da ABNT)

BEAUCHAMP, G.K. 1976. Diet influences attractiveness of urine in guinea pigs. *Nature*, **263**: 587-588.

BEHR, G.A. *et al.* 2009. Decreased anxiety-like behavior and locomotor/exploratory activity, and modulation in hypothalamus, hippocampus and frontal cortex redox profile in sexually receptive female rats after short-term exposure to male chemical cues. *Behavioral Brain Research*, **199**: 263-270.

BERGALLO, H.G. 1995. Comparative life-history characteristics of two species of rats, *Proechimys iheringi* and *Oryzomys intermedius*, in an Atlantic Forest of Brazil. *Mammalia*, **59(1)**: 51-64.

BLAUSTEIN, A.R. 1981. Sexual selection and mammalian olfaction. *American Naturalist*, **117**: 1006-1010.

BRENNAN, Peter. 2001. How mice make their mark. *Nature*, **414**: 590-591

BROWN, R.E. 1979. Mammalian social odors: a critical review. *Advances in Study Behavior*, **10**: 103-162.

BUCK, L.; AXEL, R. A novel multigene family may encode odor recognition: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, **65**: 175.

BUCK, Linda B. **Unraveling the sense of smell**. Nobel Lecture, December 8, 2004.

CAHILL, L.; BABINSKY, R.; MARCOWITSCH, H. J.; MCGAUGH, J. L. 1995. The amygdala and emotional memory. *Nature*, **377**: 295-296.

CARMO, A.B. **Comunicação acústica no estabelecimento de relações sociais em *Trinomys yonenagae***. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

CLARKE, F.M.; FAULKES, C.G. 1999. Kin discrimination and female mate choice in the naked mole-rat *Heterocephalus glaber*. *Proc.R.Soc.Lond.B*, **266**: 1995-2002.

DEMAS, G.E.; WILLIAMS, J.M.; NELSON, R.J. 1997. Amygdala but not hippocampal lesions impair olfactory memory for mates in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *American Journal of Physiology: regulatory, comparative and integrative physiology*, **273**: 1683-1689.

DIXON, A.K.; MACKINTOSH, J.H. 1971. Effects of female urine upon the social behaviour of adult male mice. *Animal Behavior*, **19**: 138-140.

EMMONS, L.H. **Neotropical rainforest mammals (A field guide)**. The University of Chicago Press, 1990, 232-233.

FONSECA, A.P. **Comparação do comportamento de ingestão de sacarina, sacarose e frutose em roedores de caatinga e mata atlântica**. 54p. Monografia (Iniciação Científica) – Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

FRANCESCOLI, G. 2000. Sensory capabilities and communication in subterranean rodents. In *life underground: the biology of subterranean rodents*. Edited by E.A. Lacey, J.L. Patton, and G.N. Cameron. The University of Chicago Press, Chicago and London: 111-144.

FREEMAN, W.J. 1991. The Physiology of perception. *Scientific American*, **264 (2)**: 78-85.

FREITAS, J.N.S.; EL-HANI, C.N.; ROCHA, P.L.B. 2003. Affiliation in torch tail rat, *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae), a sand dwelling rodent from Brazilian Semiarid Caatinga: Evolutionary implications. *Revista de Etologia*, **5(2)**: 61-73.

FREITAS, J.N.S.; EL-HANI, C.N.; ROCHA, P.L.B. 2008. Affiliation in four echimyid rodent species based on intrasexual dyadic encounters: evolutionary implications. *Ethology*, **114**: 389-397.

FREITAS, J.N.S.; CARVALHO, L.A.S.; EL-HANI, C.N.; ROCHA, P. L.B. 2010. Affiliation in the social interactions in captivity of the torch tail rat, *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae). *Journal of Ethology*, **281(1)**: 105-112.

GALEWSKI, T.; MAUFFREY, A.J-F.; LEITE, Y.L.R.; PATTON, J.L., DOUZERY, E.J.P. 2005. Ecomorphological diversification among South American spiny rats (Rodentia; Echimyidae): a phylogenetic and chronological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **34**(3): 601-615.

GUTIERREZ-GARCIA, A.G. *et al.* 2006. A single session of emotional stress produces anxiety in Wistar rats. *Behavioral Brain Research*, **167**: 30-35.

HALPIN, Z.T. 1986. Individual odors among mammals: origins and functions. *Advances in Study Behavior*, **16**: 39-70.

HERZ, R.S.; ENGEN, T. 1996. Odor memory: review and analysis. *Psychonomic Bulletin and Review*, **3**(3): 300-313.

HERZ, R.S. 1998. Are odors the best cues to memory? A cross-modal comparison of associative memory stimuli. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **855**: 670-674.

HERZ, Rachel.S. 2005. Odor-associative learn and emotion: effects on perception and behavior. *Chemical Senses*, **30**: 1250-1251.

HURST et al. 1997. Social interaction alters attraction to competitor's odour in the mouse *Mus spretus* Lataste. *Animal Behavior*, **54**(4): 941-953.

JACKEL, M.; TRILLMICH, F. 2003. Olfactory individual recognition of mothers by young guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Ethology*, **109**: 197-208.

JONES, R.B.; DILKS, R.A.; NOWELL, N.W. 1973. A method for the collection of individual mouse urine. *Physiology Behavior*, **10**: 163-164.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.: **Histologia Básica**. 9ª edição – Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 427p.

KANDEL, Eric R.; SCHWARTZ, James H.; JESSELL, Thomas M. **Princípios da Neurociência**. 4^a edição - Barueri: Manole, 2003.

KLEIMAN, D. G. 1974. Patterns of behaviour in hystricomorph rodents. In: ROWLANDS W. I.; WEIR B. (Orgs.), The biology of hystricomorph rodents. London: Academic Press, 171-209.

KRUCZEK, M. 1994. Reaction of female bank voles to male chemosignals. Acta. Theriol., **39**: 249-255.

KRUCZEK, M. 2003. Behavioral development of conspecific preferences in bank voles, *Clethrionomys glareolus*. Behavior Processes, **64**: 31-39.

KRUCZEK, M. 2007. Recognition of kin in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). Physiology Behavior, **90**: 483-489.

KRUCZEK, M.; ZATORSKA, M. 2008. Male rank affects reproductive success and offspring performance in bank voles. Physiology and Behavior, **94**: 611-615.

LARA, M.C.; PATTON, J.L.; DA SILVA, M.N.F. 1996. The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, **5**: 403-413.

LARA, M.C.; PATTON, J.L. 2000. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. Zoological Journal of the Linnean Society, **130**: 661-686.

LEFFINGWELL, J.C. 2002. Olfaction. Leffingwell Reports, **2 (1)**: 1-34.

LIN, Da Yu. *et al.* 2005. Encoding social signals in the mouse main olfactory bulb. Nature, **434**: 470-477.

LUCESI, L.C. **Maturação sexual, ciclos reprodutivos e da temperatura no rabo-de-facho (*Trinomys yonenagae*, Echimyidae)**. 106 p. Dissertação de Mestrado – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MANAF, P.; SPINELLI OLIVEIRA, E. 2000. Behavioural repertoire of *Proechimys* [*Trinomys*] *yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) in captivity. *Etologia*, **2(1)**: 3–15.

MANAF, P.; BRITO-GITIRANA, L.; SPINELLI OLIVEIRA, E. 2003. Evidence of chemical communication in the spiny rat *Trinomys yonenagae* (Echimyidae): anal scent gland and social interactions. *Canadian Journal of Zoology*, **81**: 1138-1143. (b)

MANAF, P.; MORATO, S.; SPINELLI OLIVEIRA, E. 2003. Profile of wild Neotropical spiny rats (*Trinomys*, Echimyidae) in two behavioral tests. *Physiology & Behavior*, **79**: 129-133. (a)

MANAF, P. **Efeitos do bloqueio de receptores opióides sobre o comportamento social de *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em cativeiro**. Tese (Doutorado em psicologia) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, Núcleo de pesquisa em Neurociência e Comportamento, São Paulo, 2005.

MANAF, P.; SPINELLI OLIVEIRA, E. 2006. Roedores com cheiro de tutti-frutti. *Ciência Hoje*, **38**: 68-70.

MANAF, P.; SPINELLI DE OLIVEIRA, E. 2009. Female choice in *Trinomys yonenagae*, a spiny rat from the Brazilian Caatinga. *Revista Brasileira de Zoociências*, **11(3)**: 200-207.

MARCHLEWSKA-KOJ, A. 2000. Olfactory and ultrasonic communication in bank voles. *Poland Journal of Ecology*, **48**: 11-20.

MARCOMINI, M. **Cronobiologia de duas espécies de *Trinomys* (Rodentia, Echimyidae)**. 2004. 73p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MARCOMINI, M.; SPINELLI OLIVEIRA, E. 2003. Activity pattern of echimyid rodent species from the Brazilian Caatinga in captivity. *Biological Rhythm Research*, **34**: 157-166.

MARCONATO, D.A. **Escavação de tocas e armazenamento de alimentos: suas implicações na biologia de espécies filogeneticamente próximas de ratos-de-espinho neotropicais (Rodentia: Echimyidae)**. 81p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARTIN, I.G.; BEAUCHAMP, G.K. 1982. Olfactory Recognition of Individuals by Male Cavies (*Cavia aperea*). *Journal of Chemical Ecology*, **8**(9): 1241 – 1249.

MENDES, L.A.F. **Estudo da Biologia de Roedores Silvestres Brasileiros: aspectos do balanço hídrico e do consumo alimentar**. 67p. Monografia (Iniciação Científica) – Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

MIZUKAMI, N. Y. **A Influência da faixa etária no comportamento de estocagem de sementes pelo equimídeo *Trinomys yonenagae* (Rocha, 1995)**. 36p. Monografia (Iniciação Científica) - Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

MONEIA, N.M. **Comentários sobre a biologia de *Trinomys yonenagae* com observações sobre o seu ciclo estral**. 2004, 37p. Monografia (Iniciação Científica) - Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

MYKYTOWYCZ, R.; GOODRICH, B.S. 1974. Skin glands as organs of communication in mammals. *Journal of Investigative Dermatology*, **62**: 124-131.

MURDOCK, H.G.; RANDALL, J.A. 2001. Olfactory communication and neighbor recognition in giant kangaroo rats. *Ethology*, **107**: 149-160.

NEWMAN, K.S.; HALPIN, Z.T. 1988. Individuals odors and mating recognition in the prairie vole, *Microtus ochrogaster*. *Animal Behavior*, **36(6)**: 1779-1787.

NEVES, E.S. **Diferenças sexuais do repertório comportamental de *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) e seqüências comportamentais exibidas por díades de fêmeas em situação de cativeiro.** Monografia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

NEVO, E.; BODMER, M.; HETH, G. 1976. Olfactory discrimination as an isolating mechanism in speciating mole rats. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **32(12)**: 1511-1512.

O'RIAIN, M.J.; JARVIS, J.U.M. 1997. Colony member recognition and xenophobia in the naked mole-rat. *Animal Behavior*, **53(3)**: 487-498.

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

RABIN, M.D.; CAIN, W.S. 1984. Odor recognition: familiarity, identifiability, and encoding consistency. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory and Cognition*, **10(2)**: 316-325.

REIS, A.C. 1976. Clima da caatinga. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **48**: 325-335.

RIBEIRO, M. F. S. **Encéfalos de espécies de roedores *Trinomys* de diferentes habitats e seu correlato ecoetológico.** 48p. Dissertação (Mestrado em psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RIOS, V.P. **Seqüências comportamentais exibidas por díades de *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em situação de cativeiro e análise de séries temporais de comportamentos utilizando modelagem computacional.** Monografia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

ROCHA, P.L.B. **Ecologia e morfologia de uma nova espécie de *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) das dunas interiores do Rio São Francisco, Bahia.** Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

ROCHA, P.L.B. 1995. *Proechimys yonenagae*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from fossil sand dunes in Brazilian caatinga. *Mammalia*, **59**: 537-549.

ROCHA, P.L.B.; RENOUS, S. ABOURACHID, A.; HÖFLING, E. 2007. Evolution toward asymmetrical gaits in Neotropical spiny rats (Rodentia: Echimyidae): evidences favoring adaptation. *Canadian Journal of Zoology* (Online), **85**: 709-717.

RODRIGUES, M.T.1991. Herpetofauna das dunas interiores do Rio São Francisco, Bahia, Brasil. Introdução à área e descrição de um novo gênero de microteídeo (*Calyptommatatus*) com notas sobre sua ecologia, distribuição e especiação (Sauria, Teiidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, **37(20)**: 321-327.

RYAN, B.C.; YOUNG, N.B.; MOY, S.S.; CRAWLEY, J.N. 2008. Olfactory cues are sufficient to elicit social approach behaviors but not social transmission of food preference in C57BL/6J mice. *Behavior Brain Research*, **193(2)**: 235-242.

SALDANHA-FILHO, A.J.M. **Análise do modelo do gênero *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae) como modelo de avaliação da sociabilidade em roedores.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

SANTOS, E.M.R. **Teor de água em itens disponíveis a *Proechimys yonenagae* (Rodentia:Echimyidae) das dunas interiores do rio São Francisco com discussão da evolução do balanço hídrico no gênero.** 49p. Monografia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1997.

SANTOS, J.W.A. **Ecologia da sociabilidade do roedor psamófilo *Trinomys yonenagae* (Rodentia: Echimyidae) em uma área das dunas do rio São Francisco na caatinga.** 119p. Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

SCHELLINCK, H.M.; FORESTELL, C.A.; LOLORDO, V.M. 2001. A simple and reliable test of olfactory learning and memory in mice. *Chemical Senses*, **26**: 663-672.

SCHWERDTFEGGER, W.L.; BUHL, E.H.; GEMROTH, P. 1990. Disynaptic olfactory input to the hippocampus mediated by stellate cells in the entorhinal cortex. *Journal of Comparative Neurology*, **194**: 519-534.

SOLOMON, N.G.; FERKIN, M.H.; O'BOYLE, R. 1999. Do pine voles (*Microtus pinetorum*) use numerous types of olfactory cues to discriminate gender? *Journal of Chemical Ecology*, **25(9)**: 2147-2159.

SWAISGOOD, R.R.; LINDBURG, D.G.; ZHOU, X. 1999. Giant pandas discriminate individual differences in conspecific scent. *Animal Behavior*, **57**: 1045-1053.

TANG-MARTINEZ, Z.; MUELLER, L.L.; TAYLOR, G.T. 1993. Individual odors and mating success in the golden hamster *Mesocricetus auratus*. *Animal Behavior*, **45**: 1141-1151.

WILSON, D.A.; STENVENSON, R.J. 2003. The fundamental role of memory in olfactory perception. *Trends in Neurosciences*, **26(5)**: 243-247.

WOLFF, J.O. 2003. Laboratory studies with rodents: facts or artifacts? *Bioscience*, **53(4)**: 421-427.

ZAR, J. H., **Biostatistical analysis**. 3 ed., New Jersey: Prentice-hall. Inc., 1996, 662p.

Anexo A

Sujeitos	Habituação						Discriminação	
	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Odor B
1	36,2	7,9	5,4	8,5	8,3	5,55	1,85	9,65
2	8,95	5,2	5,45	4,65	3	1,25	8,2	17,6
3	25,05	4,45	1,1	5,25	6,4	4,55	0,65	6,35
4	3,3	0,35	0,7	0	0	0,4	0,55	0
5	11,6	4,35	6,25	3	2,35	2	5,95	13
6	25	1,5	8,9	0	0	0,8	5	12,35
7	28	0,5	11,5	0,5	3	5,4	7,5	9,2
8	0	0	5	0	5,4	1,1	10,15	14,2
Média	17,2	3	5,5	2,8	3,55	2,7	5	10,65
SD	13	2,9	3,6	3,2	3	2,2	3,6	5,4

Tabela 1. Tempos (segundos) individuais de investigação de machos ($n = 8$) frente à urina de fêmeas ($n = 1$ para odor A) e ($n = 1$ para odor B). Odor A pareado ao controle nas sessões de habituação 1, 2 e 3; Odor A pareado ao Odor B na sessão de discriminação.

Anexo B

Sujeitos ♂	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante testes (anos)
1	040318	010199	010211	06/03/04	4
2	960032	x	x	x	No mínimo 12 anos
3	020240	960084	960034	27/07/02	6
4	080404	060380	060381	27/11/07	1
5	030294	970009	960030	17/09/07	2
6	070384	010199	010211	03/05/07	2
7	070391	010199	010211	31/10/07	2
8	080399	030272	030284	12/02/08	1,5

Doadores ♀	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	060371	030272	030284	28/04/06	2
2	050359	990167	000189	24/08/05	3

Anexo C

Sujeitos	Habituação						Discriminação	
	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Odor B
1	2,45	4	0	0	1,3	4	2,05	5,3
2	9,55	2	6,7	0	0,5	0,35	0	1,4
3	1,55	8	4,15	1,26	0,85	3,9	4,7	3,4
4	14,6	4	11,2	8	6,9	9,1	19,15	10,65
5	24,6	10,65	14,9	10,4	6,1	5	0	10,6
6	17,7	4,9	16,3	25	16,1	5,9	4,8	27,8
7	6,6	3,7	3,5	0,9	12	7,65	4	4,5
8	2,12	1,85	0,9	0,8	0	0,65	1,5	1,35
Média	10	5	7,2	5,8	5,5	4,5	4,5	8,1
SD	8,4	3	6,2	8,7	6	3,1	6,2	8,7

Tabela 2. Tempos (segundos) individuais de investigação de fêmeas (n = 8) frente à urina de machos (n = 1 para odor A) e (n = 1 para odor B). Odor A pareado ao controle nas sessões de habituação 1, 2 e 3; Odor A pareado ao Odor B na sessão de discriminação.

Anexo D

Sujeitos ♀	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante testes (anos)
1	060370	010207	020222	29/03/06	3
2	060376	010199	010211	31/05/05	4
3	020249	010199	010211	18/10/02	7
4	030307	010199	010211	10/11/03	6
5	020233	970020	970007	01/06/02	7
6	040327	010199	010211	05/06/04	5
7	040332	000177	000193	28/09/04	5
8	040320	010207	010201	08/04/04	5

Doadores ♂	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	030294	970009	960030	17/09/07	2
2	080404	060380	060381	20/06/08	1

Anexo E

Sujeitos	Habituação						Discriminação	
	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Odor B
1	0,6	1,1	3,6	0	3	5,35	0,5	2,1
2	40,6	0,4	7	20	0	7,4	0,7	4,7
3	13	0,5	1,5	0,5	3,4	0	0	12,15
4	25	3,2	0	1,6	1,2	1,8	1,85	4,45
5	5,5	5	1,4	0	6	2,9	1	8
6	2,25	0,45	3	1,15	6,3	0,7	0,4	1,7
7	8,9	4,4	8,15	3,2	3,25	1,5	1,3	9,15
8	7,65	0,95	3,7	2,3	4,2	1	2,5	4,9
Média	13	2	3,5	3,6	3,4	2,6	1	5,9
SD	13,5	1,9	2,8	6,7	2,15	2,5	0,8	3,6

Tabela 3. Tempos (segundos) individuais de investigação de fêmeas (n = 8) frente a um pool de urina de machos (n = 4 para odor A) e (n = 4 para odor B). Odor A pareado ao controle nas sessões de habituação 1, 2 e 3; Odor A pareado ao Odor B na sessão de discriminação.

Anexo F

Sujeitos ♀	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante testes (anos)
1	020249	010199	010211	18/10/02	8
2	030307	010199	010211	10/11/03	7
3	060376	010199	010211	31/05/05	5
4	040320	010207	010201	08/04/04	6
5	010208	990167	000189	16/10/01	9
6	070387	030272	030284	25/05/07	3
7	060370	010207	020222	29/03/06	4
8	040332	000177	000193	28/09/04	6

Doadores ♂	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	080409	060380	060311	21/10/08	1,5
2	080404	060380	060381	29/06/08	2
3	060368	990167	000189	25/02/06	4
4	030278	960038	960030	17/08/03	7

Doadores ♂	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	040318	010199	010211	06/03/04	6
2	020240	960084	960034	27/07/02	8
3	080403	060380	060381	29/06/08	2
4	070392	010199	010211	31/10/07	3

Anexo G

Sujeitos	Habituação						Discriminação	
	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Controle	Odor A	Odor B
1	13,2	5	2,7	2	3,5	4	1,7	4,5
2	0	3	10	2,75	6	6,15	5	8,2
3	24	6,1	4	6	6,5	0	0	2
4	19	5	8,3	5,7	1,5	1,7	4	15,5
5	23,7	3	8,5	3,7	0	3,5	0,5	6,25
6	7	2,3	2,7	0,7	1,2	4,7	1	5,4
7	12,4	5,9	0	0	9,4	0	0	0
8	8,7	1,3	0,5	1	0	0	0	5,7
Média	13,5	4	4,6	2,7	3,5	2,5	1,5	5,9
SD	8,4	1,8	3,8	2,25	3,5	2,4	1,95	4,6

Tabela 4. Tempos (segundos) individuais de investigação de machos (n = 8) frente a um pool de urina de fêmeas (n = 4 para odor A) e (n = 4 para odor B). Odor A pareado ao controle nas sessões de habituação 1, 2 e 3; Odor A pareado ao Odor B na sessão de discriminação.

Anexo H

Sujeitos ♂	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante testes (anos)
1	040318	010199	010211	06/03/04	6
2	030294	970009	960030	17/09/07	3
3	030276	990167	000189	05/05/03	7
4	010209	000177	000193	22/10/01	9
5	060368	990167	000189	25/02/06	4
6	080403	060380	060381	29/06/08	2
7	080409	060380	060311	21/10/08	2
8	080404	060380	060381	29/06/08	2

Doadores ♀	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	060370	010207	020222	29/03/06	4
2	060376	010199	010211	31/05/05	5
3	040332	000177	000193	28/09/04	6
4	030307	010199	010211	10/11/03	7

Doadores ♀	Identificação	Pai	Mãe	Nascimento	Idade durante coleta urina
1	010208	990167	000189	16/10/01	9
2	020249	010199	010211	18/10/02	8
3	0100486	030272	030284	11/01/10	0,5
4	040327	010199	010211	05/06/04	6

Anexo I

Sujeitos ♀	Habituação									Discriminação		
	SA	A	C	SA	A	C	SA	A	C	SA	A	C
1	170	112	317	506	35	58	251	126	221	45	294	260
2	70	247	281	321	180	98	117	382	100	179	365	55
3	32	396	172	61	438	100	26	284	290	26	353	221
4	342	230	28	38	348	212	48	348	203	43	270	285
5	138	217	244	0	338	262	5	337	256	78	393	127
6	30	325	245	5	313	282	21	367	211	6	339	255
7	0	386	213	151	80	370	11	368	220	8	445	147
8	107	404	88	203	309	88	185	314	101	40	463	96
Média	111	290	198	161	255	184	83	316	200	53	365	181
SD	110	105	98	178	141	114	92	83	68	56	67	86

Tabela 5. Tempos (segundos) individuais nas categorias comportamentais: Sem Atividade (SA), Atividade (A) e Cheirar (C), de fêmeas de *T. yonenagae* (n = 8) frente à urina de machos (n = 1 para odor A) (n = 1 para odor B), durante as sessões de habituação 1, 2 e 3 e na discriminação.