

EDMAR GUIMARÃES MANDUCA

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES MORFOLÓGICA CRANIANA E
CITOGENÉTICA EM *Akodon cursor* (RODENTIA:SIGMODONTINAE)
NO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Viçosa, como parte das
exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia
Animal, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008**

EDMAR GUIMARÃES MANDUCA

ESTUDO DAS VARIAÇÕES MORFOLÓGICA CRANIANA E
CITOGENÉTICA EM *Akodon cursor* (RODENTIA:SIGMODONTINAE)
NO ESTADO DE MINAS GERAIS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Viçosa, como parte das
exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia
Animal, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de abril de 2008.

Prof^ª. Gisele Mendes Lessa
(Co-Orientadora)

Prof. Renato Neves Feio
(Co-Orientador)

Prof^ª. Sônia Aparecida Talamoni

Prof. Rubens Pazza

Prof. Jorge Abdala Dergam
(Orientador)

*“A UNIVERSIDADE poderá formar o cidadão,
mas somente a FAMÍLIA pode edificar o homem.”*

À minha família, aos amigos, e à Polyana
por todo carinho.

AGRADECIMENTOS

Uma pesquisa científica não corresponde ao trabalho de uma só pessoa. Para o desenvolvimento de um estudo científico é necessário que façamos uniões entre pesquisadores das diversas áreas em busca do melhor resultado possível. Sendo assim, nos deparamos ao longo da elaboração de uma dissertação de mestrado com várias linhas de pesquisa, idéias e pensamentos. Cada uma destas pessoas contribui com um ladrilho, calçando o “nosso” caminho para a glória. Dessa forma, tenho a agradecer a muita gente. Alguns talvez nem saibam o quão foram essenciais ao longo desta jornada. As linhas e parágrafos que se seguem são uma pequena maneira de traduzir o meu agradecimento a cada um de vocês.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida durante 22 meses, a qual foi fundamental para minha permanência e desenvolvimento do trabalho em Viçosa.

À Universidade Federal de Viçosa pela estrutura fornecida, desde o espaço físico aos funcionários atenciosos e professores capacitados que me transmitiram grandes ensinamentos.

Agradeço a Deus pela oportunidade dada e a força necessária para concluir este projeto.

Aos amigos Jânio Moreira e Pablo Gonçalves, com os quais comecei essa viagem pelo mundo dos pequenos roedores. Grandes professores e exemplos a serem seguidos para a carreira acadêmica tanto quanto para a vida pessoal.

À professora Gisele Lessa, pela amizade, companheirismo e carinho dedicados. Sempre preocupada e atenciosa, foi uma das maiores responsáveis pela elaboração deste trabalho.

Ao professor Jorge Dergam, pela amizade e por aceitar o desafio de desvendar os mistérios que envolvem a taxonomia dos pequenos roedores.

Ao professor Renato Feio, pela amizade e acolhimento nos primeiros anos de caminhada no Museu João Moojen, pelos ensinamentos e pelo futebol de toda semana.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Animal pela atenção e solicitude para resolver problemas de cunho burocrático.

Aos amigos do Museu João Moojen, Rodolfo & Clever (com & para mostrar que realmente formam uma dupla!) que sempre que possível (e também quando era impossível) ajudaram com coletas, trabalhos laboratoriais e na elaboração da dissertação. Colaboraram, e muito, para o sucesso deste trabalho.

Ao amigo Rômulo D'ângelo pelas discussões e ajudas na parte da estatística multivariada.

Aos demais amigos do Museu João Moojen, Maressa, André, Osiel, Michel, Lêlê, Eliana, Emanuel, Jussara, Vitim, Larissa, Finin, São Pedro, Henrique, Diego, Jhonny e todos os demais. Obrigado pela ajuda no campo, dúvidas de informática, papos sobre biologia, papos nada a ver, pelas bagunças, festas... Valeu!

Aos amigos do Laboratório Beagle, Lucioni, Uedson (Jacobina), Hilton, Lilian e Gisele e em especial a Néia que colaborou de forma essencial para a elaboração do capítulo sobre citogenética. Obrigado a vocês pelo apoio, amizade, discussões e farras.

Aos amigos da BIO 2000 (Jânio, Calambau, Véio, Breno, Marcos, Eduardo), sempre presentes, mesmo que a distância, ajudando na árdua caminhada.

Aos amigos da República Oca, Wilson, Jacob, Finin, Bruno, São Pedro e Jerry, com os quais fiz grande amizade durante os dois últimos anos em Viçosa.

Aos novos amigos que aqui fiz: Vinícius, Cíntia, Lucimar, dentre tantos outros, que fizeram destes dois anos uma estadia muito melhor nesta cidade.

Ao biólogo Alessandro Brinati , por ceder seus exemplares coletados em Espera Feliz.

Ao Museu de Ciências Naturais da PUC Minas, na pessoa da professora Tudy Câmara e de seus alunos Gislene e Danilo, pela disponibilidade e abertura de sua coleção para que eu pudesse medir exemplares de *Akodon* depositados na referida instituição e por ceder amostras citogenéticas.

À minha família pelo apoio, mesmo que muitas vezes não compreendendo muito bem o significado e aplicação da minha pesquisa. “Mas esse rato serve para quê mesmo?”

À maior culpada por este trabalho, Polyana, pelo incentivo, apoio carinho e paciência. Desde o início sofreu e se alegrou comigo por este momento. Sua presença foi essencial para o andamento deste trabalho, dando-me suporte em todas as etapas, desde o ingresso no curso até as revisões finais dos capítulos.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho possibilitando a conclusão de mais esta etapa de minha vida. Obrigado!

BIOGRAFIA

Edmar Guimarães Manduca, 4º filho de Edson Manduca e Maria Lúcia Guimarães Manduca, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, em 06 de agosto de 1981.

Concluiu o Ensino Médio em dezembro de 1999, no Colégio Pio XII de Belo Horizonte. Em fevereiro de 2000 iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa. Durante a graduação foi estagiário no Museu de Zoologia João Moojen da UFV. Em 28 de janeiro de 2005 graduou-se Licenciado e Bacharel em Ciências Biológicas. Em fevereiro de 2006 ingressou no curso de Mestrado em Biologia Animal, na Universidade Federal de Viçosa, defendendo a tese em março de 2008.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. ARTIGOS CIENTÍFICOS	11
2.1. Manduca, E.G., G. Lessa & J.A. Dergam. 2008. Análise da variação craniométrica em <i>Akodon cursor</i> (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.....	12
2.2. Manduca, E.G., C.B. Lima, J.A. Dergam & G. Lessa. 2008. Análise citogenética em <i>Akodon cursor</i> (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.....	46
CONCLUSÕES GERAIS	67
ANEXO FOTOGRÁFICO	68

RESUMO

MANDUCA, Edmar Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2008. **Estudo das variações morfológica craniana e citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia: Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.** Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-Orientadores: Gisele Mendes Lessa e Renato Neves Feio.

Akodon cursor é um roedor sigmodontíneo com ampla distribuição no leste do Brasil. Ocorre desde Pernambuco até o Paraná apresentando grande variação morfológica craniana e citogenética em suas populações. Muitos esforços têm sido realizados com o intuito de desvendar os padrões de distribuição dos diferentes citótipos e distinguir as formas morfológicas desta espécie com relação a outras do gênero. Morfologicamente a espécie apresenta grande similaridade externa e interna a outras espécies do gênero. Citogeneticamente distingue-se das demais por apresentar número diplóide variando de $2n = 14$, 15 e 16 e por apresentar um dos maiores polimorfismos cromossômicos dentre os mamíferos. Populações desta espécie em remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais têm sido pouco exploradas ou analisadas com base em um número reduzido de indivíduos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a variação intra e interpopulacional da morfologia craniana e citogenética de exemplares de *A. cursor* coletados em algumas áreas no Estado de Minas Gerais. Foram tomadas 20 medidas cranianas para a elaboração das análises morfométricas. As estatísticas descritiva e multivariada foram realizadas para a visualização dos padrões morfométricos. Análises citogenéticas foram utilizadas para visualização dos padrões polimórficos intra e interpopulacionais das populações de *A. cursor* em território mineiro. A estatística multivariada apontou uma diferenciação na morfologia craniana entre os exemplares das diferentes áreas ao longo do eixo de forma. Os métodos citogenéticos permitiram a visualização de polimorfismos intra e interpopulacionais que, de acordo com o teste de χ^2 , encontram-se em equilíbrio de Hardy-Wienberg. As técnicas de bandeamento C e Ag-NOR não evidenciaram diferenças entre as populações analisadas. O

Parque Estadual da Serra do Brigadeiro possivelmente representa a população com maior distribuição altitudinal deste roedor. O fator altitudinal pode representar uma variável para explicar a diferença observada na morfologia craniana das populações analisadas. A avaliação da população presente no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro e a adição de novas áreas com maior número de exemplares fornecerão uma nova base de dados para a compreensão da evolução da espécie em termos morfológicos e citogenéticos.

ABSTRACT

MANDUCA, Edmar Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April 2008. **Study of variations in cranial morphology and cytogenetic of *Akodon cursor* (Rodentia: Sigmodontinae) in the State of Minas Gerais.** Adviser: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-Advisers: Gisele Mendes Lessa and Renato Neves Feio.

Akodon cursor is a sigmodontine rodent with wide distribution in the eastern of Brazil. It occurs from Pernambuco to Paraná presenting high levels of morphological and cytogenetic variation in their populations. Many efforts have been made in order to uncover the distribution patterns of different cytotypes and to distinguish the morphological forms of this species in relation to the others from the same genus. Morphologically the species has great internal and external similarity to other species of the genus. Cytogenetically distinguishes from others for having its diploid number ranging from $2n = 14, 15$ and 16 and too for having one of the greatest chromosome polymorphisms among mammals. Populations of this species in the Atlantic Forest remnants of the State of Minas Gerais has been little explored or analyzed based in a reduced individuals number. In this way, the objective of this study was to evaluate the intra and interpopulation variation in skull and cytogenetics morphology of specimens of *A. cursor* collected in some areas in the state of Minas Gerais. Twenty measures have been taken for the establishment of cranial morphometric analysis. The descriptive and multivariate statistics were held to the view of the morphometric patterns. Cytogenetic analyses were used to view the polymorphisms patterns intra and interpopulation of *A. cursor* in Minas Gerais State. The multivariate statistics showed a differentiation in cranial morphology between specimens of different areas along the shape axis.

The cytogenetic methods allowed the view of polymorphisms intra and interpopulations that, according to the χ^2 test, are in Hardy-Wienberg balance. The banding techniques C and Ag-NOR did not reveal differences between populations studied. The Parque Estadual da Serra do Brigadeiro

possibly represents the population with higher altitudinal distribution of this rodent. The altitudinal factor may represent a variable to explain the observed difference in skull morphology in studied populations. The assessment of the population present in Parque Estadual da Serra do Brigadeiro and the addition of new areas with a bigger number of specimens will provide a new database for understanding the evolution of the species in morphological and cytogenetic terms.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Ordem Rodentia é a que possui maior riqueza de espécies dentre os mamíferos e inclui os ratos, camundongos, ratos-de-espinho e capivaras, dentre outros. Com 2.277 espécies descritas (Musser & Carleton, 2005), e outras descritas posteriormente para a América do Sul (Weksler *et al.* 2006; Costa *et al.*, 2007; D'élia & Pardiñas, 2007), é uma Ordem de extrema importância do ponto de vista ecológico, possuindo elementos essenciais para a manutenção das diversas relações ecológicas entre os diferentes organismos.

Dos mamíferos presentes atualmente no continente Sul Americano aproximadamente 43% pertencem à Ordem Rodentia. Destes roedores, 377 espécies estão alocadas na subfamília Sigmodontinae (Musser & Carleton, 2005). No Brasil, são conhecidas 117 espécies válidas para esta subfamília (Oliveira & Bonvicino, 2006).

A Mata Atlântica, no sudeste do Brasil, contém uma significativa diversidade de linhagens dos Sigmodontinae sendo considerada um centro geográfico importante na diversificação deste grupo (Smith & Patton, 1999). Detentora de uma fisionomia vegetal bastante variada, a Mata Atlântica constitui um valioso mosaico de ambientes para a alta diversidade biológica (Tabarelli *et al.*, 2005; Lino, 1992; Terborgh, 1992). Este ecossistema apresenta aproximadamente 77 espécies de pequenos roedores descritos, dentre os quais 35 são endêmicos (e.g. *Delomys sublineatus*, *Phaenomys ferrugineus*, *Thaptomys nigrita*), alguns com distribuição restrita a maciços florestais específicos (e.g. Parque Nacional do Caparaó - *Akodon mystax* e *Oxymycterus caparae*) (Myers *et al.* 2000; Hershkovitz, 1998; Fonseca *et al.* 1996).

A taxonomia dos sigmodontíneos é complexa, devido principalmente à sua grande diversidade. Ela favorece a presença de caracteres homoplásticos (e.g. convergências e paralelismos) entre os organismos, dificultando a determinação de filogenias para o grupo (Pardiñas *et al.*, 2002; D'élia, 2003).

O estudo da morfologia corporal e craniana complementado com dados citogenéticos, tem auxiliado na revisão e delimitação de táxons dentro dos roedores (Van-Gelder, 1969; Bonvicino & Almeida, 2000; Geise *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005; Paresque *et al.*, 2007), além de esclarecer padrões cariotípicos e morfológicos de espécies e populações ao longo de suas distribuições geográficas (Christoff, 1997; Fagundes *et al.*, 1998; Fagundes *et al.*, 2000; Bonvicino *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2004; Gonçalves & Oliveira, 2004; Geise *et al.*, 2005; Lessa *et al.*, 2005; Paresque *et al.*, 2007).

Um táxon que merece destaque por apresentar grande variedade morfológica e citogenética é o gênero *Akodon*. Diversos estudos realizados com as espécies brasileiras têm permitido a caracterização e determinação dos limites geográficos de distribuição das diferentes linhagens dentro deste táxon (Christoff, 1997, Christoff *et al.*, 2000, Geise *et al.*, 2005).

O gênero *Akodon* Meyen, 1833 foi descrito como “animais de forma inalterada e peles normais, com coloração dorsal cinza, marrom ou olivácea, sem nenhuma marca especial”. Os olhos são considerados como de “tamanho normal” e a cauda, como de “tamanho moderado”. As garras são “normais”, mas variáveis em tamanho (Gyldenstope, 1932). Esta descrição não inclui caracteres diagnósticos que permitam uma determinação satisfatória do grupo sem que haja conflitos de identidade com outros táxons. Neste mesmo manuscrito é listado um total de 44 espécies para o gênero *Akodon*. Porém algumas destas espécies foram posteriormente consideradas como sinonímias, principalmente devido ao avanço no grau de resolução de novas técnicas sistemáticas como a morfometria, a citogenética e a biologia molecular (Geise *et al.*, 1998; Geise *et al.*, 2001; Gonçalves *et al.*, 2007). Dessa forma, a real diversidade e delimitação do táxon têm se estruturado melhor sob a ótica da sistemática filogenética (Gonçalves *et al.* 2007).

Atualmente são reconhecidas 41 espécies para todo o gênero. Sua distribuição é restrita à América do Sul (Musser & Carleton, 2005), com 10 espécies no Brasil e quatro no Estado de Minas Gerais (Oliveira & Bonvicino, 2006). Os membros deste gênero presentes em território brasileiro, têm

tamanho pequeno (85-128mm, 16-56g), orelhas grandes (12-20mm) e cauda pouco menor que o comprimento do corpo (56-111mm). A pelagem do dorso varia do castanho-claro ao castanho-escuro, sem um limite definido com relação à coloração ventral, que é cinza-amarelada ou cinza-esbranquiçada. As orelhas são pouco pilosas (Oliveira & Bonvicino, 2006).

Estes animais habitam formações florestais, áreas abertas adjacentes e campos de altitude ao longo de toda a Mata Atlântica, nos Campos do Sul, nas áreas florestais da Caatinga e nas formações vegetais abertas e fechadas do Cerrado (Oliveira & Bonvicino, 2006). São animais de hábito terrestre e dieta insetívora-onívora (Graipel *et al.*, 2003).

Akodon cursor (Winge, 1887) é uma das espécies deste diverso gênero de roedores sigmodontíneos. Possui ampla distribuição ao longo do domínio da Mata Atlântica, ocorrendo desde o Estado da Paraíba até o Paraná e no leste de Minas Gerais (Oliveira & Bonvicino, 2006). Sua localidade-tipo é Lagoa Santa, rio das Velhas, Minas Gerais. Segundo Pardiñas *et al.* (2003) esta espécie aparentemente ocorre no nordeste da Argentina, Província de Misiones, mas a identificação do espécime ainda é duvidosa, deixando incerto o limite de distribuição geográfica da espécie (Musser & Carleton, 2005).

Akodon cursor demonstra um dos maiores graus de polimorfismos cromossômicos conhecidos para os mamíferos até o momento, apresentando um número diplóide (2n) que varia de 14 até 16 e uma grande variação dos valores do número fundamental autossômico (NF), que varia de 18 a 26, o que possibilita a identificação de 28 citótipos distintos ao longo de sua distribuição na Mata Atlântica (Fagundes *et al.*, 1998). Trabalhos realizados para uma única população de Guaraqueçaba no Paraná registraram animais com 2n igual a 14, 15 e 16, distribuídos em 18 citótipos distintos, sendo oito destes registros inéditos para a ciência. Este fato demonstra a alta variabilidade citogenética desta espécie (Sbalqueiro & Nascimento, 1996; Nascimento, 1998).

Morfológicamente a espécie é muito semelhante a outras dentro do gênero, principalmente a *A. montensis*, sendo o método citogenético uma ferramenta muito útil na distinção destes dois táxons, já que *A. montensis* apresenta número diplóide variando de 24 a 26 (Christoff, 1997).

O Estado de Minas Gerais possui áreas de Mata Atlântica ainda conservadas e prioritárias para estudos ecológicos, evolutivos e biogeográficos (Conservação Internacional, 2000). Dentre estas áreas destacam-se a Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA), localizada no município de Viçosa e o Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), que abrange oito municípios mineiros (Araponga, Divino, Ervália, Fervedouro, Miradouro, Muriaé, Pedra Bonita, Sericita) com gradiente altitudinal (1000 até 1985 metros) importante sob o ponto de vista biológico como possível atuante na diferenciação de táxons por especiação parapátrica, na qual não há isolamento geográfico evidente (Gonçalves, 2007). Essas áreas, que são diversas com relação ao número de espécies de sigmodontíneos que abrigam (Gonçalves *et al.*, 1998; Lessa *et al.*, 1999; Manduca *et al.*, 2006a), carecem de estudos mais detalhados sobre as populações destes pequenos roedores. Estes animais fazem parte de um grupo de difícil visualização em campo e carente de estudos taxonômicos. Revisões realizadas com base em material depositado em museus e/ou novas coletas em locais ainda não amostrados têm proporcionado a descrição de novas espécies (Patterson, 2000; Weksler *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2007).

Nas áreas de Mata Atlântica propostas para a realização deste trabalho, não há estudos detalhados das populações de *Akodon cursor*. Entretanto, estudos citogenéticos e morfológicos já foram realizados com esta espécie em diversas localidades do país. O estudo das amostras de Minas Gerais é reduzido, o que pode obscurecer a real diversidade da espécie. Do ponto de vista citogenético as populações mineiras possuem apenas dados primários referentes às amostras coletadas no PESB (Manduca *et al.*, 2006b).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar as populações do sigmodontíneo *Akodon cursor* presente em remanescentes mineiros de Mata

Atlântica, com o objetivo de avaliar a variação intra e interpopulacional de caracteres morfológicos cranianos e citogenéticos, compreender o padrão de distribuição dos parâmetros analisados nestas populações, contrapondo-os com outros trabalhos já publicados, buscando preencher lacunas do conhecimento do grupo ao longo de sua distribuição geográfica.

Referências

- Bonvicino, C. & Almeida, F.C. 2000. Karyotype, morphology and taxonomic status of *Calomys expulsus* (Rodentia: Sigmodontinae). *Mammalia*, 64 (3): 339-351.
- Bonvicino, C.; Lima, J.F.S. & Almeida, F.C. 2003. A new specie of *Calomys* Waterhouse (Rodentia, Sigmodontinae) from the Cerrado of Central Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20 (2): 301-307.
- Christoff, A.U. 1997. Contribuição a sistemática das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) do leste do Brasil: estudos anatômicos, citogenéticos e de distribuição geográfica. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 127p.
- Christoff, A.U.; Fagundes, V.; Sbalqueiro, I.J.; Mattevi, M.S. & Yonenaga-Yassuda, Y. 2000. Description of a new species of *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) from southern Brazil. *Journal of Mammalogy*, 81 (3): 838-851.
- Conservação Internacional. 2000. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente/SBF, 40p.
- Costa, L.P.; Pavan, S.E.; Leite, Y.L.R. & Fagundes, V. 2007. A new species of *Juliomys* (Mammalia:Rodentia:Cricetidae) from the Atlantic forest of southeastern Brazil. *Zootaxa*, 1463: 21-37
- D'Élia, G. 2003. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics*, (19): 307-323.
- D'Élia, G. & Pardiñas, U. 2007. Putting names to the phylogenetic diversity of Neotropical sigmodontine rodents: new genera for known species. *Mammalia*, (2007): 143-145.
- Fagundes, V.; Christoff, A.U. & Yonenaga-Yassuda, Y. 1998. Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ($2n = 16, 15$ and 14). *Hereditas*, 129: 263-274.

- Fangundes, V.; Sato, Y.; Silva, M.J.J.; Rodrigues, F. & Yonenaga-Yassuda, Y. 2000. A new species of *Calomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Central Brazil identified by its karyotype. *Hereditas*, 153: 195-200.
- Fonseca, G.A.B.; Herrmann, G.; Leite, Y.L.R.; Mittermeier, R.A.; Rylands, A.B. & Patton, J.L. 1996. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. *Occasional papers in conservation biology*, 4: 1-38.
- Geise, L., Canavez, F.C. & Seuánez, H.N. 1998. Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from southeastern Brazil. *Journal of Heredity*, 89: 158-163.
- Geise, L.; Moraes, D. A. & Silva, H.S. 2005. Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the atlantic coastal area of Brazil. *Arquivos do Museu Nacional*, 63 (1): 63-74.
- Geise, L.; Smith, M.F. & Patton, J.L. 2001. Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) in Southeastern South America: mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Mammalogy*, 82 (1):92-101.
- Gonçalves, P.R. 2007. Diversificação dos roedores sigmodontíneos em formações alto-montanas da Mata Atlântica. Tese (Doutorado em Zoologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, xxiv + 277pp.
- Gonçalves, P.R.; Myers, P.; Vilela, J.F. & Oliveira, J.A. 2007. Systematics of species of the genus *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) in Southeastern Brazil and implications for the biogeography of the campos de altitude. *Miscellaneous Publications of Museum of Zoology of University of Michigan*, 197:1-24.
- Gonçalves, P.R. & Oliveira, J.A. 2004. Morphological and genetic variation between two sympatric forms of *Oxymycterus* (rodentia:sigmodontinae): an evaluation of hypotheses of differentiation within the genus. *Journal of Mammalogy*, 85 (1): 148-161.
- Gonçalves, P.R.; Almeida, F.C.; Bonvicino, C. 2005. A new species of *Wiedomys* (Rodentia:Sigmodontinae) from Brazilian Cerrado. *Mammalian Biology*, 70 (1): 46-60.

- Gonçalves, P.R.; Pereira, R.F.; Morais Jr., M.M.; Lessa, G.; Feio, R.F. & Conzensa, B. 1998. Análise preliminar da distribuição temporal de pequenos mamíferos não voadores em duas unidades de conservação da Zona da Mata, Minas Gerais. Resumos do XXII Congresso Brasileiro de Zoologia, Recife, PE.
- Graipel, M.E.; Miller, P.R.M.; Glock, L. 2003. Padrão de atividade de *Akodon montensis* e *Oryzomys russatus* na reserve de Volta Velha, Santa Catarina, sul do Brasil. *Mastozoologia Neotropical*, 10 (2): 255-160.
- Gyldenstope, N. 1932. A manual of neotropical sigmodont rodents. *Kunglia Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, Stockholm, Series 3, 11 (3): 1-164.
- Hershkovitz, P. 1998. Report on some sigmodontinae rodents collected in Southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner Zoolische Beiträge*, 47:193-256.
- Lessa, G.; Gonçalves, P.R. & Pêsoa, L.M. 2005. Variação geográfica em caracteres cranianos quantitativos de *Kerodon rupestris* (Wied, 1820) (Rodentia, Caviidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 63(1): 75-88.
- Lessa, G.; Gonçalves, P.R.; Morais Jr., M.M.; Costa, F.M.; Pereira, R.F. & Paglia, A.P. 1999. Caracterização e monitoramento da fauna de pequenos mamíferos terrestres de um fragmento de mata secundária em Viçosa, Minas Gerais. *BIOS*, 7 (7): 41-49.
- Lino, C.F. 1992. Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Plano de Ação. Campinas, Consórcio Mata Atlântica/UNICAMP, (1): 101p.
- Manduca, E.G.; Pinto, C.G.C.; Moreira, J.C.; Lessa, G.; Magalhães, O.; Stumpp, R. & Gonçalves, P.R. 2006a. Diversidade de pequenos mamíferos do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG. In: I Congresso Sul-americano de Mastozoologia, Resumos, p.131.
- Manduca, E.G.; Moreira, J.C.; Gonçalves, P.R.; Lessa, G.; Dergam, J. 2006b. Dados citotaxonômicos dos pequenos roedores do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), Minas Gerais, Brasil. In: I Congresso Sul-americano de Mastozoologia, Resumos, p.90.
- Musser, G.G. & Carleton, M.D. 2005. Subfamily Sigmodontinae. Vol 2:1086--1186, In: *Mammal Species of the World*, Third Edition. (Eds.) Wilson,

D.E. & Reeder, D.M. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2141pp.

Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403 (2): 853-858.

Nascimento, A.P. 1998. Estudos citogenéticos em *Akodon cursor* (Winge, 1887) (Rodentia, Cricetidae) de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. Tese (Mestrado em Genética), Universidade Federal do Paraná, Paraná, xi + 126pp.

Oliveira, J.A. & Bonvicino, C. 2006. Ordem Rodentia. In: Mamíferos do Brasil. (Eds.) Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Pedro, W.A. & Lima, I.P. Londrina-PR. 347-425p.

Pardiñas, U.; D'élia, G. & Cirignoli, S. 2003. The genus *Akodon* (Muroidea: Sigmodontinae) in Misiones, Argentina. *Mammalian Biology*, 68: 129-143.

Pardiñas, U.; D'élia, G. & Ortiz, P.E. 2002. Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América Del Sur: Estado actual de su conocimiento y prospectiva. *Mastozoologia Neotropical*, 9 (2): 209-252.

Paresque, R.; Silva, M.J.J. & Yonenaga-Yassuda, Y. 2007. Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, (30): 1.

Patterson, B.D. 2000. On the continuing need for scientific collecting of mammals. *Mastozoologia Neotropical*, 9 (2): 253-262.

Sbalqueiro, I.J. & Nascimento, A.P. 1996. Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Genética*, 19 (4): 565-569.

Smith, M.F.; Patton, J.L. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of Sigmodontinae rodents in South America: evidence from cytochrome b. *Journal of Mammalian Evolution*, 6 (2): 89-128.

Tabarelli, M.; Pinto, L.P.; Silva, J.M.C.; Hirota, M.M.; Bedê, L.C. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade. *Megadiversidade*, 1 (1): 132-138.

- Terborgh, J. 1992. Maintenance of diversity in tropical forests. *Biotropica*, (24): 283-292.
- Van-Gelder, R. G. 1969. Voucher specimens in comparative cytogenetic studies. *Comparative Mammalian Cytogenetics*, Springer-Verlag, New York Inc. 445-450.
- Ventura, K.; Silva, M.J.J.; Fagundes, V.; Pardini, R. & Yonenaga-Yassuda, Y. 2004. An undescribed karyotype for *Thaptomys* (2n=50) and the mechanism of differentiation from *Thaptomys nigrita* (2n=52) evidenced by FISH and Ag-NORs. *Caryologia*, 57 (1): 89-97.
- Weksler, M.; Percequillo, A.R. & Voss, R.S. 2006 Ten new genera of Oryzomine rodents (Cricetidae:Sigmodontinae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 3537: 1-29.

2. ARTIGOS CIENTÍFICOS

- 2.1. Manduca, E.G., G. Lessa & J.A. Dergam. 2008. Variação craniométrica em *Akodon cursor* (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.
- 2.2. Manduca, E.G., C.B. Lima, J.A. Dergam & G. Lessa. 2008. Análise citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.

2.1. Manduca, E.G., G. Lessa & J.A. Dergam. 2008. Análise da variação craniométrica em *Akodon cursor* (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.

**Análise da variação craniométrica em *Akodon cursor*
(Rodentia: Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.**

Edmar Guimarães Manduca, Gisele Lessa & Jorge Abdala Dergam

Introdução

Os roedores sigmodontíneos do gênero *Akodon* são abundantes tanto nas Florestas Ombrófila Mista e Ombrófila Densa da encosta atlântica como nas Florestas Estacional Decidual e Semidecidual no leste da América do Sul (Oliveira & Bonvicino, 2006). Corresponde ao gênero mais diverso da tribo Akodontini, sendo uma das maiores subdivisões dentro da subfamília Sigmodontinae (Musser & Carleton, 2005).

O gênero *Akodon* não apresenta limites específicos bem definidos quando determinados por caracteres morfológicos (Smith & Patton, 1993). Esta similaridade morfológica entre as espécies do gênero reduz a utilidade de espécimes coletados que não apresentem dados genéticos associados (Geise *et al.*, 2005). Recentemente, estudos morfológicos associados a dados moleculares buscam características que podem ser úteis para a distinção de espécies dentro deste gênero (Gonçalves *et al.*, 2007).

Entretanto, estudos morfológicos apontam que espécies crípticas (e.g. *A. cursor* e *A. montensis*) poderiam ser corretamente identificadas, mas que dependeriam de amostras locais relativamente grandes (Geise *et al.*, 2005), o que demonstra a relevância de estudos com indivíduos de uma mesma população.

A descrição de padrões de variação em caracteres morfológicos ou genéticos dentro e entre populações é fundamental para a definição dos limites entre unidades evolutivas independentes na natureza. Um passo importante no reconhecimento destas unidades é a identificação de grupos de populações que compartilhem características morfológicas ao longo de sua distribuição geográfica (Dos-Reis *et al.*, 2002). O reconhecimento da variação morfológica craniana intraespecífica e geográfica de uma

determinada espécie é um passo importante para posteriores comparações envolvendo outros táxons (Brandt & Pessôa, 1994; Dos-Reis *et al.*, 2002).

Para as populações de *A. cursor* do Estado de Minas Gerais, ainda são poucos os trabalhos com enfoques morfológicos (Geise *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2007).

Dessa forma, a análise de exemplares de *A. cursor* no Estado de Minas Gerais fornecerá uma nova base de dados para posterior comparação com os táxons crípticos a essa espécie e uma avaliação mais acurada acerca das variações morfológicas cranianas das populações desta espécie, principalmente devido à presença da população com maior distribuição altitudinal conhecida para a espécie na área do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (Geise, com. pess.).

Sendo assim, buscamos avaliar os padrões na morfologia craniana intra e inter populacionais de *A. cursor* provenientes de áreas no Estado de Minas Gerais utilizando ferramentas estatísticas (uni e multivariadas) para a visualização de variações nas populações em estudo.

Material e Métodos

Amostras

Foi analisado um total de 184 exemplares previamente identificados como *A. cursor* oriundos de oito localidades do Estado de Minas Gerais (Figura 1) depositados nas coleções do Museu de Zoologia João Moojen (MZUFV) e no Museu de Ciências Naturais da PUC Minas (MCN-PUC). A identificação do material foi feita com base nas etiquetas de identificação, avaliação de caracteres diagnósticos para a espécie (e.g. comprimento da série molar) e, quando possível, com a definição do número diplóide do espécime. Para a análise de variação intrapopulacional foi selecionada a amostra do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), por apresentar menor número de crânios avariados. Nas análises geográficas foram adicionadas a amostra do PESB os indivíduos do município de Abre Campo (AC), de Espera Feliz (EF) e de Viçosa (VIC). Localidades com reduzido

número de espécimes (Canaã, Leme do Prado, Mariana e Pedra do Anta) foram analisadas apenas qualitativamente, não sendo consideradas nas análises estatísticas.



Figura 1. Localidades referentes às amostras de *Akodon cursor* provenientes de remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais utilizadas nas análises morfométricas cranianas. 1- Abre Campo (n=3), 2- Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (n=77), 3- Espera Feliz (n=12), 4- Viçosa (n=88), 5- Canaã (n=1), 6- Pedra do Anta (n=1), 7- Mariana (n=1) e 8- Leme do Prado (n=1).

Morfometria

Para as análises morfométricas foram selecionados vinte caracteres cranianos. Estes caracteres foram medidos por meio de um paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Os caracteres foram definidos de acordo com literatura específica (Voss, 1991; Oliveira, 1992; Christoff, 1997; Gonçalves, 2001). Os caracteres avaliados e suas definições se encontram listados abaixo e podem ser observados no esquema da Figura 2:

CTC (Comprimento total do crânio): distância máxima medida entre a borda anterior dos nasais e a borda posterior do occipital.

LIO (Largura do interorbital): distância mínima interorbital.

CN (Comprimento dos nasais): distância entre a borda anterior dos nasais e a sutura naso-frontal.

CFI (Comprimento do forâmen incisivo): distância entre a borda anterior e a borda posterior do forâmen incisivo.

DIA (Diastema): distância entre o alvéolo posterior dos incisivos e o alvéolo anterior do primeiro molar.

LZI (Largura do arco zigomático): maior distância entre as bordas laterais do arco zigomático.

LCC (Largura da caixa craniana): largura entre as regiões anteriores da sutura dos esquamosais e o occipital.

LRO (Largura rostral): largura do rosto medida na altura do forâmen infraorbital.

SMS (Série molar superior): distância entre a borda do alvéolo anterior do primeiro molar e a borda do alvéolo posterior do terceiro molar.

LPZ (Largura da placa zigomática): distância medida na base da placa zigomática do limite anterior ao posterior.

CP (Comprimento palatal): distância entre a borda posterior do alvéolo do incisivo e a borda do palato.

CPP (Comprimento da ponte palatal): distância entre a borda posterior do forâmen incisivo e a borda do palato.

LCO (Largura entre os côndilos occipitais): maior distância entre as bordas externas dos côndilos occipitais.

CBA (Comprimento basilar): distância entre a borda posterior do alvéolo do incisivo e a borda anterior do forâmen *magnum*.

CI (Comprimento interparietal): distância antero-posterior do eixo mediano do interparietal.

LI (Largura interparietal): distância máxima entre os limites laterais do interparietal.

LP (Largura palatal): largura entre as séries molares medida entre o primeiro e o segundo molar.

CO (Comprimento orbital): distância interna entre a sutura do frontal com o maxilar até a raiz do esquamosal presente no arco zigomático.

AMC (Altura máxima do crânio): distância entre a sutura basiesfenóide-basioccipital e a sutura fronto-parietal.

LMB (Largura máxima da bula): distância máxima entre a junção da sutura basiesfenóide e basioccipital e a borda externa da bula.

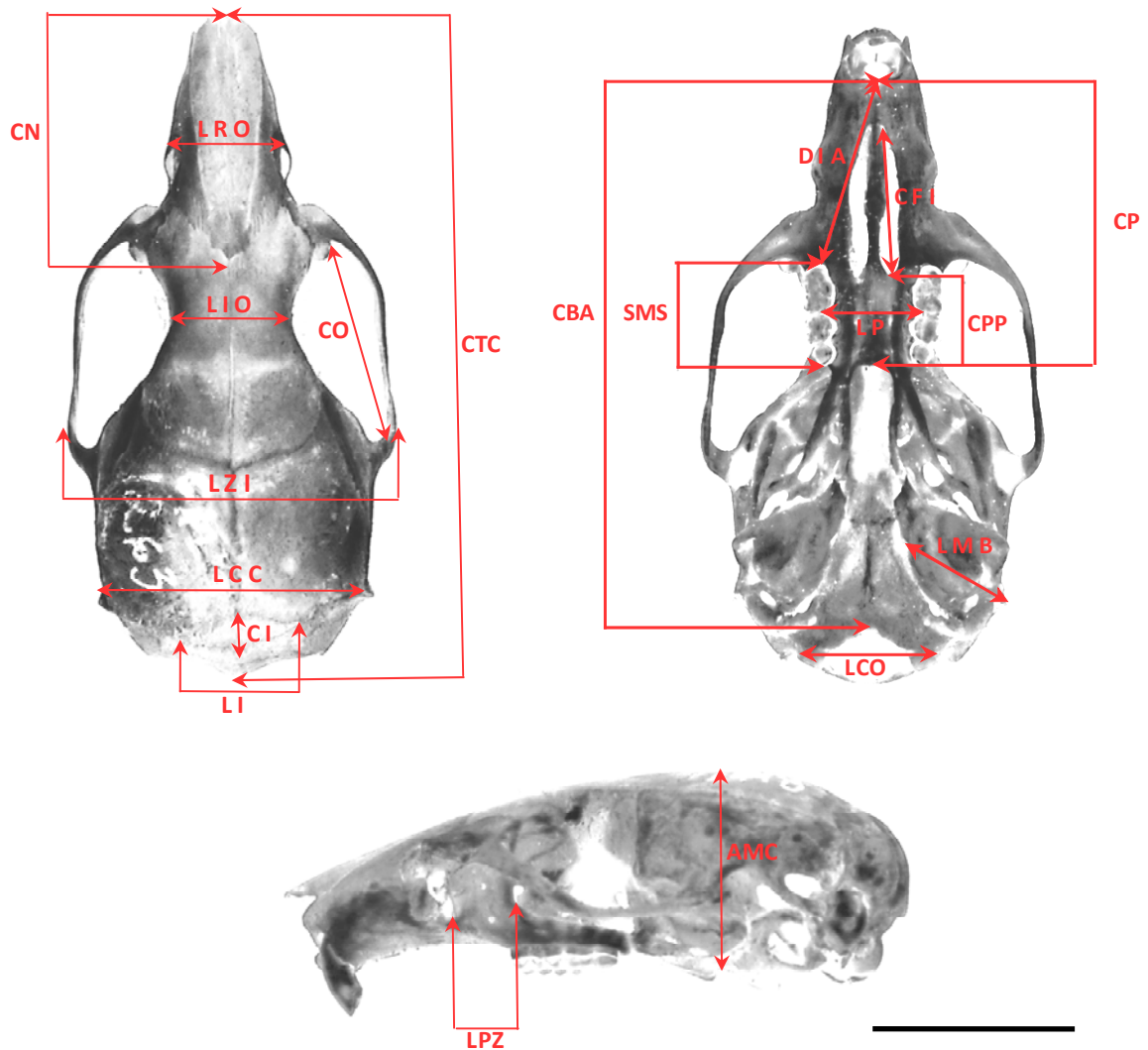


Figura 2. Vista dorsal, ventral e lateral do crânio de *A. cursor* (MZUFV 1263) ilustrando os caracteres morfométricos medidos. CTC (Comprimento total do crânio), LIO (Largura do interorbital), CN (Comprimento dos nasais), CFI (Comprimento do forâmen incisivo), DIA (Diastema), LZI (Largura do arco zigomático), LCC (Largura da caixa craniana), LRO (Largura rostral), SMS (Série molar superior), LPZ (Largura da placa zigomática), CP (Comprimento palatal), CPP (Comprimento da ponte palatal), LCO (Largura entre os cêndilos occipitais), CBA (Comprimento basilar), LI (Largura do interparietal), CI (Comprimento do interparietal), LP (Largura palatal), CO (Comprimento orbital), AMC (Altura máxima do crânio), LMB (Largura máxima da bula). Barra = 10mm.

Variação intrapopulacional

Um passo importante para o reconhecimento de unidades geográficas é a compreensão de níveis de variabilidade intrapopulacionais tais como variações ontogenéticas e dimorfismos sexuais. Este fato deve ser observado para evitar erros na interpretação de dados sobre diferentes populações de um táxon. O estudo da variação intrapopulacional possibilita a seleção prévia de caracteres menos influenciados pelos fatores etários ou sexuais (Brandt & Pessôa, 1994; Pessôa & Reis, 1994; Bandouk & Dos-Reis, 1995).

Considerando-se que diante de uma mesma população os fatores ambientais influenciam os indivíduos de uma forma semelhante, espécimes de uma mesma localidade são úteis em análises de variações morfométricas, pois constituem uma forma de controlar possíveis efeitos de fatores residuais sobre a variação observada permitindo observar as variações que decorrem exclusivamente do sexo e idade de cada indivíduo (Moreira, 2007).

Como ponto inicial no estudo da variabilidade etária em *A. cursor* os indivíduos utilizados nas análises morfológicas obtiveram suas idades estabelecidas a partir da avaliação do desgaste da série molar superior (M1, M2 e M3) com base nas condições de ocorrência de dobras e projeções de esmalte de cada molar. Como este desgaste decorre de um conjunto de variáveis foi estabelecida uma alocação dos espécimes em idades relativas. As terminologias utilizadas nas descrições das topologias dentárias seguem Reig (1977).

As mudanças observadas nos crânios de *A. cursor* devido à idade foram testadas estatisticamente com o uso de análises de variância (ANOVA) para cada sexo separadamente e em conjunto. Para identificar as categorias etárias que apresentaram variáveis com médias significativamente distintas foi realizado teste de Tukey, estabelecido o nível de significância de 5%.

Informações sobre o grau de obliteração de suturas e o desenvolvimento de estruturas cranianas têm sido utilizadas por diversos autores para determinar classes etárias relativas em roedores (Christoff, 1997; Lessa & Pessôa, 2005). Como método auxiliar na determinação das diferenças

devido à idade foram avaliadas duas características ao longo do intervalo ontogenético dos animais: (1) o grau de desenvolvimento do osso lacrimal e (2) a forma da caixa craniana.

Para observar a variação sexual, cada caráter foi comparado por sexo dentro de uma mesma classe etária. Para avaliar diferenças significativas entre os sexos foi realizado o teste *t* de Student.

Todas as análises univariadas foram realizadas através do software Statistica 6.0 para Windows (Statsoft, 2001).

Na busca por padrões gerais de variação no tamanho e forma ao longo das amostras foram realizadas Análises de Componentes Principais (ACP) a partir da matriz de variância-covariância (Manly, 1994) das 20 variáveis log-transformadas para a amostra do PESB com todas as idades. Este análise exploratória é apontada como indicadora da variação multidimensional do fator de tamanho em estudos ontogenéticos com roedores (Reis *et al.*, 1990; Gonçalves, 2001; Lessa & Pêsoa, 2005). Para verificar o grau de variação entre os sexos para todas as variáveis simultaneamente e em todas as classes de idade combinadas, foi realizada uma Análise Canônica Independente-do-Tamanho (Reis *et al.*, 1990).

As análises multivariadas foram executadas utilizando-se o software Matlab 4.2 para Windows (Math Works, 1994).

Variação geográfica

Para os dados ausentes (estruturas danificadas e ou quebradas) foi utilizada uma rotina de verossimilhança máxima de expectativa-maximização (Dempster *et al.*, 1977). Este procedimento estima os dados ausentes ajustando interativamente a matriz de variância-covariância dos caracteres sem alterar acentuadamente a estrutura original dos dados.

Da mesma forma como realizado para a amostra do PESB, foram executadas ACP como método exploratório para avaliar os padrões gerais de tamanho e forma entre quatro populações de *A. cursor* (AC, EF, VIC e PESB).

Em seguida foram realizadas análises discriminantes independente do tamanho com a determinação de grupos geográficos *a priori*.

Dos vinte caracteres craniométricos medidos, dois deles (CI e LI) foram excluídos da análise geográfica por apresentarem grande variabilidade intrapopulacional, de forma semelhante proposta em outros trabalhos (Peres-Neto, 1995).

Posteriormente foram construídos dendogramas utilizando agrupamentos baseados nas Distâncias de Mahalanobis. Como forma de representar graficamente a similaridade multivariada, medida a partir da distância de Mahalanobis, foi utilizado o método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*).

Características qualitativas dos crânios provenientes das oito localidades foram avaliadas de forma aditiva a fim de verificar possíveis variações interpopulacionais. Foram avaliadas alterações na forma e tamanho dos crânios, forma da placa zigomática, o tamanho e forma dos **foramens** pós-glenóide e escamosal, a forma das fossas pterigóide e parapterigóide e a forma do **forâmen** incisivo.

Resultados

Categorias Etárias

As idades relativas dos indivíduos utilizados nas análises morfológicas foram estimadas a partir da avaliação do desgaste da superfície de oclusão da série molar superior (Figura 3). Dessa forma definimos cinco categorias etárias relativas (1 a 5) de acordo com o desgaste dos molares de *A. cursor* em nossa amostra, sendo elas:

Classe 1: M1 e M2 sem desgaste, com suas cúspides bem acuminadas, posterolofos presentes; M1 com cênulos anterolingual e anterolabial bem evidentes, anteroflexo mediano bem marcado; M3 não-eclodido ou recém eclodido ainda com cúspides e flexos não desgastados.

Classe 2: M1, M2 e M3 pouco desgastados, com a superfície oclusiva estreita e cúspides pouco desgastadas; M1 com anteroflexo mediano bem marcado,

muros anterior e posterior estreitos; M1 e M2 com paraflexos e metaflexos distintos circundando o paracone e o metacone respectivamente, posterolofos distintos; M3 com cúspides moderadamente desgastadas, sendo o hipocone o mais desgastado, mas ainda distintas. Paraflexo, metaflexo e hipoflexos ainda presentes.

Classe 3: M1, M2 e M3 moderadamente desgastados com as cúspides linguais apresentando formato mais arredondado (M1 e M2) ou reto (M3); M1 com anteroflexo mediano marcado, muros anterior e posterior estreito; M1 e M2 com paraflexos e metaflexos circundando o paracone e o metacone respectivamente, posterolofos bem reduzidos; M3 com metaflexo reduzido e hipoflexo vestigial, paracone e protocone ainda distintos.

Classe 4: M1, M2 e M3 gastos, com superfície oclusiva bem expandida, cúspides arredondadas; M1 com anteroflexo mediano vestigial ou ausente, muros muito expandidos; M2 com paraflexo vestigial ou ausente; M3 apresentando formato triangular e com a presença apenas do paracone.

Classe 5: M1, M2 e M3 gastos, com superfície oclusiva muito expandida, cúspides (quando presentes) restritas a margem da coroa; M1 com anteroflexo mediano ausente, flexos reduzidos, vestigiais ou ausentes; M2 com aspecto quadrangular; M3 cilíndrico.

Com relação às características qualitativas relacionadas à idade, o lacrimal apresentou aumento de tamanho ao longo do desenvolvimento etário de *A. cursor*. A caixa craniana demonstrou variação no tamanho e na forma ao longo da ontogenia da espécie (Figura 4). Para os indivíduos mais jovens a caixa craniana apresenta-se em um formato arredondado e no decorrer do desenvolvimento ontogenético esta estrutura aumenta em tamanho e toma formatos com traços mais retos, perdendo a característica inicial. Na Figura 5 é apresentada a série ontogenética de *A. cursor* demonstrando o padrão de desenvolvimento ao longo das classes de idade.

Variação intrapopulacional

Análises Univariadas

As análises de variância (ANOVA) revelaram diferenças de tamanho na média das variáveis entre as categorias etárias relativas de *A. cursor*. Foram identificadas 16 variáveis (CTC, CN, CFI, DIA, LZI, LCC, LRO, LPZ, CP, LCO, CPP, CBA, LP, CO, AMC, LMB) que apresentaram aumento de tamanho na média entre as categorias etárias relativas quando analisados os sexos em conjunto. Este fato demonstra a variação craniana durante a ontogenia de *A. cursor*. Apenas a largura interorbital (LIO), o comprimento da série molar superior (SMS) e a largura (LI) e comprimento (CI) do interparietal não apresentaram diferenças significativas entre as classes de idade reconhecidas, demonstrando uma grande variabilidade destes caracteres morfométricos entre as classes de idade relativas (Tabela 1). Para ambos os sexos foi observado um padrão de aumento de tamanho das variáveis na média entre as classes de idade. De uma maneira geral as variáveis estudadas apresentam um crescimento contínuo durante a ontogenia da espécie. Porém, algumas delas (CN, CFI, LCC, LPZ, CO) tiveram um aumento em suas dimensões nas primeiras categorias etárias (1 e 2).

Quando os sexos foram avaliados separadamente observou-se que machos e fêmeas apresentaram caracteres que aumentaram significativamente de tamanho em média entre as categorias etárias relativas sendo 15 (CTC, CN, CFI, DIA, LZI, LCC, LRO, LPZ, CP, SMS, CPP, CBA, LP, CO, AMC) nos machos e oito (CTC, CN, CFI, DIA, SMS, CP, CBA, LP) nas fêmeas. A variável SMS (Série molar superior) apresentou-se não significativa quando avaliados os sexos combinados e significativa com os sexos separados.

De acordo com o teste de Tukey pode-se detectar quais foram as classes de idade relativa que apresentaram diferenças significativas entre as médias das variáveis mensuradas (Tabela 1).

As classes de idade relativas foram avaliadas de duas a duas para diagnosticar a similaridade entre as médias observadas. Este procedimento foi realizado para a amostra total e com cada sexo. Durante esta etapa foi

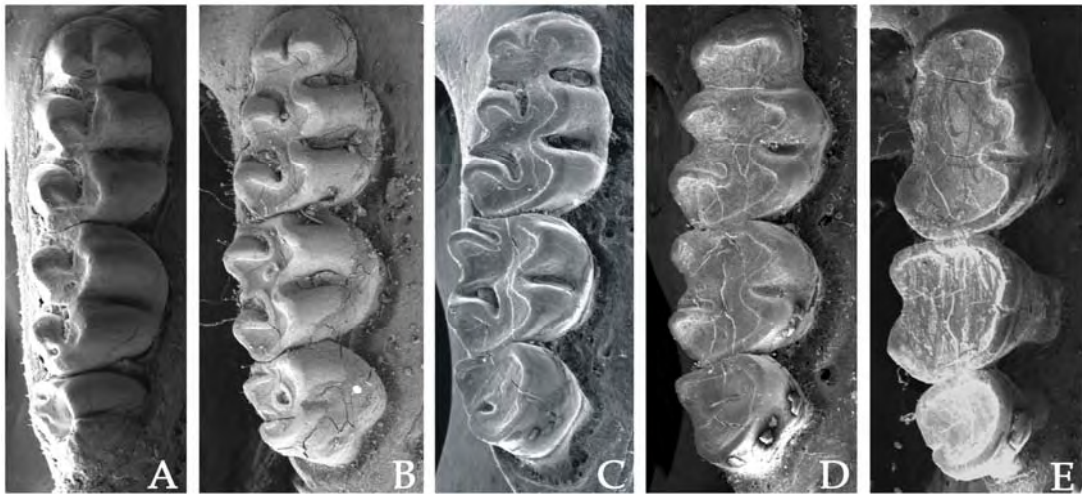


Figura 3. Padrões de desgaste dentário da superfície de oclusão da série molar superior em *A. cursor*. (A) Idade 1, (B) Idade 2, (C) Idade 3, (D) Idade 4 e (E) Idade 5.

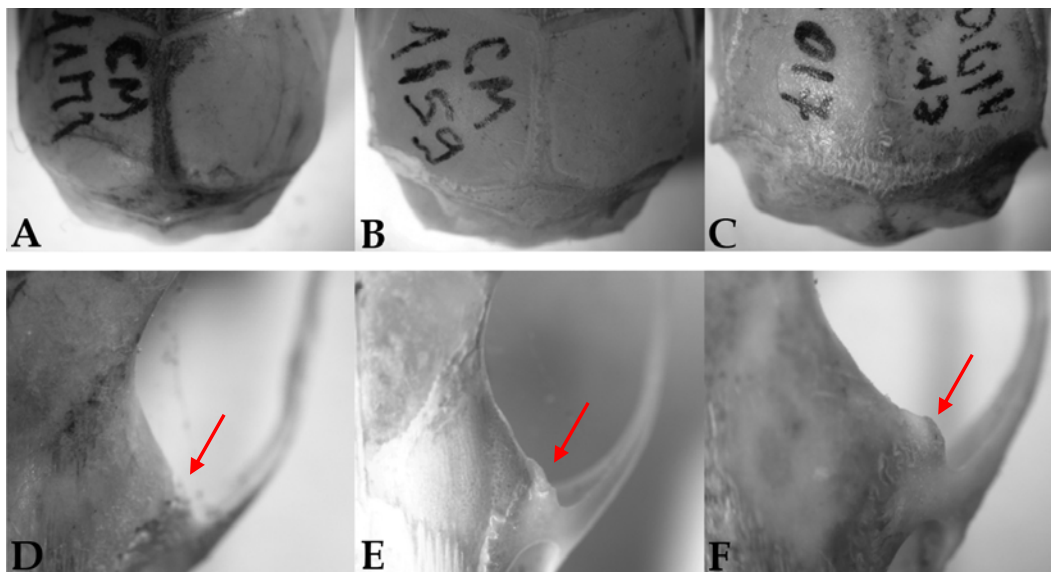


Figura 4. Variação morfológica etária observada na alteração do formato da caixa craniana (A-C) e desenvolvimento do lacrimal (D-F) ao longo da ontogenia de *A. cursor* provenientes do PESB. Idade 1 (A e D), Idade 3 (B e E) e Idade 5 (C e F).

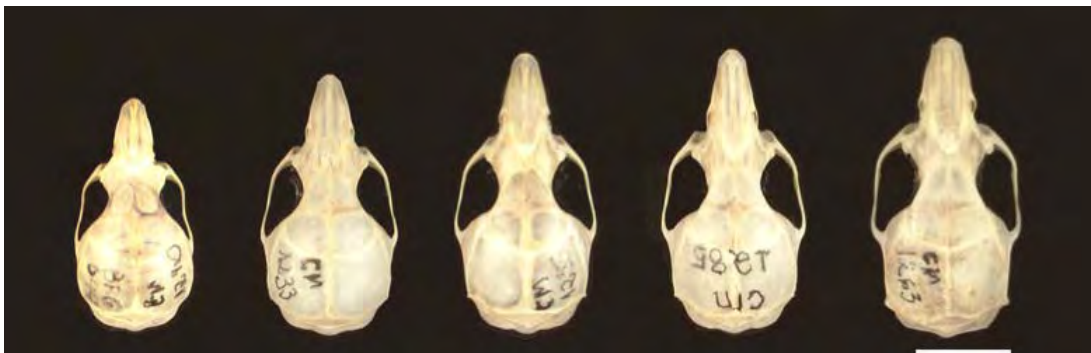


Figura 5. Vista dorsal da série ontogenética de *Akodon cursor*. Idades 1-5 da esquerda para a direita. Barra = 10mm.

identificado que as classes de idade 3 e 4 apresentaram maior número de variáveis com médias estatisticamente iguais. Para a amostra total foram identificadas 19 variáveis com médias iguais, sendo apenas a média da variável largura palatal (LP) significativamente distinta. Para as amostras de cada sexo foi verificado que machos e fêmeas apresentam igualdade de médias para todas as variáveis entre as classes de idade relativas 3 e 4.

Variação sexual

O teste *t* revelou diferenças estatisticamente significativas na média de 12 caracteres entre machos e fêmeas (Tabela 2). Apenas para a variável SMS (Série molar superior) na idade 2 as fêmeas apresentaram tamanho médio estatisticamente superior aos machos. Foi possível observar que nas idades 4 e 5, machos e fêmeas exibem um maior número de variáveis significativamente distintas (5) o que demonstra um possível aumento no dimorfismo sexual durante a ontogenia da espécie.

A análise do dimorfismo sexual com as classes de idade combinadas mostrou uma diferença significativa para as variáveis LCC (Largura da caixa craniana) e LRO (Largura rostral) com os machos com valores médios estatisticamente maiores aos das fêmeas.

Componentes de Variação

A maior proporção de variabilidade adicionada à amostra total dos exemplares da população de *Akodon cursor* provenientes da Serra do Brigadeiro foi pelo resíduo (59,33%). Quando avaliados os indivíduos das classes de idade relativas de 3 a 5 o resíduo contribuiu com 74,41% da variação nos dados obtidos. O fator etário é a segunda maior fonte de variação contribuindo com 32,28% na variação dos dados. A variação etária é influenciada principalmente por 10 caracteres que possuem valores superiores a média geral (Tabela 3). Quando analisadas apenas as classes de idade relativas de 3 a 5 a contribuição do fator etário cai para 10,87%.

Tabela 1. Estatística descritiva, análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey [] para os sexos combinados das 20 variáveis estudadas em crânios de *Akodon cursor* provenientes do PESB. Letras diferentes no teste de Tukey [] indicam médias significativamente distintas.

Variável	Classes de Idade															Total			F	p
	Idade 1			Idade 2			Idade 3			Idade 4			Idade 5							
	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP		
CTC	6	25.370[A]	0.661	15	27.864[B]	0.813	24	28.707[C]	0.891	23	29.085[CD]	0.919	9	29.844[D]	1.041	77	28.528	1.390	28.42	0.000
LIO	6	5.215[A]	0.169	15	5.281[A]	0.154	24	5.374[A]	0.202	23	5.360[A]	0.148	9	5.438[A]	0.128	77	5.347	0.174	2.36	0.615
CN	6	9.057[A]	0.376	15	10.307[B]	0.499	24	10.797[C]	0.461	23	10.960[C]	0.450	9	11.327[C]	0.682	77	10.677	0.735	24.83	0.000
CFI	6	5.415[A]	0.362	15	6.026[B]	0.324	24	6.382[C]	0.327	23	6.452[C]	0.328	9	6.731[C]	0.300	77	6.299	0.457	19.19	0.000
DIA	6	6.243[A]	0.249	15	7.089[B]	0.357	24	7.518[C]	0.298	23	7.668[C]	0.372	9	8.188[D]	0.522	77	7.458	0.586	32.28	0.000
LZI	5	13.468[A]	0.617	14	14.468[B]	0.536	24	14.714[B]	0.525	21	14.892[BC]	0.555	8	15.356[C]	0.393	72	14.703	0.665	11.16	0.000
LCC	6	11.406[A]	0.522	15	11.986[B]	0.243	24	12.037[B]	0.353	23	12.053[B]	0.371	9	12.034[B]	0.391	77	11.982	0.389	4.26	0.003
LRO	6	4.220[A]	0.258	15	4.596[AB]	0.324	24	4.689[B]	0.227	23	4.798[BC]	0.306	9	5.052[C]	0.288	77	4.709	0.336	9.08	0.000
SMS	6	4.565[A]	0.152	15	4.509[A]	0.132	24	4.561[A]	0.124	23	4.506[A]	0.146	9	4.564[A]	0.131	77	4.535	0.135	0.79	0.529
LPZ	6	2.138[A]	0.131	15	2.388[B]	0.161	24	2.421[B]	0.214	23	2.472[B]	0.159	9	2.447[B]	0.207	77	2.411	0.197	4.15	0.004
CP	6	10.262[A]	0.279	15	11.242[B]	0.404	24	11.718[C]	0.399	23	11.920[C]	0.445	9	12.503[D]	0.798	77	11.664	0.709	25.52	0.000
LCO	6	6.283[A]	0.413	15	6.574[AB]	0.222	24	6.666[AB]	0.214	22	6.662[AB]	0.230	9	6.991[B]	0.949	76	6.655	0.414	3.17	0.018
CPP	6	3.740[A]	0.371	15	3.816[A]	0.213	24	3.917[AB]	0.261	23	3.990[AB]	0.251	9	4.155[B]	0.291	77	3.933	0.279	3.47	0.001
CBA	6	19.211[A]	0.765	15	21.410[B]	0.621	24	22.226[C]	0.799	22	22.598[C]	0.778	9	24.084[D]	1.148	76	22.154	1.388	37.67	0.000
CI	6	1.560[A]	0.354	15	1.593[A]	0.306	24	1.660[A]	0.338	23	1.558[A]	0.335	9	1.631[A]	0.264	77	1.605	0.319	0.34	0.849
LI	6	6.413[A]	1.166	15	6.769[A]	1.415	24	7.0704[A]	1.187	23	6.652[A]	0.767	9	6.503[A]	1.507	77	6.769	1.160	0.71	0.586
LP	6	2.872[A]	0.209	15	3.205[B]	0.222	24	3.352[B]	0.175	23	3.544[C]	0.167	9	3.835[D]	0.226	77	3.400	0.306	30.58	0.000
CO	6	8.402[A]	0.386	15	9.111[B]	0.347	24	9.159[B]	0.352	23	9.304[BC]	0.303	8	9.575[C]	0.298	76	9.177	0.420	11.93	0.000
AMC	6	8.767[A]	0.375	15	9.198[B]	0.280	24	9.294[B]	0.233	23	9.329[B]	0.332	9	9.465[B]	0.255	77	9.265	0.325	6.09	0.000
LMB	6	3.753[A]	0.414	15	4.101[B]	0.448	24	4.081[B]	0.467	22	4.395[B]	0.381	9	4.104[B]	0.411	76	4.153	0.455	3.29	0.000

Tabela 2. Teste *t* para variação sexual das cinco classes de idade para as 20 variáveis estudadas em crânios de *Akodon cursor* provenientes do PESB, Minas Gerais. Valores de *t* negativos indicam que a média dos machos é maior. Valores *p* em negrito indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias da variável para cada sexo.

		Classes de Idade																			
		Idade 1				Idade 2				Idade 3				Idade 4				Idade 5			
		Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>
CTC	♀	25.22 (1)	0.00	0.20	0.86	27.68 (4)	0.72	-0.47	0.65	28.55 (13)	0.96	-0.82	0.42	28.68 (12)	0.67	-2.44	0.02	28.92 (3)	1.04	-2.35	0.05
	♂	25.05 (3)	0.73			27.93 (9)	0.97			28.87 (10)	0.84			29.53 (11)	0.98			30.31 (6)	0.73		
LIO	♀	5.15 (1)	0.00	-0.30	0.79	5.35 (4)	0.19	0.90	0.39	5.41 (13)	0.23	0.94	0.36	5.31 (12)	0.14	-1.64	0.12	5.47 (3)	0.11	0.45	0.66
	♂	5.23 (3)	0.22			5.26 (9)	0.15			5.33 (10)	0.16			5.41 (11)	0.15			5.42 (6)	0.14		
CN	♀	9.30 (1)	0.00	1.46	0.28	10.44 (4)	0.71	0.33	0.75	10.69 (13)	0.41	-1.14	0.27	10.93 (12)	0.34	-0.32	0.75	10.67 (3)	0.19	-2.74	0.03
	♂	8.77 (3)	0.32			10.33 (9)	0.45			10.91 (10)	0.52			10.99 (11)	0.56			11.66 (6)	0.59		
CFI	♀	5.47 (1)	0.00	1.15	0.37	5.95 (4)	0.31	-0.77	0.46	6.41 (13)	0.40	0.33	0.74	6.35 (12)	0.27	-1.55	0.14	6.53 (3)	0.40	-1.54	0.17
	♂	5.21 (3)	0.19			6.10 (9)	0.35			6.36 (10)	0.23			6.56 (11)	0.37			6.83 (6)	0.21		
DIA	♀	6.44 (1)	0.00	1.20	0.35	6.96 (4)	0.24	-0.82	0.43	7.49 (13)	0.33	-0.37	0.71	7.54 (12)	0.26	-1.84	0.08	7.62 (3)	0.27	-3.67	0.01
	♂	6.08 (3)	0.26			7.15 (9)	0.43			7.54 (10)	0.27			7.81 (11)	0.44			8.47 (6)	0.35		
LZI	♀	13.79 (1)	0.00	0.53	0.65	14.64 (4)	0.24	0.80	0.44	14.51 (13)	0.58	-2.20	0.04	14.64 (10)	0.59	-2.11	0.05	15.12 (3)	0.24	-1.43	0.20
	♂	13.30 (3)	0.81			14.35 (9)	0.69			14.97 (10)	0.36			15.12 (11)	0.43			15.50 (5)	0.42		
LCC	♀	11.00 (1)	0.00	-1.01	0.42	12.09 (4)	0.13	0.84	0.42	11.95 (13)	0.41	-1.56	0.13	11.87 (12)	0.27	-2.86	0.01	11.84 (3)	0.34	-1.04	0.33
	♂	11.54 (3)	0.46			11.96 (9)	0.28			12.17 (10)	0.24			12.25 (11)	0.37			12.13 (6)	0.41		
LRO	♀	4.11 (1)	0.00	-0.46	0.69	4.50 (4)	0.30	-0.49	0.63	4.65 (13)	0.20	-0.91	0.38	4.69 (12)	0.22	-1.85	0.08	4.75 (3)	0.11	-3.38	0.01
	♂	4.30 (3)	0.36			4.60 (9)	0.36			4.74 (10)	0.27			4.92 (11)	0.35			5.20 (6)	0.21		
SMS	♀	4.32 (1)	0.00	-5.11	0.04	4.66 (4)	0.09	4.00	0.00	4.52 (13)	0.13	-1.85	0.08	4.46 (12)	0.12	-1.69	0.11	4.45 (3)	0.09	-2.29	0.06
	♂	4.54 (3)	0.04			4.44 (9)	0.10			4.61 (10)	0.11			4.56 (11)	0.16			4.62 (6)	0.11		
LPZ	♀	2.30 (1)	0.00	1.24	0.34	2.33 (4)	0.09	-0.63	0.54	2.44 (13)	0.22	0.35	0.73	2.43 (12)	0.18	-1.48	0.15	2.43 (3)	0.29	-0.19	0.85
	♂	2.10 (3)	0.14			2.39 (9)	0.19			2.40 (10)	0.23			2.52 (11)	0.12			2.46 (6)	0.19		
CP	♀	10.19 (1)	0.00	0.11	0.92	11.24 (4)	0.33	-0.07	0.95	11.63 (13)	0.44	-0.97	0.34	11.74 (12)	0.34	-2.24	0.04	11.72 (3)	0.36	-2.90	0.02
	♂	10.16 (3)	0.21			11.25 (9)	0.49			11.80 (10)	0.36			12.12 (11)	0.47			12.90 (6)	0.64		

Tabela 2. (Continuação) Teste *t* para variação sexual das cinco classes de idade para as 20 variáveis estudadas em crânios de *Akodon cursor* provenientes do PESB, Minas Gerais. Valores de *t* negativos indicam que a média dos machos é maior. Valores *p* em negrito indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias da variável para cada sexo.

		Classes de Idade																			
		Idade 1				Idade 2				Idade 3				Idade 4				Idade 5			
		Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>	Média(n)	DP	<i>t</i>	<i>p</i>
LCO	♀	5.98 (1)	0.00	-0.41	0.72	6.69 (4)	0.26	1.18	0.26	6.64 (13)	0.20	-0.78	0.44	6.60 (12)	0.24	-1.45	0.16	6.61 (3)	0.23	-0.84	0.43
	♂	6.26 (3)	0.59			6.53 (9)	0.22			6.71 (10)	0.24			6.74 (10)	0.21			7.18 (6)	1.13		
CPP	♀	3.44 (1)	0.00	-0.74	0.54	3.95 (4)	0.25	1.72	0.11	3.84 (13)	0.23	-1.16	0.26	3.92 (12)	0.18	-1.51	0.15	4.00 (3)	0.29	-1.16	0.28
	♂	3.88 (3)	0.51			3.73 (9)	0.19			3.96 (10)	0.25			4.07 (11)	0.30			4.23 (6)	0.28		
CBA	♀	18.86 (1)	0.00	-0.04	0.97	21.16 (4)	0.43	-0.85	0.41	22.07 (13)	0.88	-0.91	0.37	22.24 (12)	0.69	-2.69	0.01	22.81 (3)	0.53	-4.01	0.01
	♂	18.90 (3)	0.88			21.50 (9)	0.75			22.38 (10)	0.71			23.03 (10)	0.68			24.72 (6)	0.73		
CI	♀	0.84 (1)	0.00	-14.72	0.00	1.44 (4)	0.22	-0.89	0.39	1.68 (13)	0.38	0.27	0.79	1.54 (12)	0.33	-0.31	0.76	1.44 (3)	0.19	-1.75	0.12
	♂	1.69 (3)	0.05			1.61 (9)	0.34			1.64 (10)	0.32			1.58 (11)	0.36			1.73 (6)	0.25		
LI	♀	4.52 (1)	0.00	-10.38	0.01	6.26 (4)	2.05	-0.66	0.52	7.22 (13)	0.85	0.84	0.41	6.85 (12)	0.74	1.29	0.21	5.92 (3)	1.67	-0.80	0.45
	♂	6.32 (3)	0.15			6.86 (9)	1.29			6.80 (10)	1.57			6.44 (11)	0.77			6.79 (6)	1.49		
LP	♀	3.02 (1)	0.00	0.70	0.56	3.28 (4)	0.15	0.54	0.60	3.31 (13)	0.17	-1.21	0.24	3.51 (12)	0.15	-0.89	0.38	3.75 (3)	0.14	-0.78	0.46
	♂	2.79 (3)	0.29			3.20 (9)	0.26			3.40 (10)	0.19			3.58 (11)	0.19			3.88 (6)	0.26		
CO	♀	8.69 (1)	0.00	0.67	0.57	9.05 (4)	0.07	-0.45	0.66	9.11 (13)	0.37	-0.67	0.51	9.26 (12)	0.30	-0.74	0.47	9.42 (3)	0.29	-1.20	0.28
	♂	8.29 (3)	0.51			9.15 (9)	0.44			9.21 (10)	0.35			9.35 (11)	0.31			9.67 (5)	0.29		
AMC	♀	8.66 (1)	0.00	0.71	0.55	9.22 (4)	0.22	0.69	0.50	9.31 (13)	0.26	0.27	0.79	9.19 (12)	0.33	-2.23	0.04	9.34 (3)	0.06	-1.05	0.33
	♂	8.53 (3)	0.16			9.11 (9)	0.27			9.28 (10)	0.22			9.48 (11)	0.27			9.53 (6)	0.30		
LMB	♀	4.43 (1)	0.00	2.28	0.15	4.15 (4)	0.58	0.04	0.97	3.95 (13)	0.53	-1.59	0.13	4.36 (12)	0.44	-0.41	0.68	3.84 (3)	0.55	-1.43	0.20
	♂	3.74 (3)	0.26			4.14 (9)	0.41			4.26 (10)	0.35			4.43 (10)	0.31			4.24 (6)	0.29		

n = número amostral; DP = Desvio padrão; CTC (Comprimento total do crânio), LIO (Largura do interorbital), CN (Comprimento dos nasais), CFI (Comprimento do forâmen incisivo), DIA (Diastema), LZI (Largura do arco zigomático), LCC (Largura da caixa craniana), LRO (Largura rostral), SMS (Série molar superior), LPZ (Largura da placa zigomática), CP (Comprimento palatal), CPP (Comprimento da ponte palatal), LCO (Largura entre os côndilos occipitais), CBA (Comprimento basilar), LI (Largura do interparietal), CI (Comprimento do interparietal), LP (Largura palatal), CO (Comprimento orbital), AMC (Altura máxima do crânio), LMB (Largura máxima da bula).

Tabela 3. Valores percentuais de contribuição dos componentes de variação (Sexo, Idade e Interação) para as variáveis morfométricas avaliadas na população de *A. cursor* do PESB.

Variável	Idades 1 a 5					Idades 3 a 5				
	N	Sexo	Idade	Interação	Resíduo	N	Sexo	Idade	Interação	Resíduo
CTC	77	6,2	62,02	0	31,78	56	19,64	10,04	2,18	68,14
LIO	77	0	8,64	1,02	90,34	56	0,00	0,00	9,01	90,99
CN	77	0	56,36	5,56	38,08	56	4,56	1,33	14,31	79,81
CFI	77	0,66	54,49	0	44,85	56	0,03	7,61	0,00	92,36
DIA	77	2,8	60,94	6,96	29,3	56	5,73	17,68	20,93	55,66
LZI	72	4,45	39,21	4,47	51,87	53	25,10	14,57	0,00	60,33
LCC	77	11,29	16,68	0,52	71,51	56	22,80	0,64	0,00	76,57
LRO	77	11,64	31,51	0	56,85	56	17,84	11,02	5,12	66,03
SMS	77	0	0	39,49	60,51	56	30,06	4,11	0,00	65,83
LPZ	77	0	17,59	0	82,41	56	0,00	2,14	0,00	97,86
CP	77	5,78	54,56	7,88	31,78	56	15,83	10,01	18,76	55,40
LCO	76	0,78	13,62	6,05	79,55	55	3,52	3,89	7,52	85,07
CPP	77	3,67	8,45	17,83	70,05	56	23,08	9,4	0,00	67,48
CBA	76	6,32	67,56	3,14	22,98	55	14,17	30,25	11,45	44,13
CI	77	0,1	0	8,08	91,82	56	0,00	0,00	0,00	100,00
LI	77	0	0	2,74	97,26	56	0,03	0,00	0,00	99,97
LP	77	0	67,56	0,87	31,57	56	3,61	61,60	0,00	34,79
CO	76	1,23	39,13	0	59,64	55	4,25	19,90	0,00	75,85
AMC	77	0	39,85	3,71	56,44	56	2,68	0,00	5,13	92,19
LMB	76	0	7,45	4,61	87,94	55	7,11	13,17	0,00	79,72
Média		2,75	32,28	5,64	59,33		10,00	10,87	4,72	74,41

CTC (Comprimento total do crânio), LIO (Largura do interorbital), CN (Comprimento dos nasais), CFI (Comprimento do forâmen incisivo), DIA (Diastema), LZI (Largura do arco zigomático), LCC (Largura da caixa craniana), LRO (Largura rostral), SMS (Série molar superior), LPZ (Largura da placa zigomática), CP (Comprimento palatal), CPP (Comprimento da ponte palatal), LCO (Largura entre os côndilos occipitais), CBA (Comprimento basilar), LI (Largura do interparietal), CI (Comprimento do interparietal), LP (Largura palatal), CO (Comprimento orbital), AMC (Altura máxima do crânio), LMB (Largura máxima da bula).

Análises Multivariadas

A ACP foi calculada para explorar os padrões de variação nos fatores de tamanho e forma ao longo das cinco classes etárias dos indivíduos coletados no PESB. O primeiro Componente Principal (CP1) sumarizou 38,04% do total da variação e o segundo Componente (CP2) 26,72%, o que explica um total de 64,76% da variação etária dentro da amostra. Todos os caracteres encontraram-se positivamente correlacionados com o CP1, podendo este ser interpretado como um eixo de variação no fator tamanho. Entretanto não foi possível uma total separação das classes de idade pelo CP1 sendo a distinção entre a classe de idade relativa 1 e as demais melhor evidenciada pelo eixo do CP2. Esta análise não foi concordante com a

estatística univariada a qual foi útil na distinção das classes de idade pela ANOVA, o que determina uma diferença da classe 1 com as demais em relação ao tamanho das variáveis (Figura 6A).

Uma das exigências da ACP é de que as variáveis apresentem uma correlação linear entre si, o que ocorre de uma maneira geral para variáveis morfométricas, visto que um organismo cresce "por inteiro" (Peres-Neto, 1995). Dessa forma, foram excluídas as variáveis CI e LI por possuírem elevada variabilidade entre as classes de idade. Em seguida realizou-se uma nova ACP. Nesta segunda análise o CP1 sumarizou 57,68% do total da variação e o CP2 14,29%, totalizando 71,97% da variação. Novamente o CP1 obteve todos os caracteres positivamente correlacionados. Nesta análise foi possível observar que as classes de idade estão claramente distribuídas em ordem crescente no espaço morfométrico multivariado, mesmo ocorrendo algumas áreas de sobreposição. Elipses com intervalo de confiança de 95% obtidas para os centróides facilitam a interpretação dos padrões discriminantes para as classes etárias (Figura 6B). A partir deste gráfico é possível observar a consonância da ACP com as análises univariadas, observando maior similaridade entre os indivíduos das classes 3 e 4 em relação às demais.

A análise Canônica Discriminante Independente do Tamanho para a variação sexual dentro da população do PESB corroborou as análises univariadas demonstrando um reduzido dimorfismo sexual entre os sexos apontado pela alta sobreposição dos escores individuais. Os machos apresentaram tamanhos ligeiramente superiores aos das fêmeas (Figura 7).

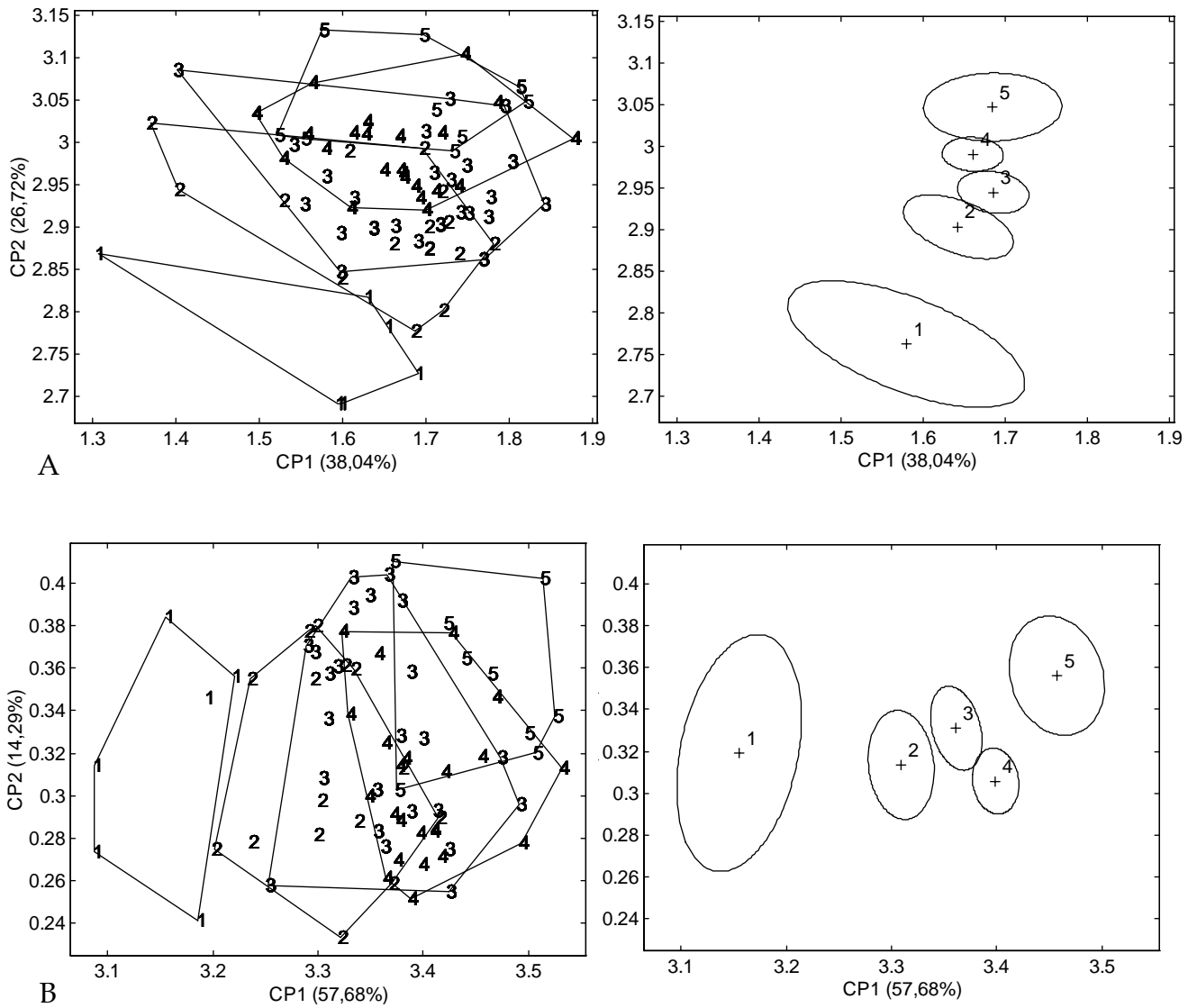


Figura 6. Análise de Componentes Principais (CP1 e CP2) dentro da população de *Akodon cursor* proveniente do PESB. **(A)** Projeção dos escores individuais identificados pela idade relativa (1, 2, 3, 4 e 5) e elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras com os 20 caracteres morfométricos; **(B)** Projeção dos escores individuais identificados pela idade relativa (1, 2, 3, 4 e 5) e elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras sem os caracteres CI e LI.

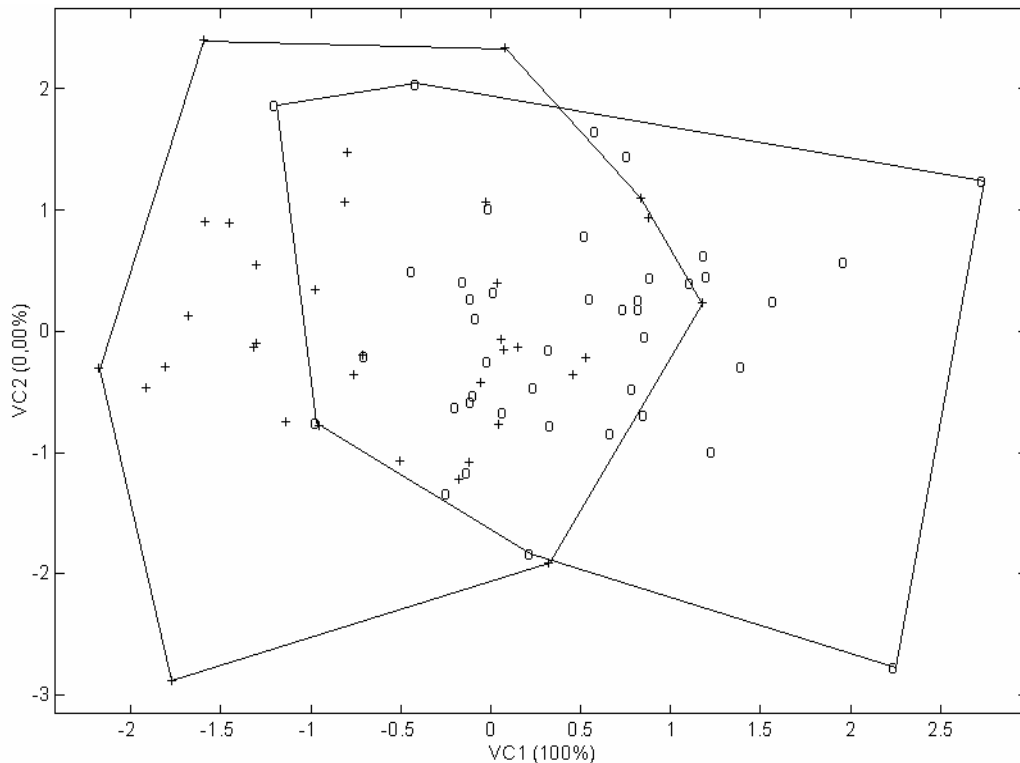


Figura 7. Projeção dos escores individuais de indivíduos machos (o) e fêmeas (+) de *Akodon cursor* provenientes do PESB para a análise discriminante canônica independente do tamanho.

Variação geográfica

As análises de Componentes Principais e Discriminante Canônica evidenciaram uma separação entre as populações do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) e de Viçosa (VIC) com a população de Espera Feliz (EF) assumindo uma posição intermediária entre elas. A população de Abre Campo (AC) apresentou áreas de sobreposição com as populações de EF e do PESB na análise de componentes principais. Para a Análise de Componentes Principais realizada com as amostras de AC, EF, VIC e do PESB, o primeiro componente principal (CP1) representou 58,56% da variação enquanto o segundo componente principal (CP2) respondeu por 10,98%. Todos os 18 caracteres apresentaram coeficientes positivos com relação ao CP1, podendo dessa forma ser interpretado com um eixo de variação do tamanho. Ao longo do eixo CP1 observou-se que somente a população de AC mostrou-se mais distinta, mas ainda assim apresentando sobreposição as demais, possivelmente um artefato da baixa amostragem (n=3). Entretanto, no eixo CP2, foi possível visualizar uma separação entre as

populações de EF, de VIC e do PESB (Figura 8).

Na análise discriminante canônica independente do tamanho, as duas primeiras variáveis VC1 e VC2 explicaram 50,15% e 29,51%, respectivamente, da discriminação morfométrica craniana entre os grupos. De acordo com essa análise, as populações de Viçosa e do PESB discriminam-se ao longo de VC1 e encontram-se totalmente sobrepostas ao longo do eixo VC2. A população de EF mostrou-se distinta com relação às demais ao longo do eixo VC2. No eixo de VC1 apresentou uma sobreposição com a população do PESB.

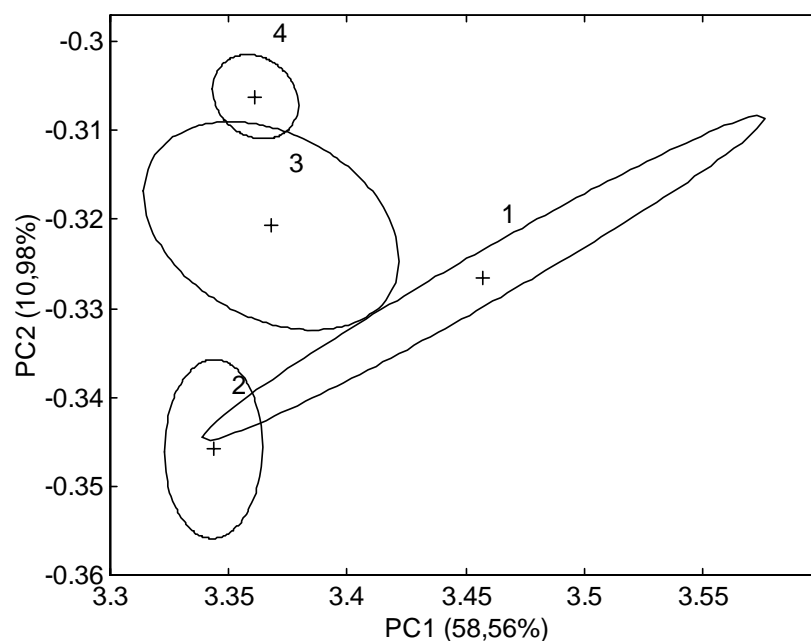


Figura 8. Análise de Componentes Principais com as elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras das populações de *Akodon cursor* de remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais. 1- Abre Campo, 2- Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 3- Espera Feliz e 4- Viçosa.

Assim como na ACP a população de Abre Campo apresentou uma elipse de 95% de confiança dos dados com grande amplitude para a análise canônica. Esta população apresentou sobreposição com as demais ao longo do eixo VC1 sendo discriminada somente pelo eixo de VC2 (Figura 9). Provavelmente devido ao artefato de amostragem a população de Abre Campo apresentou intervalos de confiança de grandes amplitudes. Portanto as considerações a respeito desta população devem ser cautelosas até que um maior número de exemplares seja adicionado à amostra.

Os vetores de correlação, entre as variáveis analisadas, que mais contribuíram para a diferenciação entre as populações foram o comprimento total do crânio (CTC), o comprimento do forâmen incisivo (CFI), a largura da caixa craniana (LCC) e o comprimento basilar (CBA) (Figura 10).

Com base na análise qualitativa dos exemplares examinados não foram encontradas características distintas entre as populações sob estudo. De uma forma geral os crânios de *A. cursor* analisados apresentaram os ossos nasais e lacrimais ultrapassando a parte anterior dos incisivos, os forâmens incisivos ultrapassando a linha de M1 atingindo a altura do proflexo, a placa zigomática muito variável podendo obter aspecto “reto” ou “arredondado”, forâmens pós-glenóide e pós-escamosal similares em tamanho, ausência de cristas supra-orbitais, séries molares paralelas, fossa pterigóide em forma de “U” atingindo o limite posterior de M3 e a fossa parapterigóide estreita na porção anterior com leve expansão na região posterior.

O padrão de agrupamento fornecido pelo UPGMA demonstra uma separação da população de Abre Campo com relação às demais. As populações de Viçosa e Espera Feliz mostraram-se mais similares de acordo com o fenograma obtido (Figura 11).

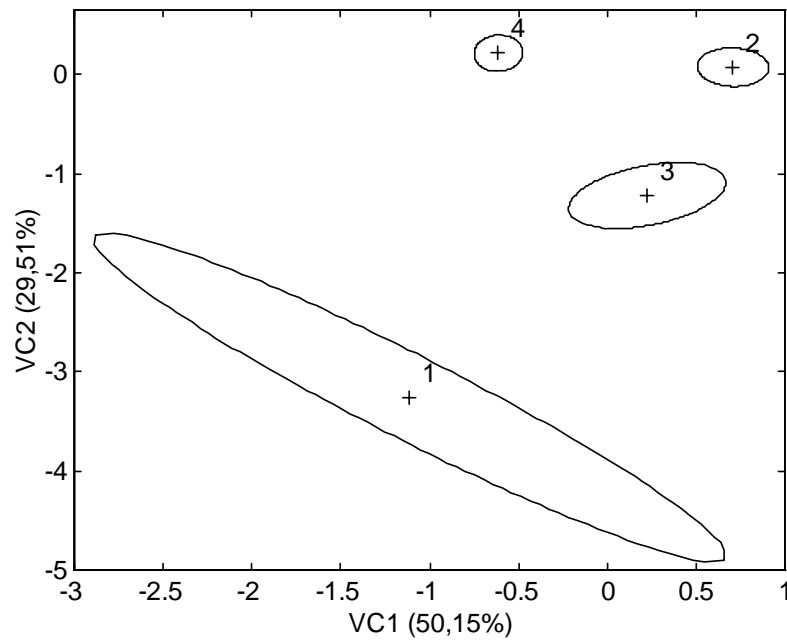


Figura 9. Análise Discriminante Canônica Independente do Tamanho com as elipses de 95% dos centróides das amostras das populações de remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais. 1- Abre Campo, 2-Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 3- Espera Feliz e 4- Viçosa.

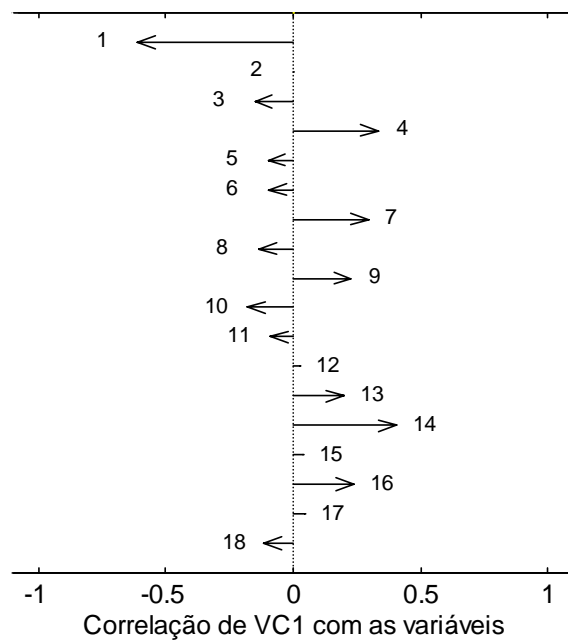


Figura 10. Correlação das 18 variáveis com relação ao eixo da variável canônica 1 (VC1). 1- CTC, 2- LIO, 3- CN, 4- CFI, 5- DIA, 6- LZI, 7- LCC, 8- LRO, 9- SMS, 10- LPZ, 11- CP, 12- LCO, 13- CPP, 14- CBA, 15- LP, 16- CO, 17- AMC, 18- LMB.

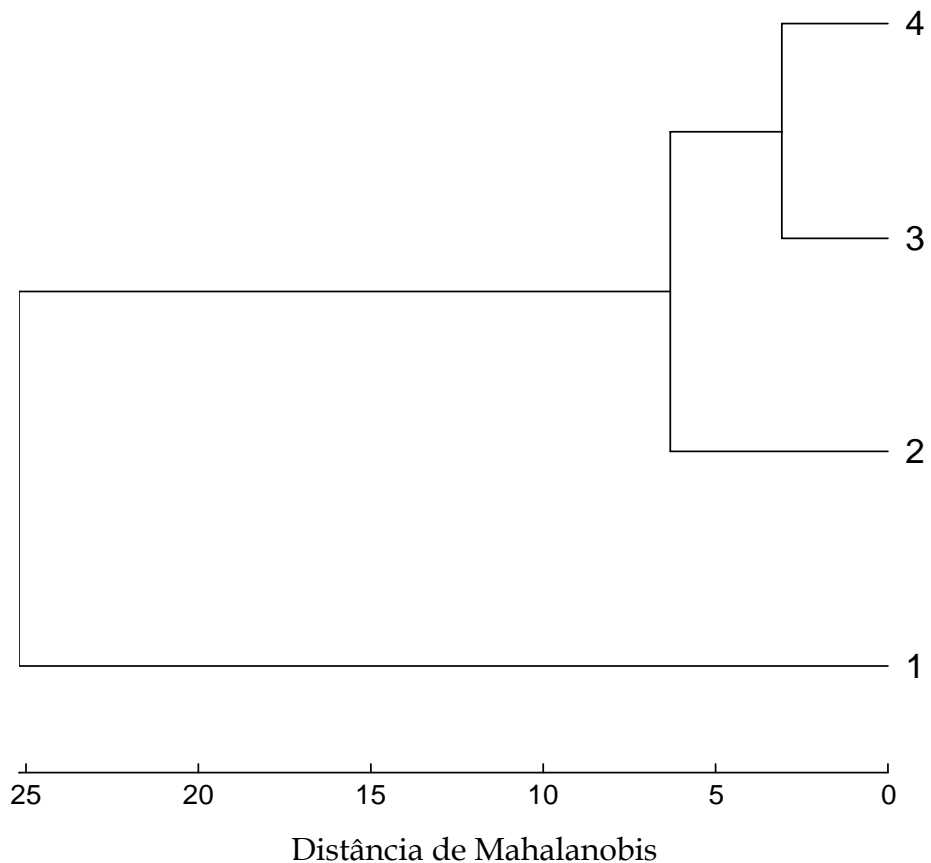


Figura 11. Fenograma construído por UPGMA ilustrando os padrões de similaridade morfométrica inferidos a partir das Distâncias de Mahalanobis. Abreviações das localidades: 1- Abre Campo, 2-PESB, 3- Espera Feliz e 4- Viçosa.

Discussão

Variação intrapopulacional

O aumento nas dimensões cranianas é mais acentuado durante o início do desenvolvimento ontogenético da espécie de acordo com os dados obtidos em nosso estudo. Apesar da diferença entre as classes de idade relativas, o fator responsável pela maior variação dos dados correspondeu ao resíduo (59,33%) contra 32,28% correspondentes ao fator etário. Estes dados diferem de estudos em geral, os quais têm demonstrado que o fator ontogenético é responsável pela maior parte da variação encontrada em populações de roedores, como *Oryzomys* (Brandt & Pessoa, 1994) e *Zygodontomys* (Voss *et al.*, 1990). Entretanto, a maior fonte de variação referida ao fator residual foi encontrada também para a população do roedor *Thaptomys nigrita* proveniente do PESB (Moreira, 2007).

Alterações qualitativas ao longo da ontogenia craniana em roedores têm sido apontadas como indicativas para a classificação etária de indivíduos (Brandt & Pêssoa, 1994; Christoff, 1997; Lessa & Pêssoa, 2005). A análise qualitativa dos crânios de *A. cursor* em nosso estudo permitiu a visualização da alteração da forma da caixa craniana e desenvolvimento do lacrimal ao longo da ontogenia da espécie demonstrando a aplicação de caracteres qualitativos na determinação de classes etárias em *A. cursor*. Para a região rostral também foi evidenciado um grande desenvolvimento, fato este evidenciado em outros trabalhos com *A. cursor* provenientes de várias localidades do país (Christoff, 1997).

As análises de componentes principais auxiliaram na distinção das classes etárias, principalmente quando retirados os caracteres com alta variabilidade (CI e LI). Com esta análise foi possível a visualização do crescimento contínuo ao longo da ontogenia da espécie, padrão comum encontrado em diversos estudos (Oliveira, 1992; Pessôa & Reis, 1992; Brandt & Pessôa, 1994; Pessôa & Reis, 1994; Lessa & Pessôa, 2005).

O dimorfismo sexual pode ocorrer entre os sigmodontíneos (Suaréz *et al.*, 1998) mas em geral é pouco observado (Voss, 1988). Estudos com espécies das tribos oryzomyini (Brandt & Pessôa, 1994) e akodontini (Moreira, 2007) demonstraram baixo dimorfismo em caracteres secundários para as espécies estudadas. Trabalhos realizados com *Akodon cursor* apontaram distinções quanto à relevância do dimorfismo sexual para a espécie (Geise *et al.*, 2005). Neste mesmo trabalho os autores demonstraram que dentre 20 caracteres avaliados para amostras da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, 14 deles mostraram-se significativamente distintos entre os sexos. Christoff (1997), por outro lado, não detectou diferenças significativas em amostras do Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo entre indivíduos de sexos diferentes. Para a população de *A. cursor* do PESB não foram evidenciadas distinções relevantes entre os sexos sendo observada apenas uma pequena variação em dois caracteres (LCC e LRO) que se mostraram distintos entre os sexos na análise univariada com a amostra total.

Tanto a variação adicionada pelo sexo quanto pela interação entre o sexo e a idade apresentam pequena contribuição confirmando o reduzido dimorfismo observado pelo teste *t*. A análise discriminante canônica independente do tamanho reforçou o baixo dimorfismo na amostra estudada.

Variação geográfica

Padrões de variação geográfica em caracteres morfológicos podem ser causados pelas condições ecológicas atuais e fatores históricos (Thorpe, 1987). Muitos trabalhos com roedores têm demonstrado a diferenciação de populações ao longo da distribuição geográfica auxiliando na determinação dos limites geográficos ou na descrição de novas espécies (Dos-Reis *et al.*, 1990; Lessa *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2007; Moreira, 2007).

Análises estatísticas multivariadas têm permitido uma melhor compreensão sobre a diversidade morfológica de vários táxons. Estudos com roedores caviídeos (Lessa *et al.*, 2005) e sigmodontíneos (Gonçalves *et al.*, 2007; Moreira, 2007) têm demonstrado a presença de variações morfológicas ao longo da distribuição geográfica destes táxons seja por fatores ecológicos ou históricos. Estes estudos apontam distinções entre as populações no espaço morfométrico multivariado identificando diferenciações em nível específico (Gonçalves *et al.*, 2007) ou variações clinais entre populações (Lessa *et al.*, 2005)

Considerando-se as populações com maior número de indivíduos avaliadas neste estudo (EF, VIC, PESB) as análises multivariadas exibem uma distinção destas ao longo dos eixos de variação. Pela observação do gráfico gerado pela análise de componentes principais não é possível separar estas populações em termos de tamanho (eixo CP1). Por outro lado, estas populações com amostras maiores mostraram-se claramente distintas, quando avaliados os intervalos de confiança, ao longo do eixo CP2 que está mais relacionado à forma do crânio.

Aos componentes de tamanho e forma têm sido atribuídos pesos distintos na taxonomia e sistemática, sendo a variação na forma considerada

como o mais previsível da variação genética (Straney, 1987). Estudos morfológicos sugerem que a variação na forma craniana está correlacionada com diferenças genéticas (Patton & Brylski, 1987). Posteriormente Smith & Patton (1988) relacionaram o tamanho e a forma craniana com componentes de diferenciação ecológicos e históricos, sugerindo que unidades evolutivas independentes poderiam ser reconhecidas por unidades geográficas que apresentassem padrões semelhantes na forma craniana e na variação genética (Smith & Patton, 1988). Sendo assim, os resultados obtidos em nosso trabalho correspondem a unidades geográficas distintas ao longo do eixo representativo da forma craniana. As populações de VIC e do PESB mostraram-se totalmente distintas de acordo com a análise dos Componentes Principais o que foi corroborado pela Análise Discriminante Canônica Independente do Tamanho.

Uma das hipóteses explicativas para a diferenciação morfológica observada para estas populações pode estar associada ao efeito altitudinal. Sabe-se que áreas de altitude no Sul e Sudeste do Brasil são detentoras de espécies endêmicas (e.g. *Akodon mystax*, *Oxymycterus caparoe*), que possuem suas histórias evolutivas correlacionadas aos eventos que levaram a formação dos ambientes campestres (campos de altitude) onde são encontradas (Hershkovitz, 1998; Gonçalves *et al.*, 2007). Dessa forma, a variação altimétrica entre VIC (~700m) e o PESB (1300-1500m) determina uma mudança que tanto pode atuar na variação da temperatura e/ou na diferenciação da composição vegetacional. Estes efeitos poderiam atuar de forma distinta sobre as populações estudadas justificando as diferenças observadas na forma craniana.

Registros de *Akodon cursor* em altitudes em torno dos 1.500m, como os encontrados no PESB, não são comuns, sendo possivelmente esta população a que apresenta maior altitude de distribuição reconhecida (Geise com. pess.). A população de *A. cursor* de VIC encontra-se a uma altitude média de 700m, bem inferior a observada para a população do PESB. Já a população de Espera Feliz apresentou-se em uma posição intermediária entre as

populações do PESB e de VIC com relação à altitude. Este município, localizado aos arredores do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, apresenta altitude média de 1.100m. Estes dados podem corroborar uma hipótese de que o incremento na altitude possa influenciar a diferenciação morfológica em *A. cursor*. O fenograma obtido em nosso estudo é mais um indicativo favorável a hipótese de diferenciação ao longo de um gradiente altitudinal. A amostra de Abre Campo com altitude média em torno de 600m apresentou maior dissimilaridade com relação às demais enquanto que as amostras mais próximas foram Viçosa e Espera Feliz, as quais possuem uma menor diferença com relação ao gradiente de altitude.

Outro fator relevante para a compreensão da diferenciação morfológica craniana observada seria a influência da competição interespecífica sobre a população de *A. cursor* presente no PESB. Esta competição, ao longo do tempo evolutivo, pode resultar em fenômenos como o deslocamento de caracteres (Arthur, 1987). Vários trabalhos vêm demonstrando a relação entre morfologia e ecologia, especialmente quanto ao uso de hábitat e a dieta (Scheibe, 1987). Na área de VIC, para o gênero *Akodon*, só é encontrada a espécie *A. cursor* (Paglia *et al.*, 1995; Lessa *et al.*, 1999). Nas áreas do PESB (Moreira *et al.*, no prelo) e de EF (Brinati, com. pess.) são encontrados em simpatria indivíduos de *A. cursor* e *A. serrensis*. A presença de *A. serrensis* é restrita a ambientes com altitudes superiores a 1000m sendo este um dos motivos de sua ausência na região de VIC. Com isso, a presença de *A. serrensis* na área do PESB pode ser um fator que influenciou e ainda influencia o uso do habitat e a dieta da espécie *A. cursor*, fato este que pode refletir na modificação do formato do crânio que foi observado entre estas áreas através das análises multivariadas.

Estudos citogenéticos realizados com as populações do PESB e de VIC não foram suficientes para diagnosticar diferenças marcantes entre as populações (Manduca *et al.*, neste volume). Ambas as populações apresentaram diferentes citótipos entre seus indivíduos, sendo apenas um restrito ao PESB e os demais comuns as duas localidades. Com relação aos

estudos moleculares, *A. cursor* apresenta grande variabilidade haplotípica com pequeno padrão geográfico (Geise *et al.*, 2001). Recente trabalho publicado com dados moleculares oriundos de espécimes coletados no PESB não destacam qualquer diferenciação destes com outras populações de *A. cursor* (Gonçalves *et al.*, 2007). Entretanto, os dados morfológicos obtidos em nosso estudo sugerem, mesmo que de forma incipiente, um padrão morfológico para *A. cursor* que provavelmente está associado à influência da altitude.

A adição de um maior número de indivíduos de diferentes localidades em cotas altimétricas distintas podem auxiliar no entendimento desta variação reportada durante nosso estudo. Futuras análises moleculares poderão contribuir para o entendimento da variação morfológica diagnosticada para estas populações, auxiliando o entendimento da distribuição geográfica da diversidade morfológica desta espécie e com a definição dos possíveis fatores (e.g. altitude, temperatura, vegetação) determinantes destas modificações.

Agradecimentos

Aos biólogos Jânio Moreira e Pablo Gonçalves pelo auxílio nas coletas no PESB e suporte nas análises estatísticas. Ao biólogo Rômulo D'ângelo pela ajuda com os softwares estatísticos. Ao biólogo Rodolfo Stumpp pelo auxílio na localização de espécimes no acervo do MZUFV e coletas em Viçosa. À UFV na pessoa do professor Renato Neves Feio, curador da coleção zoológica do MZUFV. Ao biólogo Alessandro Brinati pelos exemplares de Espera Feliz cedidos para estudo. Ao Museu de Ciências Naturais da PUC-MG na pessoa da Prof^a Tudy Câmara pela disponibilização do acervo mastozoológico.

Referências

- Artur, W. 1987. The niche in competition and evolution. John Wiley & Sons, New York, USA. 190pp.
- Bandouk, A.C. & Dos-Reis, S.F. 1995. Craniometric variation and subspecific differentiation in *Thrichomys apereoides* in northeastern Brazil (Rodentia:Echimyidae). *Zeitschrift fuer Sauegetierkunde*, 60: 176-185.
- Brandt, R.S. & Pessôa, L.M. 1994. Intrapopulational variability in cranial characters of *Oryzomys subflavus* (Wagner, 1842) (Rodentia:Cricetidae), in northeastern Brazil. *ZoologischerAnzeiger*, 233: 45-55.
- Christoff, A.U. 1997. Contribuição a sistemática das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) do leste do Brasil: estudos anatômicos, citogenéticos e de distribuição geográfica. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 127p.
- Dempester, A.P.; Laird, N.M. & Rubin, D.B. 1977. Maximum likelihood estimation from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society*, 39 (1):1-38.
- Dos-Reis, S.F.; Pessôa, L.M. & Strauss, R.E. 1990. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética*, 13 (3):509-520.
- Dos-Reis, S.F.; Duarte, L.C.; Monteiro, L.R. & Zuben, F.J.V. 2002. Geographic variation in cranial morphology in *Thrichomys apereoides* (Rodentia:Echimyidae). I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. *Journal of Mammalogy*, 83 (2):333-344.
- Geise, L.; Smith, M.F. & Patton, J.L. 2001. Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) in Southeastern South America: mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Mammalogy*, 82 (1):92-101.
- Geise, L.; Moraes, D. A. & Silva, H.S. 2005. Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the atlantic coastal area of Brazil. *Arquivos do Museu Nacional*, 63 (1):63-74.

- Gonçalves, P.R. 2001. Identidade e alocação taxonômica de duas formas simpátricas de *Oxymycterus* (Rodentia:Sigmodontinae) do sudeste do Brasil: uma avaliação de hipóteses sobre a diversidade do gênero. Tese (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, ix + 135pp.
- Gonçalves, P.R.; Myers, P.; Vilela, J.F. & Oliveira, J.A. 2007. Systematics of species of the genus *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) in Southeastern Brazil and implications for the biogeography of the campos de altitude. Miscellaneous Publications of Museum of Zoology of University of Michigan, 197: 1-24.
- Hershkovitz, P. 1998. Report on some sigmodontinae rodents collected in Southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner Zoolische Beiträge*, 47: 193-256.
- Lessa, G.; Gonçalves, P.R.; Morais Jr., M.M.; Costa, F.M.; Pereira, R.F. & Paglia, A.P. 1999. Caracterização e monitoramento da fauna de pequenos mamíferos terrestres de um fragmento de mata secundária em Viçosa, Minas Gerais. *BIOS*, 7 (7): 41-49.
- Lessa, G.M., Gonçalves, P.R. & Pessôa, L.M. 2005. Variação geográfica em caracteres cranianos quantitativos de *Kerodon rupestris* (Wied, 1820) (Rodentia:Caviidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 63 (1):75-88.
- Lessa, G.M. & Pessôa, L.M. 2005. Variação ontogenética e sexual em caracteres cranianos de *Kerodon rupestris* (Wied, 1820) (Rodentia:Caviidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 63 (3):599-618.
- Manly, B.F.J. 1994. *Multivariate statistical methods a primer*. Second edition. Chapman & Hall, London, 215pp.
- Math Works Inc. 1994. *Matlab for Windows (data analysis software system)*. Version 4.2c.1.
- Moreira, J.C. 2007. Estrutura da variabilidade morfométrica craniana entre as populações de *Thaptomys nigrita* Lichtenstein, 1829 (Rodentia:Sigmodontinae). Tese (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, xx + 70pp.

- Musser, G.G. & Carleton, M.D. 2005. Subfamily Sigmodontinae. Vol 2:1086--1186, In: Mammal Species of the World, Third Edition. (Eds.) Wilson, D.E. & Reeder, D.M. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2141pp.
- Oliveira, J.A. 1992. Estrutura da variação craniana em populações de *Bolomys lasiurus* (Lund, 1841) (Rodentia:Cricetidae) do nordeste do Brasil. Tese (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, xiii + 107f.
- Oliveira, J.A. & Bonvicino, C. 2006. Ordem Rodentia. In: Mamíferos do Brasil. (Eds.) Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Pedro, W.A. & Lima, I.P. Londrina-PR. 347-425p.
- Paglia, A.P., Marco-Junior, Paulo de; Costa, F.M.; Pereira, R.F. & Lessa, G. 1995. Heterogeneidade ambiental e diversidade de pequenos mamíferos em um fragmento de Mata Atlântica secundária. Revista Brasileira de Zoologia, 1 (12):67-79.
- Patton, J.L. & Brylski, P.V. 1987. Pocket gophers in alfafa fields: causes and consequences of habitat-related body size variation. The American Naturalist, 130 (4):493-505.
- Pessôa, L.M. & Reis, S.F. dos. 1992. An analysis of morphological discrimination between *Proechimys dimidiatus* and *Proechimys iheringi* (Rodentia:Echimyidae). Zoologischer Anzeiger, 228: 189-200.
- Pessôa, L.M. & Reis, S.F. dos. 1994. Systematic implications of craniometric variation in *Proechimys iheringi* Thomas (Rodentia:Echimyidae). Zoologischer Anzeiger, 232: 181-200.
- Peres-Neto, P.R. 1995. Introdução a análises morfométricas. Oecologia Brasiliensis, Vol. II: Tópicos em Tratamento de Dados Biológicos. (Eds.) Peres-Neto, P.R.; Valentin, J.L. & Fernandez, F.A.S. Rio de Janeiro-RJ. 57-89p.
- Reig, O. A. 1977. A proposed unified nomenclature for the enameled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). Journal of Zoology, 181: 227-241.

- Reis, S.F. dos; Pessôa, L.M. & Strauss, R.E. 1990. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética*, 13 (3):509-520.
- Scheibe, J.S. 1987. Climate, competition, and the structure of temperate zone lizard communities. *Ecology*, 68: 1424-1436.
- Smith, M.F. & Patton, J.L. 1988. Subspecies of pocket gophers: Casual basis for geographic differentiation in *Thomomys bottae*. *Systematica Zoology*, 37: 163-178.
- Smith, M.F. & Patton, J.L. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society, London*, 50: 149-177.
- Statsoft Inc. 2001. Statistica (data analysis software system). Version 6.0. Tulsa, Oklahoma.
- Straney, D.O. 1987. Variance partitioning and nongeographic variation. *Journal of Mammalogy*, 59: 1-11.
- Suaréz, O.V.; Cueto, G.R. & Kravetz, F.O. 1998. Sexual dimorphism according to age in *Oxymycterus rutilans* (Rodentia, Muridae). *Mastozoología Neotropical*, 5 (2):129-136.
- Thorpe, R.S. 1987. Geographic variation: a synthesis of cause, data, pattern and congruence in relation to subspecies, multivariate analysis and phylogenesis. *Bulletin of Zoology*. 54: 3-11.
- Voss, R.S. 1988. Systematics and ecology of Ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 188 (2):260-493.
- Voss, R.S. 1991. An introduction to the neotropical muroid rodent genus *Zygodontomys*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 210: 1-113.
- Voss, R.S.; Marcus, L.F. & Escalante, P.P. 1990. Morphological evolution in muroid rodents I. Conservative patterns of craniometric covariance and their ontogenetic basis in the neotropical genus *Zygodontomys*. *Evolution*, 44 (6):1569-1597.

Anexo

Espécimes analisados

Os dados morfológicos são oriundos de exemplares depositados no Museu de Zoologia João Moojen, Viçosa (AB, GL, MPB, MZUFV, PMR, PRG) e Museu de Ciências Naturais da PUC-Minas (MCN-PUC).

[1] Município de Abre Campo, Zona da Mata, Minas Gerais: MCN-PUC 402, 403, 404. [n=3]

[2] Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), Minas Gerais: MZUFV 516, 617, 618, 619, 679, 680, 1077, 1149, 1157, 1158, 1160, 1161, 1162, 1163, 1164, 1165, 1166, 1167, 1168, 1169, 1170, 1171, 1173, 1175, 1176, 1179, 1181, 1182, 1183, 1185, 1186, 1214, 1216, 1217, 1219, 1220, 1226, 1227, 1228, 1230, 1232, 1233, 1235, 1241, 1244, 1245, 1263, 1264, 1265, 1268, 1269, 1277, 1284, 1288, 1298, 1301, 1625, 1629, 1636, 1647, 1649, 1652, 1657, 1890, 1892, 1893, 1894, 1895, 1896, 1897, 1898, 1909, 1910, 1917, 2042, 2086, 2088. [77]

[3] Município de Canaã, Minas Gerais: GL 434. [n=1]

[4] Município de Espera Feliz, Minas Gerais: AB 049, MZUFV 397, 399, 2099, 2102, 2103, 2107, 2117, 2110, 2231, 2242, 2246. [n=12]

[5] Município de Leme do Prado, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais: MZUFV 2404. [n=1]

[6] Município de Mariana, Minas Gerais: MCN-PUC 118. [n=1]

[7] Município de Pedra do Anta, Minas Gerais: MCN-PUC 406. [n=1]

[8] Município de Viçosa, Minas Gerais: PMR 005, 008, 015, 016, MPB 045, 061 MZUFV 200, 205, 214, 223, 225, 415, 416, 417, 418, 423, 425, 427, 428, 429, 430, 431, 433, 434, 437, 438, 439, 440, 442, 443, 450, 591, 592, 593, 594, 635, 637, 640, 645, 648, 652, 660, 697, 698, 723, 726, 850, 854, 855, 858, 860, 861, 871, 872, 873, 877, 878, 883, 910, 911, 912, 954, 1072, 1944, 1948, 1949, 1950, 1951, 1966, 1967, 1969, 1975, 1978, 2011, 2014, 2015, 2045, 2085, 2090, 2091, 2198, 2205, 2311, 2327, 2335, 2336, 2340, 2385. [n=88]

2.2. Manduca, E.G., C.B. Lima, J.A. Dergam & G. Lessa. 2008. Análise citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.

Análise citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia:Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais.

Edmar G. Manduca, Claudinéia B. Lima, Jorge A. Dergam e Gisele Lessa

Introdução

O gênero *Akodon* compreende atualmente 41 espécies sendo distribuído por toda a América do Sul. Está incluído na Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae, Tribo Akodontini (Musser & Carleton, 2005).

A espécie *Akodon cursor* tem distribuição conhecida no Brasil, sendo encontrado na Mata Atlântica e em áreas de transição com o Cerrado. Apresenta características morfológicas bastante semelhantes a outras espécies do gênero (e.g. *Akodon montensis*), o que pode dificultar a sua identificação em campo. As técnicas citogenéticas, por outro lado, são extremamente úteis na diferenciação desses táxons (Christoff, 1997).

Akodon cursor é caracterizado por apresentar grande variabilidade cariotípica, tanto no número diplóide ($2n$) como no número fundamental (NF). Em uma amostra de 311 espécimes distribuídos nos Estados da Bahia, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo, foram encontrados animais com $2n$ variando de 14 a 16 e NF entre 26 a 18 (Fagundes *et al.*, 1998). Nas populações do nordeste, apenas o cariótipo $2n=16$ foi detectado (Maia & Langguth, 1981).

Essa grande diversidade cariotípica é explicada por diferentes processos que envolvem inversões pericêntricas, fusões cêntricas, trissomias e monossomias, observadas principalmente nas amostras do Sul e do Sudeste do Brasil (Fagundes, *et al.*, 1997; Fagundes *et al.*, 1998; Nascimento, 1998).

Fagundes e colaboradores (1998) sumarizaram todas as informações cariotípicas acerca de *A. cursor* ao longo de sua distribuição geográfica. Porém, neste estudo não se tem registros de dados citogenéticos relativos a amostras desta espécie em Minas Gerais. Este fato demonstra uma lacuna no conhecimento sobre a distribuição dos diferentes citótipos de *A. cursor* no

Estado mineiro e nas relações destas populações com a história da evolução cariotípica da espécie.

Neste estudo descrevemos os citótipos de indivíduos de *Akodon cursor* coletados no Estado de Minas Gerais, a fim de determinar o grau de variabilidade destas populações e sua relevância em relação aos dados já existentes ao longo da distribuição geográfica da espécie.

Material e Métodos

Amostras citogenéticas

Uma amostra de 55 indivíduos de *A. cursor* (30 ♂ e 25 ♀) foi obtida de quatro localidades: Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) (♀=8;♂=16), localizado entre oito municípios mineiros (Araponga, Divino, Ervália, Fervedouro, Pedra Bonita, Miradouro, Muriaé e Sericita) sendo um dos pontos mais altos da Zona da Mata Mineira (1985m); Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA) (♀=16;♂=13), fragmento de Mata Atlântica localizado no município de Viçosa, ao norte da Zona da Mata de Minas Gerais; Parque Estadual do Rio Doce (PERD) (♂=1), o maior fragmento de Mata Atlântica do Estado, com aproximadamente 33.000ha; e Leme do Prado (LP) (♂=1), município localizado na região do Vale do Jequitinhonha em uma área de transição entre os domínios de Mata Atlântica e Cerrado. Como forma de comparação dos dados obtidos neste estudo utilizamos informações relativas à distribuição geográfica dos diferentes citótipos em estudos já publicados. Sendo assim, outras seis áreas amostrais fazem parte deste trabalho. No mapa da Figura 1 é possível identificar os locais sob análise.

Os animais sacrificados tiveram suas peles e crânios preparados. Os espécimes-testemunho encontram-se depositados no acervo mastozoológico do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV).



Figura 1. Localidades com registros dos diferentes citótipos de *Akodon cursor*. Losangos correspondem às áreas amostradas no presente estudo (1- EPTEA; 2-PESB; 3-PERD; 4-LP). Círculos abertos correspondem às áreas que apresentam citótipos comuns às amostras mineiras em diferentes regiões (5- localidades do Estado do Rio de Janeiro; 6- Salesópolis-SP; 7- Iguapé-SP; 8- Guaraqueçaba-PR; 9- Una-BA; 10- Rio Formoso-PE, ver Fagundes *et al.*, 1998 para mais detalhes).

Preparações citogenéticas

Os cromossomos metafásicos de cada espécime foram obtidos a partir da técnica de Ford & Hamerton (1956), com modificações. Após uma injeção subcutânea de solução de colchicina 0,05% na proporção de 1 mL para cada 100g de peso, cada animal, foi deixado em repouso durante uma hora. Em seguida foram sacrificados e as células da medula óssea extraídas em solução hipotônica (KCL 0,075M), permanecendo nesta por 30 minutos a 37°C. Após esse período, a suspensão celular foi fixada em solução de metanol e ácido acético (3:1) e centrifugada durante 10 minutos a 1000RPM. O sobrenadante

foi descartado e essa operação repetida mais duas vezes. Em seguida à fixação, a suspensão celular foi gotejada sobre uma lâmina histológica para a elaboração das diferentes técnicas.

Coloração Convencional (Giemsa)

Algumas lâminas foram coradas em solução de Giemsa a 5% por 5 a 7 minutos. Esta metodologia foi utilizada para determinação do número e morfologia dos cromossomos.

Técnica de Bandeamento C (Heterocromatina Constitutiva)

Para evidenciar as regiões heterocromáticas, procedeu-se ao protocolo de Sumner (1972), com modificações. As lâminas foram expostas a uma solução de HCl 0,2N a 47°C por 2 minutos, seguida por imersão em solução salina 2XSSC a 60°C por 10 minutos, exposição das lâminas a uma solução de hidróxido de bário 5% a 47°C por 60 a 70 segundos e retorno à solução salina 2XSSC a 60°C por mais 20 minutos. Entre cada passo supracitado foi efetuada imersão das lâminas em água destilada.

Técnica Ag-NOR (Regiões Organizadoras de Nucléolo)

Para visualizar as regiões organizadoras de nucléolo (NOR's) as lâminas foram cobertas com uma mistura contendo quatro gotas de solução aquosa de nitrato de prata 50%, duas gotas de gelatina (em solução aquosa com 1% de ácido fórmico) e duas gotas de água destilada e cobertas com lamínula. Em seguida, foram incubadas em câmara úmida e acondicionadas em estufa a aproximadamente 60°C. Após cerca de 2 minutos as lâminas foram monitoradas até que atingissem uma coloração marrom caramelo e então lavadas em água corrente para retirada da lamínula (Howell & Black, 1980).

Análises citogenéticas

Como forma de analisar diferenças cromossômicas intra e inter populacionais dos espécimes amostrados, foram contadas pelo menos 20 metáfases de cada espécime, com o intuito de estabelecer seus valores $2n$ e NF . As melhores metáfases foram fotografadas em microscópio óptico AXIO acoplado a uma câmera Canon A620. Os homólogos foram pareados e agrupados em ordem decrescente de tamanho e com base nos padrões de bandeamentos observados e seguiram a classificação morfológica proposta por LEVAN *et al.* (1964).

Análises Estatísticas

As amostras da EPTEA e do PESB foram tratadas estatisticamente para verificar o equilíbrio de Hardy-Weinberg com relação aos pares cromossômicos envolvidos nos polimorfismos detectados. Para a referida análise foi utilizado o teste de χ^2 . Considerou-se p como a frequência das formas acrocêntricas e q como a frequência das formas submetacêntricas no par 2 e metacêntricas no par 4. Foi utilizada a probabilidade ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) com 2 graus de liberdade.

Resultados

Polimorfismo cromossômico

Foram diagnosticados oito diferentes citótipos, denominados aqui de A a H (Tabela 1) e apresentados na Figura 2. O par sexual presente nos oito citótipos é representado por um cromossomo X acrocêntrico pequeno e um Y acrocêntrico diminuto.

O citótipo A foi o único que apresentou $2n = 16$ e $NF = 25$ sendo restrito a um único indivíduo coletado em LP. Este espécime apresentou os pares 1, 2 e 3 como submetacêntricos, o par 4 heteromórfico - um cromossomo metacêntrico e um acrocêntrico - e os pares 5, 6 e 7 homomórficos, sendo metacêntrico, acrocêntrico e metacêntrico diminuto, respectivamente. Os citótipos com $2n = 14$ (B-H) contemplaram toda a

amostra restante ($n = 54$), com variação no NF de 18 a 21. O citótipo B ($2n = 14$, NF = 18) foi responsável pelo maior número de exemplares representados (15), sendo encontrado na EPTEA e no PESB. O citótipo C ($2n = 14$, NF = 19) obteve registro na EPTEA, no PESB e no PERD com seis, sete e um indivíduos, respectivamente, totalizando 14 espécimes. O NF = 19, nesse citótipo, é decorrente do heteromorfismo apresentado pelo par 4, com um cromossomo metacêntrico e seu correspondente acrocêntrico. O citótipo D ($2n = 14$, NF = 20) foi encontrado em seis exemplares, três na EPTEA e três no PESB. O valor do NF nesse citótipo é devido ao par 4 apresentar-se homomórfico metacêntrico e o par 2 homomórfico acrocêntrico. O citótipo E apresenta $2n = 14$, NF = 19, assim como o citótipo C. Foi encontrado em sete indivíduos, sendo seis destes coletados na EPTEA e apenas um no PESB. Diferentemente do citótipo C, o valor de seu NF decorre de um heteromorfismo no par 2 que apresenta um cromossomo submetacêntrico e o correspondente acrocêntrico. O par 4 apresenta-se como homomórfico acrocêntrico. O citótipo F, encontrado em nove indivíduos (dois na EPTEA e sete no PESB), apresentou $2n = 14$, NF = 20. Este valor de NF é encontrado devido ao heteromorfismo dos pares 2 e 4, sendo o par 2 composto por um submetacêntrico acompanhado de um acrocêntrico e o par 4 de um cromossomo metacêntrico acompanhado também por um acrocêntrico. O citótipo G ($2n = 14$, NF = 21) foi representado por um único indivíduo coletado no PESB. Neste caso o heteromorfismo do par 2 - apresentando um cromossomo submetacêntrico e um acrocêntrico - e a condição homomórfica do par 4 - com dois cromossomos metacênticos - são responsáveis pelo valor do NF. O citótipo H foi identificado na EPTEA e no PESB, com apenas um indivíduo em cada área. Apresenta $2n = 14$, NF = 20 e difere dos demais por apresentar a condição homomórfica nos pares 2 e 4, sendo os cromossomos submetacênticos e acrocênticos, respectivamente. Na Tabela 2 encontram-se sintetizados os dados sobre proporção sexual e número de ocorrências de cada citótipo nas áreas amostradas. De acordo com a Tabela 2 é possível verificar o maior número de citótipos no PESB (7) seguido pela EPTEA (6) e o

PERD e LP com apenas um citótipo cada. O PESB foi avaliado com base em 24 espécimes e apresentou sete citótipos, enquanto a EPTEA, que foi avaliada com 29 indivíduos, apresentou uma forma citotípica a menos. As localidades do PERD e LP estão representadas apenas por um único indivíduo, o que justifica a presença de apenas um citótipo nas respectivas áreas.

Tabela 1. Citótipos encontrados no presente estudo (2n = 16 e 14), com referência aos trabalhos e localidades onde já foram previamente reportados. Localidades destacadas em negrito correspondem às amostras do presente estudo. Referências: 1-Yonenaga, 1972; 2-Yonenaga *et al.*, 1975; 3-Yonenaga-Yassuda, 1979; 4-Maia & Langguth, 1981; 5-Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1983; 6- Geise, 1995; 7-Sbalqueiro & Nascimento, 1996; 8-Fagundes *et al.*, 1998. Para localidade ver legenda da Figura 1.

Citótipo (n)	Pares autossômicos	2n	NF	Referências	Localidade (Fig.1)
A (1)	1S, 2S, 3S, 4H, 5M, 6A, 7M	16	25	4	4 e 10
B (15)	1+3M, 2A, 4A, 5M, 6A, 7M	14	18	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8	1, 2, 5, 6, 7 e 8
C (14)	1+3M, 2A, 4H, 5M, 6A, 7M	14	19	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8	1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8
D (6)	1+3M, 2A, 4M, 5M, 6A, 7M	14	20	1, 2, 6, 7, 8	1, 2, 5, 6, 7 e 8
E (7)	1+3M, 2H, 4A, 5M, 6A, 7M	14	19	1, 2, 6, 7, 8	1, 2, 5, 6, 7 e 8
F (9)	1+3M, 2H, 4H, 5M, 6A, 7M	14	20	2, 3, 5, 6, 7, 8	1, 2, 5, 6, 7, 8 e 9
G (1)	1+3M, 2H, 4M, 5M, 6A, 7M	14	21	5, 6, 7, 8	2, 5, 6, 7 e 8
H (2)	1+3M, 2S, 4A, 5M, 6A, 7M	14	20	7, 8	1, 2 e 8
Total (55)					

n = número de indivíduos, M = metacêntrico, A = acrocêntrico, S = submetacêntrico, H = heteromórfico (cromossomos acrocêntrico e meta/submetacêntrico), 1+3M = rearranjo complexo envolvendo inversões pericêntricas e fusões cêntricas dos cromossomos 1 e 3 (Vide Fagundes *et al.*, 1997 para mais detalhes).

Os polimorfismos encontrados nos pares 2 e 4 foram analisados na amostra total e comparativamente entre as populações da EPTEA e do PESB por apresentarem maior número de indivíduos analisados.

Com relação ao polimorfismo encontrado no par 2 foi possível detectar que a condição homomórfica acrocêntrica foi a mais comum, ocorrendo em 63,63% de todos os indivíduos analisados, seguida da condição heteromórfica e da condição homomórfica submetacêntrica com 30,90% e 5,45% respectivamente. Para o par 4 as condições homomórfica acrocêntrica e heteromórfica obtiveram o mesmo valor (43,63%) e a condição homomórfica metacêntrica representou apenas 12,72% da amostra.

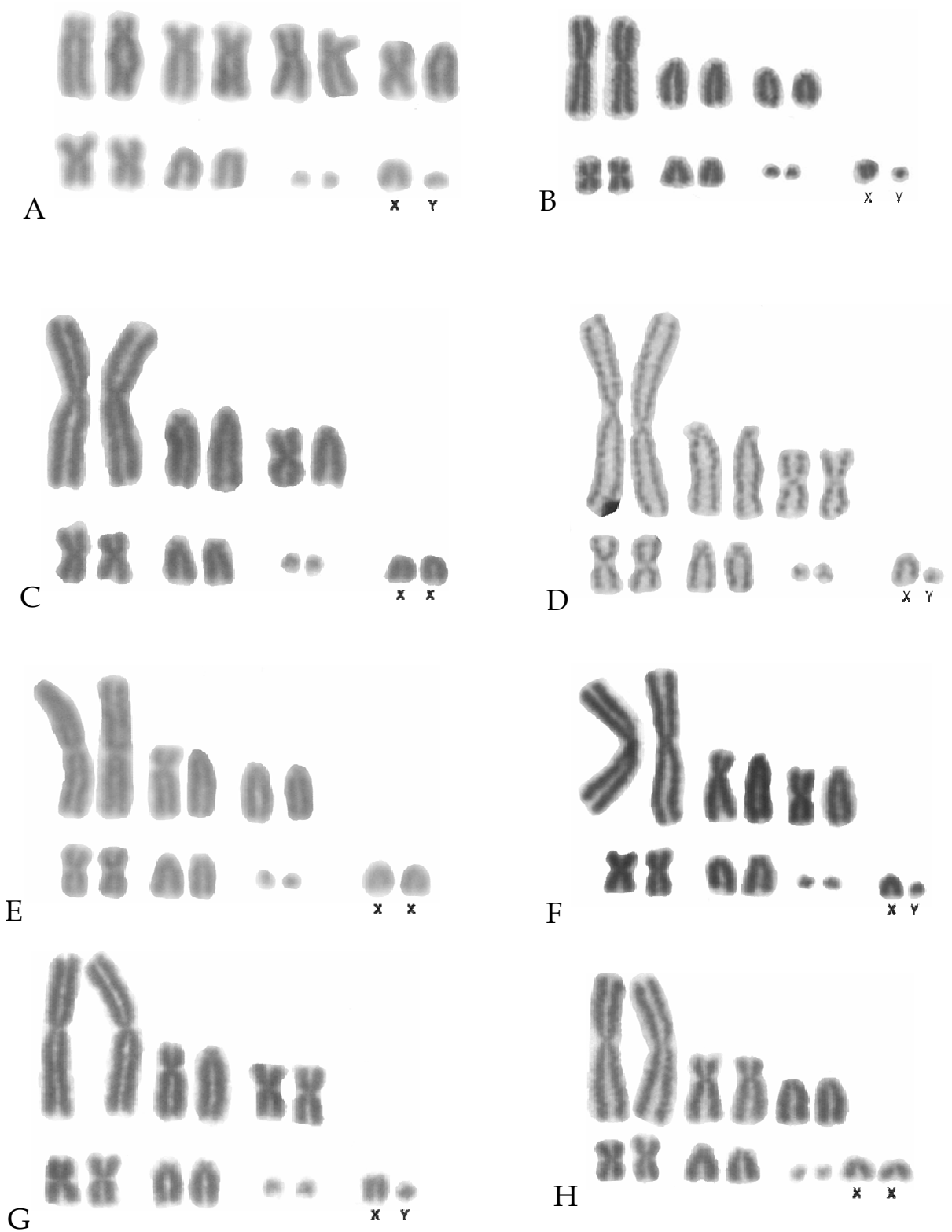


Figura 2. Citótipos encontrados em *Akodon cursor* nas amostras dos remanescentes de Mata Atlântica de Minas Gerais. **(A)** macho, $2n = 16$, 1S, 2S, 3S, 4H, 5M, 6A, 7M; **(B)** macho, $2n = 14$, 1+3M, 2A, 4A, 5M, 6A, 7M; **(C)** fêmea, $2n = 14$, 1+3M, 2A, 4H, 5M, 6A, 7M; **(D)** macho, $2n = 14$, 1+3M, 2A, 4M, 5M, 6A, 7M; **(E)** fêmea, $2n = 14$, 1+3M, 2H, 4A, 5M, 6A, 7M; **(F)** macho, $2n=14$, 1+3M, 2H, 4H, 5M, 6A, 7M; **(G)** macho, $2n=14$, 1+3M, 2H, 4M, 5M, 6A, 7M; **(H)** fêmea, $2n = 14$, 1+3M, 2S, 4A, 5M, 6A, 7M.

Tabela 2. Tamanho da amostra dos diferentes citótipos e proporção sexual dos espécimes coletados nos remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais amostrados. (Vide Tabela 1 para descrição dos citótipos).

Citótipo	EPTEA		PESB		PERD		LP		Total	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
A	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
B	1	5	5	4	-	-	-	-	6	9
C	1	5	3	4	1	-	-	-	5	9
D	1	2	3	-	-	-	-	-	4	2
E	3	3	-	1	-	-	-	-	3	4
F	1	1	4	3	-	-	-	-	5	4
G	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
H	1	-	1	-	-	-	-	-	2	-
Total	8	16	16	13	1	-	-	1	25	30
\sum Total	24		29		1		1		55	

EPTEA- Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso; PESB- Parque Estadual da Serra do Brigadeiro; PERD- Parque Estadual do Rio Doce; LP- Município de Leme do Prado.

Quando analisadas as populações da EPTEA e do PESB identificou-se algumas diferenças quanto a frequência dos polimorfismos dos pares 2 e 4. Com relação ao par 2 as populações mostraram-se extremamente semelhantes sendo a condição homomórfica acrocêntrica dominante (62,5% na EPTEA e 65,51% no PESB). Em seguida a condição heteromórfica resultou em 33,33% da amostra da EPTEA e a 31,03% no PESB. O par homomórfico submetacêntrico foi representado por uma baixa frequência nas duas populações sendo de 4,16% na EPTEA e 3,44% no PESB. O par 4 apresentou condições de maior frequência distintas entre as populações. Na área da EPTEA a condição homomórfica acrocêntrica foi responsável pela maior frequência de registros representando 54,16% da amostra, enquanto na população do PESB esta condição contribuiu para 37,93%. A condição heteromórfica para este par foi a que obteve maior valor para a população do PESB (48,27%) enquanto na área da EPTEA foi responsável por 33,33%. Com relação a condição homomórfica metacêntrica as duas populações apresentaram valores similares (13,79% para o PESB e 12,5% para a EPTEA).

Para o teste de χ^2 tanto os citótipos encontrados na EPTEA quanto os do PESB não apresentaram diferenças significativas para os polimorfismos encontrados, demonstrando assim que estes pares de homólogos encontram-

se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A Tabela 3 contém os valores observados e esperados para os indivíduos homozigotos e heterozigotos para os pares 2 e 4, bem como os valores relativos ao teste de χ^2 das amostras das populações da EPTEA e do PESB.

Tabela 3. Frequências das formas cromossômicas, números observados e esperados e valores de χ^2 para os polimorfismos encontrados nos pares 2 e 4 das populações da EPTEA e do PESB.

Local	n	PAR 2			p	q	χ^2	p
		A(o;e)	H(o;e)	S(o;e)				
EPTEA	24	0,625(15; 15,04)	0,333(8; 7,91)	0,041(1; 1,04)	0,791	0,208	0,002	$p > 0,95$
PESB	29	0,655(19; 19,04)	0,31(9; 8,91)	0,034(1; 1,04)	0,81	0,189	0,002	$p > 0,95$
Local	n	PAR 4			p	q	χ^2	p
		A(o;e)	H(o;e)	M(o;e)				
EPTEA	24	0,541(13; 12,04)	0,333(8; 9,91)	0,125(3; 2,04)	0,708	0,291	0,896	$0,7 < p > 0,5$
PESB	29	0,379(11; 11,17)	0,482(14; 13,65)	0,137(4; 4,17)	0,62	0,379	0,018	$p > 0,95$

n=número de indivíduos; A=Acrocêntrico; H=Heteromórfico; S=Submetacêntrico; M=Metacêntrico; o=observados; e=esperados; p=freqüência da forma acrocêntrica; q=freqüência da forma submetcêntrica/metacêntrica.

Técnica Bandeamento C (Heterocromatina Constitutiva)

A análise de bandeamento C foi realizada com os indivíduos de $2n = 14$ e revelou blocos heterocromáticos teloméricos em praticamente todos os indivíduos analisados. O par sexual, de uma maneira geral, apresentou um X com marcação intersticial e o Y praticamente todo heterocromático. Alguns indivíduos obtiveram marcações mais distintas, como foi o caso de um exemplar da EPTEA em que o par 1+3 apresentou marcações pericentroméricas (Figura 3). Um indivíduo, também coletado na EPTEA, apresentou o par 1+3 com os braços heterocromáticos e o par 6 com marcações teloméricas bem evidentes (Figura 4).

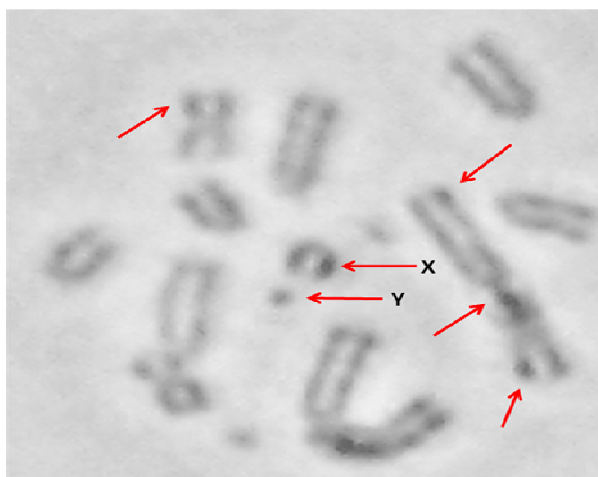


Figura 3. Técnica de bandejamento C. As setas evidenciam as regiões com presença de heterocromatina pericentromérica e telomérica nos cromossomos 1+3 e 5. Destaque também para o par sexual.

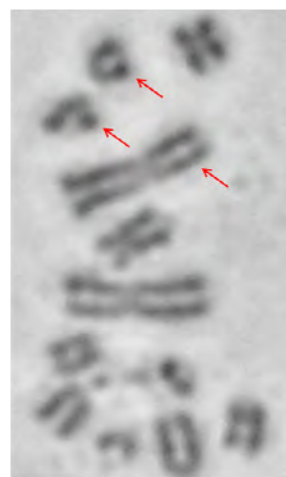


Figura 4. Indivíduo com o braço do cromossomo 1+3 e a região telomérica do par 6 bastante evidenciadas pela heterocromatina.

Técnica Ag-NOR (Regiões Organizadoras de Nucléolo)

Para a técnica Ag-NOR foram analisados indivíduos com $2n = 14$ e 16 . A impregnação por prata possibilitou a visualização de regiões organizadoras de nucléolo em praticamente todos os cromossomos. Alguns apresentaram marcações ocasionais provavelmente devido à precipitação inesperada do nitrato de prata, comum em experimentos deste tipo. Os pares 4 e 5 mostraram marcações mais constantes, aparecendo em praticamente todas as metáfases analisadas. Para a localidade LP, indivíduo de $2n = 16$, foi possível observar uma região marcada no par 1 submetacêntrico (Figura 5). Indivíduos da EPTEA e do PESB apresentaram marcações nos pares 4 e 5 e em alguns casos no cromossomo X e o par 1+3, que foi marcado, provavelmente por apresentar região heterocromática. Na Figura 6 pode-se observar o padrão mais comum encontrado para as marcações de NOR e ainda o cromossomo sexual marcado.

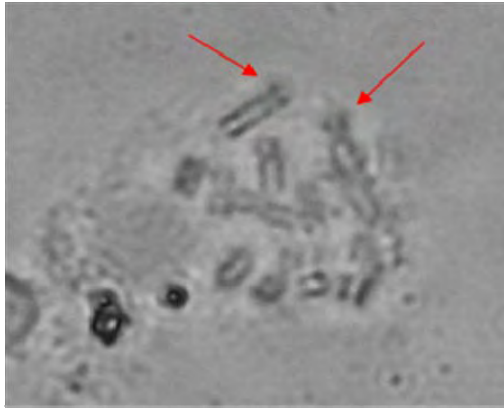


Figura 5. Regiões organizadoras de nucléolo (setas) visualizadas no par 1 submetacêntrico do indivíduo $2n = 16$.

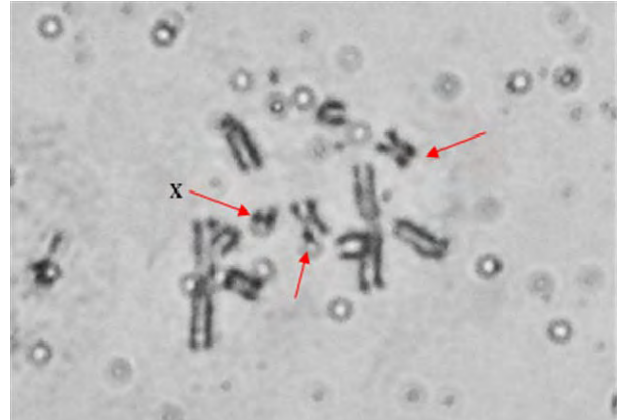


Figura 6. Regiões organizadoras de nucléolo (setas) encontradas no par 4 e no cromossomo sexual.

Discussão

A grande variabilidade cariotípica documentada para a espécie *Akodon cursor* (Yonenaga, 1972; Yonenaga *et al.*, 1975; Yonenaga *et al.*, 1983; Sbalqueiro & Nascimento, 1996; Fagundes *et al.*, 1997; Fagundes *et al.*, 1998; Nascimento, 1998) foi reforçada no presente estudo com a distinção de oito citótipos em populações de Minas Gerais. Os distintos citótipos observados no presente estudo foram identificados como resultado de dois processos cromossômicos principais, já evocados por Fagundes e colaboradores (1997). O primeiro processo envolve diferentes combinações de inversões pericêntricas nos pares 2 e 4 originando formas homomórficas acrocêntricas, heteromórficas e homomórficas submetacêntrica e metacêntrica para os pares 2 e 4, respectivamente. O segundo refere-se a um complexo rearranjo envolvendo fusão cêntrica associada com inversões pericêntricas dos pares 1 e 3. Os citótipos encontrados foram coincidentes com outros já descritos na literatura, sendo os indivíduos com $2n = 14$ iguais as amostras encontradas nos Estados da Bahia (Fagundes *et al.*, 1998), Paraná (Nascimento, 1998), Rio de Janeiro (Geise, 1995) e São Paulo (Yonenaga, 1972; Yonenaga *et al.*, 1975; Yonenaga *et al.*, 1983; Fagundes *et al.*, 1998) e o indivíduo $2n = 16$ possuindo citótipo igual a indivíduos descritos para o Estado de Pernambuco (Maia & Langguth, 1981). Animais com $2n = 16$ são reconhecidos pela primeira vez no Estado de Minas Gerais. Este dado corresponde ao segundo registro deste

número diplóide fora da região Nordeste. No presente estudo não foi identificado nenhum indivíduo com $2n=15$.

Com relação ao citótipo vinculado ao valor $2n=16$, encontrado apenas em um único indivíduo deste estudo coletado no município de Leme do Prado, foi verificado que o mesmo ($2n=16$ NF=25) possuía registro único para o Estado de Pernambuco sendo reportado pela primeira vez fora desta localidade o que amplia em mais de 1200 km a sua área de distribuição. O reconhecimento desta população é importante, pois fornece uma nova base de dados sobre a evolução cariotípica desta espécie e seu valor adaptativo. Um maior número de indivíduos desta população nos permitirá também observar se este citótipo ocorre em simpatria com os outros já descritos na literatura ou mesmo a identificação de novas formas.

Com relação ao polimorfismo observado nos pares 2 e 4, as amostras do presente estudo (EPTEA e PESB) apresentaram freqüência de ocorrência parecidas com a de outros trabalhos. O par 2 apresentou a maior freqüência (79,1%) de cromossomos acrocêntricos no presente trabalho. De forma similar, foi observado por Sbalqueiro & Nascimento (1996) e Fagundes e colaboradores (1998), para populações do Sul e Sudeste do Brasil, a maior freqüência para a mesma forma cromossômica onde o valor foi de 58,6%. Para a forma submetacêntrica do par 2 foi observado uma freqüência de 21% no presente estudo contra apenas 3% nas populações do Sul e Sudeste. Esta diferença na freqüência observada para o polimorfismo cromossômico do par 2 pode ser um reflexo de estruturação citogenética distinta nas populações de Minas Gerais com uma maior fixação da forma submetacêntrica do par 2. É possível que as populações mineiras, devido principalmente a geografia do Estado, tenham uma estruturação citogenética distinta das populações costeiras.

Assim como o par 2, o par 4 apresentou uma maior freqüência de cromossomos acrocêntricos (43,6%) o que também foi observado para as amostras do Sul e Sudeste (27,6%). A freqüência de cromossomos

metacêntricos para este par foi de 12,7% em nossa amostra contra 19% na comparação realizada.

Dados encontrados em Fagundes e colaboradores (1998) demonstram que nas amostras do Nordeste brasileiro as formas submetacêntrica e metacêntrica dos pares 2 e 4, respectivamente, apresentam frequências muito mais elevadas em contraposição as formas acrocêntricas. Estes dados nos permitem inferir que as populações da EPTEA e do PESB estão citogeneticamente estruturadas de forma mais similar com as amostras do Sudeste e Sul do Brasil permitindo a ratificação dos padrões de distribuição dos polimorfismos cromossômicos para os pares 2 e 4 ao longo da sua distribuição geográfica.

Com relação ao polimorfismo dos pares 2 e 4, as frequências observadas para os mesmos mostraram-se em equilíbrio genético, conforme os preceitos da Lei de Hardy-Weinberg. De acordo com o teste de χ^2 não ocorreu nenhuma diferença estatística significativa entre o tipo de polimorfismo encontrado em cada um dos pares. Portanto, o grande polimorfismo verificado encontra-se balanceado, não ocorrendo o favorecimento de qualquer um dos citótipos encontrados o que, em consequência, aponta para pouco ou nenhum significado evolutivo. Em seu trabalho com uma população do Sul do Brasil, Nascimento (1998) verificou também que o polimorfismo encontrava-se em equilíbrio. Desta forma, estes polimorfismos podem ser considerados como mudanças neutras, não estando envolvidos com o processo de especiação, uma vez que, aparentemente, não reduzem a fertilidade e/ou viabilidade dos heterozigotos. Este fato também pode ser utilizado para explicar o amplo polimorfismo detectado para esta espécie.

Para a técnica de bandeamento C foi observado que a heterocromatina apresentou-se constantemente nas regiões teloméricas e, com menores intensidade e frequência, nas pericentroméricas. Não houve diferença substancial entre os indivíduos das áreas amostradas quanto ao padrão de banda C. De acordo com outros trabalhos (Yonenaga-Yassuda, 1979;

Nascimento, 1998) o padrão de bandas C para *A. cursor* ocorre nas regiões pericentroméricas, sendo alguns blocos intersticiais identificados como provável ocorrência de regiões organizadoras de nucléolo (Fagundes, 1993) o que poderia explicar também os dados obtidos no presente estudo, já que esta região foi identificada a partir da técnica de impregnação por prata.

As regiões organizadoras de nucléolo (NOR) foram identificadas principalmente nos pares 4 e 5, sendo registradas eventualmente no cromossomo X e na região telomérica do par 1+3. Os dados de NOR não apresentaram distinções marcantes entre os indivíduos das diferentes áreas estudadas. Dados semelhantes foram observados por Fagundes (1993) e Nascimento (1998), sendo que o último autor comenta ter encontrado números reduzidos de marcações nos cromossomos sexuais o que parece comum ao presente estudo. As marcações visualizadas no par 1+3 podem ser artifício da preparação, correspondendo na verdade a regiões heterocromáticas do cromossomo. Este fato foi ressaltado por Nascimento (1998).

As populações estudadas apresentaram padrões similares entre si e com outros dados publicados para a espécie permitindo assim preencher uma parcela da lacuna sobre a diversidade cariotípica de *A. cursor* em áreas de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais. Estudos enfocando as populações do norte do Estado podem ainda fornecer mais informações sobre a diferenciação entre as formas $2n = 14$ e 15 e $2n = 16$, pois se tratam de populações intermediárias entre estes citótipos. Da mesma forma, a análise de um número maior de populações, principalmente em condições intermediárias, pode auxiliar na compreensão se a variação citogenética é adaptativa ou não.

Agradecimentos

Aos biólogos Jânio Moreira, Pablo Gonçalves e Rodolfo Sttump pela ajuda e coleta do material em campo. À Prof^a Tudy Câmara (PUC Minas) pelo

exemplar de Leme do Prado. Ao Prof. Dejair Message por disponibilizar o fotomicroscópio. A CAPES pela bolsa concedida.

Referências

- Christoff, A.U. 1997. Contribuição a sistemática das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia:Sigmodontinae) do leste do Brasil: estudos anatômicos, citogenéticos e de distribuição geográfica. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Fagundes, V. 1993. Análises cromossômicas e dos complexos sinaptonêmicos em roedores brasileiros das famílias Cricetidae e Echimyidae. Dissertação (Mestrado em Genética), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Fagundes, V.; Vianna-Morgante, A.M. & Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. Telomeric sequences localization and G-banding patterns in the identification of a polymorphic chromosomal rearrangement in the rodent *Akodon cursor* ($2n = 14, 15$ e 16). *Chromosome Research*, (5): 228-232.
- Fagundes, V.; Christoff, A.U. & Yonenaga-Yassuda, Y. 1998. Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ($2n = 16, 15$ and 14). *Hereditas*, (129): 263-274.
- Ford, C. & Hamerton, J. 1956. A colchicines hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology* (31): 247-251.
- Geise, L. 1995. Os roedores Sigmodontinae do Estado do Rio de Janeiro (Rodentia, Muridae). Sistemática, citogenética, distribuição e variação geográfica. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Genética). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, xxvii+396p.

- Howell, W.M. & Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- Levan, A.; Fredga, K. & Sanberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* (52): 1-11.
- Maia, V. & Langguth, A. 1981. New karyotypes of Brazilian Akodont rodents with notes on taxonomy. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 46 (4): 241-249.
- Musser, G.G. & Carleton, M.D. 2005. Subfamily Sigmodontinae. Vol 2:1086--1186, In: *Mammal Species of the World, Third Edition*. (Eds.) Wilson, D.E. & Reeder, D.M. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2141pp.
- Nascimento, A.P. 1998. Estudos citogenéticos em *Akodon cursor* (Winge, 1887) (Rodentia, Cricetidae) de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. Tese (Mestrado em Genética), Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- Sbalqueiro, I.J. & Nascimento, A.P. 1996. Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Genética*, 19(4): 565-569.
- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.
- Yonenaga, Y. 1972. Chromosomal polymorphisms in the rodent *Akodon arviculoides* spp. ($2n = 14$) resulting from two pericentromeric inversions. *Cytogenetics*, 11: 488-499.
- Yonenaga, Y.; Kasahara, S.; Almeida, E.J.C. & Peracchi, A.L. 1975. Chromosomal banding patterns in *Akodon arviculoides* ($2n = 14$), *Akodon*

sp. ($2n = 24$ and 25), and two male hybrids with 19 chromosomes. *Cytogenetics Cell Genetics*, 15: 388-399.

Yonenaga-Yassuda, Y. 1979. New karyotypes and somatic and germ-cell banding in *Akodon arviculoides* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetics Cell Genetics*, 23: 241-249.

Yonenaga-Yassuda, Y.; Assis, M.F.L.; Kasahara, S.; L'Abbate, M.L. & Souza, M.J. 1983. Nucleolar organizer regions in *Akodon arviculoides* (Cricetidae, Rodentia): evidence for the activity of rDNA genes in both X chromosomes of females. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 35: 143-147.

Anexo

Espécimes analisados

Os dados citogenéticos são oriundos de exemplares depositados no Museu de Zoologia João Moojen, Viçosa (GL, MZUFV).

Akodon cursor - BRASIL: [1] Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA), Viçosa, Minas Gerais: LSR 003, MZUFV 1944, 1945, 1947, 1948, 1949, 1950, 1951, 1952, 2012, 2013, 2014, 2015, 2045, 2090, 2091, 2198, 2205, 2334, 2335, 2336, 2366, 2382, 2385.

[2] Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), Minas Gerais: GL 52, MZUFV 1157, 1165, 1230, 1233, 1264, 1269, 1277, 1301, 1629, 1636, 1647, 1657, 1890, 1891, 1892, 1894, 1897, 1898, 1899, 1908, 1909, 1910, 1914, 1915, 1916, 2042, 2086, 2088.

[3] Parque Estadual do Rio Doce (PERD), Minas Gerais: MZUFV 1303

[4] Município de Leme do Prado, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais: MZUFV 2404

CONCLUSÕES GERAIS

Com base no estudo realizado conclui-se que para *Akodon cursor* em remanescentes de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais:

- Foi possível determinar 5 classes de idade relativas com base no padrão de desgaste dos molares de *Akodon cursor*.
- Para a maior parte dos caracteres avaliados não há diferenças significativas entre as classes de idade relativas 3 e 4, o que proporciona o agrupamento das mesmas em uma análise de variação geográfica.
- Os efeitos etário e sexual sobre a variabilidade crânio morfométrica de *Akodon cursor* são reduzidos.
- Não foram detectadas diferenças qualitativas entre os crânios avaliados das diferentes populações.
- De acordo com análises multivariadas ocorre diferenciação na forma do crânio entre as amostras analisadas, sendo esta diferença possivelmente determinada pelo fator altitude.
- As amostras analisadas confirmaram o alto polimorfismo citogenético para a espécie, causado pelo rearranjo dos pares 1, 2 e 4.
- Foram encontrados oito diferentes citótipos para a espécie sendo o indivíduo de Leme do Prado o único a apresentar $2n=16$ com citótipo comum a indivíduos de Pernambuco. Os demais citótipos foram iguais aos demais registros para o Sul e Sudeste do país.
- As análises de banda C e NOR não foram satisfatórias para diferenciar as populações estudadas.
- As formas polimórficas dos pares 2 e 4 apresentam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg com base no teste de χ^2 .

ANEXO FOTOGRÁFICO



Indivíduo de *Akodon cursor* (MZUFV 2374, ♀) coletado na região de Viçosa.