

Universidade Federal de Viçosa
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Biologia Animal
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal



Variação Intrapopulacional e Geográfica de *Castoria angustidens* (Winge, 1887) (Rodentia: Cricetidae) em caracteres cranianos e moleculares

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 GERAS – BRASIL
2017

POLLYANNA ALVES DE BARROS

**VARIAÇÃO INTRAPOPULACIONAL DE *Castoria angustidens*
(WINGE, 1887) (RODENTIA: CRICETIDAE) EM
CARACTERES CRANIANOS E MOLECULARES**

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 GERAS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

B277v
2017
Barros, Pollyanna Alves de, 1987-
Variação intrapopulacional e geográfica de *Castoria
angustidens* (Winge, 1887) (Rodentia: Cricetidae) em caracteres
cranianos e moleculares / Pollyanna Alves de Barros. – Viçosa,
MG, 2017.
xv,105f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Gisele Mendes Lessa Del Giudice.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.69-79.

1. *Castoria angustidens*. 2. Filogenia. 3. Biogeografia.
4. Taxonomia . I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação em Biologia
Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 599.35

POLLYANNA ALVES DE BARROS

**VARIAÇÃO INTRAPOPULACIONAL E GEOGRÁFICA DE
Castoria angustidens (WINGE, 1887) (RODENTIA:
CRICETIDAE) EM CARACTERES CRANIANOS E
MOLECULARES**

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*.

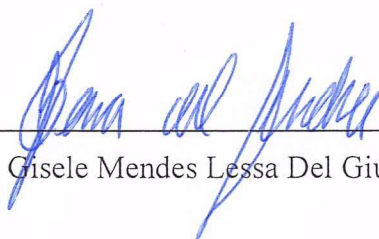
APROVADA: 25 de julho de 2017.



Pedro Seyferth Ribeiro Romano



Natália Maria de Freitas Vicente



Gisele Mendes Lessa Del Giúdice

**Dedico este trabalho aos
pequeninos roedores viajantes do
campo com destino às coleções.
Que a presença destes seja
devidamente respeitada e
honrada.**

“Quem elegeu a busca não pode recusar a travessia. Mestre não é quem ensina, mas quem de repente aprende! Natureza da gente não cabe em nenhuma certeza. Eu quase que nada sei. Mas desconfio de muita coisa...” pois “Quem desconfia fica sábio. Vivendo, se aprende, mais, é só fazer outras maiores perguntas.”

João Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todo apoio e aprendizado que a **Universidade Federal de Viçosa** me proporcionou com a oportunidade do mestrado e a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES) pela concessão da bolsa. Agradeço aos membros da **banca** por terem aceitado o convite e pelas sugestões para o trabalho.

Agradecimento especial vai para a minha querida orientadora e amiga **Gisele** por ter me recebido no museu desde a graduação e por ter me dado apoio incondicional durante todos esses anos. Obrigada pela confiança, por todo aprendizado, pela paciência e por sempre cuidar com tanto carinho dos filhotes do LabMasto.

Gostaria de agradecer ao professor e co-orientador **Jorge Dergam**. Obrigada por sempre estar de portas abertas para nos ajudar e contribuir com nosso trabalho. Obrigada por toda sua filosofia biológica que sempre trás reflexões sobre os valores e deveres do biólogo. Agradeço ao **Laboratório de Sistemática Molecular - Beagle**, por toda colaboração, apoio e carinho. Obrigada ao **Cristhian**, a **Sanely**, a **Natália**, **Marina** e **Cynthia** por me auxiliarem na iniciação ao aprendizado da técnica molecular, e sempre me socorrerem nos momentos de dúvidas.

Meu muito obrigada ao meu co-orientador **Pablo Rodrigues Gonçalves** por ter me aceitado, por todo apoio durante um mês e meio em Macaé, e pelo apoio pós Macaé. Obrigada pelo aprendizado e pela oportunidade de ter trabalhado com vocês, foi maravilhoso. Agradeço a todo o **Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Ambiental de Macaé (NUPEM)** da **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, por terem me recebido tão bem. Obrigada aos alunos do laboratório, **Hudson**, **Mariana**, **Vitor** e a professora **Ana Cristina Petry** que sempre me auxiliaram ao longo da estadia em Macaé.

Obrigada ao curador da coleção de Mastozoologia do **Museu Nacional**, **João Oliveira**, e obrigada a sua aluna **Gisela**, que tanto me ajudou durante os dias de trabalho no museu. Agradeço a receptividade e a disponibilização do material.

Meu muito obrigada a **Ulyses Francisco José Pardiñas** por toda contribuição com esse trabalho! Obrigada por dedicar grande parte do tempo de sua vinda ao Brasil e visita a Viçosa revisando-o. Agradeço imensamente pelas horas de aprendizado sobre os Sigmodontíneos. Obrigada também a **Carola Cañón** pela enorme disposição em me ajudar e pelas sugestões para o trabalho.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Biologia Animal, **Lúcia, Nilo, Emília**, aos **senhores Zé's (Zé Brás, Zé Lelis e Zé Antônio)**, a **Sãozinha**, que estão sempre ao nosso redor dando suporte e nos tratando com muito respeito e carinho. Obrigada aos professores do departamento que sempre zelam por seus alunos com muito respeito e carinho.

Agradeço à **Família João Moojen** que me proporcionou conhecer pessoas maravilhosas e me trouxe grandes amizades. Obrigada aos professores moojenianos, **Rômulo Ribon, Pedro Romano** e ao nosso curador **Renato Feio**, carinhosamente conhecido como Renatão. Obrigada por todo apoio e também pelos puxões de orelha. Obrigada a todo pessoal da herpeto sempre pronto a ajudar: **Clodoaldo, Jonas, Dani, Carlinha e Pedro**. Não poderia deixar de agradecer a minha companheira de mestrado e grande amiga **Larissinha**, pelos momentos de diversão, perrengues e alegrias durante esta jornada.

Obrigada ao **LabMasto** e a tudo com que ele me presenteou! Agradeço a todos que por lá passaram e que de alguma forma contribuíram não só com meu trabalho, mas também com minha formação pessoal. Obrigada aos grandes amigos **Rodolfo, Léo Fóssil e Zizo** por todas as discussões mastozoológicas ao longo do mestrado. Obrigada por sempre estarem prontos a queimar uns neurônios a mais e tentarem responder minhas infindáveis perguntas. Obrigada aos integrantes do LabMasto sempre tão prontos a me ajudar de diferentes maneiras: **Adrielli, Anaíza, Anny, Bel, Bianca, Carla, Carol, Fernanda, Flávio, João, Júlia, Juliano, Marcela, Pedro, Ramon, Sarah, Thaís, Ygor, Marcus e Ramon**. Se eu for mencionar o tanto que cada um me ajudou posso escrever outra dissertação: “Ajudando a Polly a acabar esse mestrado sem fim”! Obrigada pela paciência, respeito e carinho.

Agradeço imensamente a minha base: meus pais, **Brasil e Vanessa**, e aos meus irmãos **Carol, Pepê e Anjinha**. Por todo carinho, amor, paciência, compreensão e o muito mais que não se pode descrever em palavras. Obrigada por compreenderem minhas ausências, por compartilharem felizes minhas conquistas e por tentarem entender cada pedacinho dos meus ratinhos e do meu trabalho. E, é claro, obrigada por me aturarem nos momentos de estresse. Amo vocês!

Obrigada ao amor da minha vida, **Carlos**, pelo amor, dedicação e carinho nas pequenas coisas da vida, por acreditar em mim mais do que eu mesma e por me acompanhar sempre, fazendo de cada momento um momento mais feliz. Obrigada por sempre caminhar ao meu lado, seja para me aturar nos momentos de desespero ou para comemorar as conquistas! =) Te amo!

S2

O meu muito obrigada a minha família de BH. Ao meu padrinho e tio **Jorginho** e sua esposa, minha titia **Bibi**; ao meu tio forrozeiro **Jefferson**, a minha tia **Virlene** e seu companheiro **Cristiano**. Obrigada pelos grandes momentos de relaxamento nas idas a BH com muitas conversas, risadas e pelas comidinhas deliciosas. E não podia deixar de citar minha querida vó **Cléria**, que tenho certeza que está feliz por mim aonde quer que esteja.

Obrigada a minha família de SP. Que apesar da distância sempre demonstra muito carinho e amor nos momentos compartilhados. Obrigada a minha tia **Zeni**, minha tia **Valdete** e tio **Adalto** que sempre nos recebem com muitas histórias e risadas! A minha tia/madrinha **Yone**, aos meus queridos primos **Daniel e Kemilly**, ao meu tio **Augusto** e sua esposa **Tânia**, ao grande **Vitor**, e a pequenina **Beatriz**, a minha tia linda e tão especial **Yarinha**, ao **Laudir, Adriana** e as meninas. Apesar dos momentos difíceis, obrigada pelo apoio, carinho, alegria e amor. E meu obrigada mais que especial a minha vizinha **Dina** que participou apenas do início dessa caminhada e que sempre torcia muito pelos baixinhos dela.

Obrigada a minha família de Monlevade. Agradeço ao Sr. **Zezé** e senhora **Carminha** pelo carinho, amor e compreensão que sempre demonstram. Por sempre nos receberem com

muita alegria e com lanchinhos gostosos. Ao trio pequenino que sempre nos trás muitas alegrias e muita doçura, **Lalá, Heitorzinho e Sosô**. E a **Valéria** e a **Lu** pelo grande carinho.

Obrigada a **Família Voleibol Luve!** Agradeço pelo carinho, amor, respeito e pela oportunidade de fazer parte desse grupo tão maravilhoso. Obrigada pelos treinos, campeonatos, vitórias e derrotas juntos, atletas e comissões técnicas. Obrigada por exigirem o melhor de mim e principalmente pela confiança. E obrigada por entenderem minhas ausências no final do mestrado. Viçosa sem vocês não seria a mesma!

Obrigada à Viçosa por ter me concedido grandes amigas que estão sempre ao redor quando eu mais preciso. O meu muito obrigada a **Agnes, Marcelinha, Larissinha, Pri, Talizinha, Sabrina, Bel e Anny**.

Gostaria de agradecer imensamente a **Deus**, a **Jesus** e a **espiritualidade** amiga, pelo amparo nas dificuldades e pelas oportunidades de crescimento e aprendizado na vida ao lado de pessoas maravilhosas. Nada nessa vida se faz sozinho e, tudo se faz muito melhor quando se está bem acompanhado e feliz. Esse trabalho não é só meu, mas de todos que estiveram ao meu lado durante essa caminhada de muito aprendizado, dificuldades e superações que não poderiam ser atingidas sem o apoio destas pessoas. Essa conquista também tem pedacinhos de todos vocês, uns mais, outros menos, mas todos muito importantes!!! Brigadim de coração a todos! =)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xv
ARTIGO	1
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS	4
<i>Espécimes analisados.....</i>	<i>4</i>
<i>Análises Morfológicas.....</i>	<i>5</i>
<i>Qualitativa</i>	<i>5</i>
<i>Quantitativa</i>	<i>7</i>
<i>Análises Intrapopulacionais: Variação Etária e Dimorfismo Sexual</i>	<i>8</i>
<i>Análise Geográfica.....</i>	<i>9</i>
<i>Variação Interespecífica na Divisão Akodon.....</i>	<i>9</i>
<i>Análises Estatísticas Preliminares: verificação das medidas cranianas</i>	<i>9</i>
<i>Análises Morfológicas Quantitativas</i>	<i>10</i>
<i>Análises Moleculares</i>	<i>11</i>
<i>Dados Moleculares: Extração, amplificação e sequenciamento</i>	<i>11</i>
<i>Reconstruções Filogenéticas</i>	<i>11</i>
RESULTADOS	13
<i>Morfologia.....</i>	<i>13</i>
<i>Análises Qualitativas.....</i>	<i>13</i>
<i>Classes Etárias</i>	<i>13</i>
<i>Análises Quantitativas Preliminares</i>	<i>19</i>
<i>A população de Castoria angustidens do PESB.....</i>	<i>20</i>
<i>Variação Etária</i>	<i>20</i>
<i>Dimorfismo sexual.....</i>	<i>25</i>
<i>Dimorfismo sexual nas Classes Etárias</i>	<i>30</i>
<i>Variação Geográfica</i>	<i>32</i>
<i>Variação Interespecífica</i>	<i>41</i>
<i>Molecular</i>	<i>46</i>
<i>Rede de Haplótipos.....</i>	<i>46</i>
<i>Reconstruções Filogenéticas</i>	<i>46</i>

DISCUSSÃO.....	55
<i>Variação Intrapopulacional.....</i>	<i>55</i>
<i>Variação Geográfica.....</i>	<i>61</i>
CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
APÊNDICE I.....	80
APÊNDICE II	88
APÊNDICE III.....	89
APÊNDICE IV	91
APÊNDICE V.....	93
APÊNDICE VI.....	98
APÊNDICE VII.....	101
APÊNDICE VIII.....	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Procedência dos exemplares de Akodontíneos amostrados. 1) Cachoeiro do Itapemirim, 2) Parque Nacional do Caparaó, 3) Reserva Particular do Patrimônio Natural Estação Biológica da Mata do Sossego, 4) Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 5) Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso, 6) Parque Estadual do Desengano, 7) Parque Estadual dos Três Picos, 8) Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, 9) Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 10) Petrópolis, 11) Parque Nacional do Itatiaia, 12) Parque Nacional Serra da Bocaina, 13) Parque Estadual Pico Paraná, 14) Roça Nova, Piraquara, 15) Parque Nacional São Joaquim. Complexos Serranos da Mata Atlântica: Serra da Mantqueira (Populações 1 – 5 e 11), Serra do Mar (Populações 6 – 10 e 12 - 14), e Serra Geral (População 15).5

Figura 2: Procedência dos espécimes de *Castoria angustidens* no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro.6

Figura 3: Medidas do crânio e da mandíbula de *Castoria angustidens*. As siglas estão descritas no texto.8

Figura 4: Classes etárias de *Castoria angustidens* pertencentes a população do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro com base na morfologia dos molares. Seis classes etárias (1 a 6) da esquerda para a direita. De A a F estão as séries molares superiores, e de G a L as séries molares inferiores. De cima para baixo estão os molares: M1, M2 e M3. À esquerda está a porção labial do dente. Da esquerda para a direita: MZUFV 2556, MZUFV 2058, MZUFV 1278, MZUFV 1213, MZUFV 1215 e MZUFV 1172. Escala = 1 mm.19

Figura 5: Variação ontogenética da população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação das idades. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica apontando o nível de separação entre as classes etárias: idade 2/3 (quadrado alaranjado), idade 4 (triângulo invertido verde), idade 5 (círculo azul claro), e idade 6 (triângulo roxo).24

Figura 6: Dimorfismo sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 23 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representadas pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação entre os sexos: fêmeas (triângulos rosas) e machos (círculos azuis). Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. Entre parênteses está a porcentagem de variação de cada eixo. (B e C) *Loadings* de cada uma das medidas referentes ao CP1 (B) e CP2 (C), e intervalo de confiança gerado a partir do *bootstrap* (10.000).27

Figura 7: Dimorfismo sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseado em 21 medidas crânio-mandibulares (exceto medidas do osso parietal). (A) Análise de Componentes Principais representadas pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação entre os sexos: fêmeas (triângulos rosas) e machos (círculos azuis). Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. Entre parênteses está a porcentagem de variação de cada eixo. (B e C) *Loadings* de cada uma das medidas referentes ao CP1 (B) e CP2 (C), e intervalo de confiança gerado a partir do *bootstrap* (10.000).29

Figura 8: Análise Discriminante Canônica avaliando Dimorfismo Sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-

mandibulares: fêmeas (barras rosas) e machos (barras azuis).30

Figura 9: Variação sexual por classe etária da população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando presença ou ausência de dimorfismo dentro de cada classe etária: idade 2/3 (quadrados alaranjados), idade 4 (triângulos verdes invertidos), idade 5 (círculos azuis), idade 6 (triângulos roxos), fêmeas (símbolos cheios) e machos (símbolos vazios).33

Figura 10: Variação geográfica de *Castoria angustidens* da idade 4 baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 60% da variação populacional. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica apontando o nível de separação entre as populações: População 2 - PARNA Caparaó (círculos azuis), População 4 - PESB (triângulos marrons), População 7 - PE Três Picos (quadrados amarelos), População 8 - Nova Friburgo (triângulos azuis), Pop. 9 - PARNASO (triângulos invertidos azuis), População 11 - PARNA Itatiaia (+ magenta), População 13 - PE Pico Paraná ("x" rosa), População 15 - PARNA São Joaquim (círculos verdes).37

Figura 11: Variação geográfica dos complexos serranos de *Castoria angustidens* da idade 4 baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 55% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando o nível de separação entre os complexos serranos da Mata Atlântica: Complexo Serrano da Mantiqueira (losangos verdes), Complexo Serrano do Mar (quadrados rosas), e Complexo Serrano Geral (asteriscos azuis). ...41

Figura 12: Variação geográfica interespecífica entre *Castoria angustidens*, *Necromys lasiurus* e *Thaptomys nigrita* baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 80% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando o nível de separação das populações de cada uma das espécies: Populações de *Castoria angustidens* do complexo serrano da Mantiqueira (losangos verdes), da Serra do Mar (quadrados rosas) e Geral (asteriscos azuis); População de *Necromys lasiurus* da Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (círculos azuis); e a População do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro de *Thaptomys nigrita* (triângulos alaranjados).45

Figura 13: Rede de haplótipos do gene *cytb* de *Castoria angustidens* construída a partir do critério da parcimônia utilizando o método TCS. Cada círculo corresponde a um haplótipo. O tamanho do círculo é proporcional à frequência dos haplótipos e os traços entre os círculos indicam o número de diferenças entre os mesmos. As cores indicam as diferentes populações ao longo da distribuição da espécie: Pico Paraná (azul), Santa Catarina (amarelo), Rio Grande do Sul (verde), PESB (rosa), e PARNA Caparaó (roxo). Os indivíduos estão referenciados com os seus números de tombo nas respectivas coleções ou com o número de registro do *genbank*.47

Figura 14: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Inferência Bayesiana do gene *cytb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica GTR + G + I. Os valores dos nós correspondem às probabilidades posteriores (>0,95). As porções coloridas englobam grupos de espécimes de *Castoria*

angustidens separados em ramos distintos. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus judex*, considerado como grupo externo.....49

Figura 15: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Máxima Verossimilhança do gene *cytb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica GTR + G + I. Os valores dos nós correspondem aos valores de *bootstrap*. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus judex*, considerado como grupo externo. ..50

Figura 16: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Inferência Bayesiana do gene *fgb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica T92. Os valores dos nós correspondem às probabilidades posteriores (>0,95). A árvore foi enraizada em *Necromys lasiurus*, considerado como grupo externo do clado.52

Figura 17: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Máxima Verossimilhança do gene *fgb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica T92. Os valores dos nós correspondem aos valores de *bootstrap*. A árvore foi enraizada em *Necromys lasiurus*, considerado como grupo externo do clado.53

Figura 18: Rede de haplótipos do gene *rag1* de *Castoria angustidens* construída a partir do critério da parcimônia utilizando o método TCS. Cada círculo corresponde a um haplótipo. O tamanho do círculo é proporcional à frequência dos haplótipos ($f=1$) e os traços entre os círculos indicam o número de diferenças entre os mesmos. As cores indicam as diferentes populações dos espécimes sequenciados ao longo da distribuição da espécie: Fazenda da Neblina, PESB (rosa escuro); Serra das Cabeças, PESB (lilás). Os indivíduos estão referenciados com os respectivos números de tombo.54

Figura 19: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* geradas a partir da árvore consenso da Análise de Máxima Verossimilhança e da Inferência Bayesiana do gene *rag1* utilizando do modelo de substituição nucleotídica K2 + G. Os valores dos nós da árvore correspondem aos valores de *bootstrap* seguidos dos valores de probabilidade posterior. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus hiska*, considerado como grupo externo do clado.55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estatística descritiva das cinco classes etárias da população de <i>Castoria angustidens</i> do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada nas 24 medidas crânio-mandibulares.....	22
Tabela 2: Potencial de diferenciação entre as classes etárias a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste <i>post hoc</i> de Tukey.	23
Tabela 3: Estatística Descritiva entre os sexos de <i>Castoria angustidens</i> do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro de acordo com as 24 medidas crânio-mandibulares.....	26
Tabela 4: Estatística descritiva dos sexos nas diferentes classes etárias de <i>Castoria angustidens</i> do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada nas 21 medidas crânio-mandibulares.....	31
Tabela 5: Estatística descritiva das oito populações de <i>Castoria angustidens</i> pertencentes a idade 4 com base nas 24 medidas crânio-mandibulares.	34
Tabela 6: Potencial de diferenciação dos pares de populações da idade 4 de <i>Castoria angustidens</i> a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste <i>post hoc</i> de Tukey.....	36
Tabela 7: Estatística descritiva e ANOVA dos complexos serranos da Mata Atlântica de <i>Castoria angustidens</i> da idade 4 baseadas nas 24 medidas crânio-mandibulares.	39
Tabela 8: Estatística descritiva de <i>Castoria angustidens</i> , <i>Necromys lasiurus</i> e <i>Thaptomys nigrita</i> , baseada nas 24 medidas crânio-mandibulares e comparação destas com as médias do holótipo de <i>C. angustidens</i> , depositado no Museu Britânico de História Natural (BMNH)....	43
Tabela 9: Potencial de diferenciação dos pares de populações de espécies da Divisão <i>Akodon</i> a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste <i>post hoc</i> de Tukey.....	44
Tabela 10: Lista de haplótipos de <i>Castoria angustidens</i> com as respectivas frequências e procedências.	48
Tabela 11: Valores da distância molecular (p) dentro e entre os grupos de populações de <i>Castoria angustidens</i> observados nas análises morfológicas geográficas.....	51

RESUMO

BARROS, Pollyanna Alves de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2017. **Varição Intrapopulacional e Geográfica de *Castoria angustidens* (Winge, 1887) (Rodentia: Cricetidae) em caracteres cranianos e moleculares.** Orientadora: Gisele Mendes Lessa Del Giúdice. Coorientadores: Pablo Rodrigues Gonçalves e Jorge Abdala Dergam dos Santos.

Castoria angustidens é um roedor sigmodontíneo endêmico do bioma Mata Atlântica com lacunas no estudo de sua taxonomia alfa, beta e gamma. Esse trabalho estudou a variação intrapopulacional e geográfica da espécie com base em caracteres morfológicos crânio-mandibulares e moleculares, reavaliando seu posicionamento filogenético dentro da Divisão *Akodon*. O estudo intrapopulacional utilizou a maior população da espécie catalogada em museus, pertencente ao Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais, Brasil. As análises quantitativas e qualitativas baseadas em 23 medidas crânio-mandibulares confirmaram a presença de cinco classes etárias. Foi detectado a presença de anteroflexo mediano nas duas primeiras classes etárias. Ossos e regiões do viscerocrânio aumentaram significativamente em comprimento e largura ao longo do desenvolvimento ontogenético. Além disso, o estudo intrapopulacional apontou ausência de dimorfismo sexual. As análises geográficas detectaram dois grupos morfológicos, um ao norte, com maiores medidas crânio-mandibulares, composto por populações de Minas Gerais e do Espírito Santo; e outro ao sul, com medidas menores, representados pelas populações do Rio de Janeiro. Dentre as 30 amostras do gene mitocondrial (citocromo b) sequenciadas, foram delimitados 18 haplótipos divididos em dois grupos, um sul, com indivíduos do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; e um norte, formado por populações de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Tanto a análise de Inferência Bayesiana quanto a de Máxima Verossimilhança sugeriram o mesmo padrão regional com dois clados para a espécie. O íntron β -fibrinogênio apresentou padrão conservado detectando um haplótipo dentre as nove sequências obtidas ao longo da distribuição de *Castoria*. O sequenciamento do éxon *rag1* gerou três sequências e três haplótipos, todos do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, não sendo possível observar o padrão regional de acordo com esse gene. As análises do gene mitocondrial indicaram que o gênero é grupo irmão de *Deltamys*. Tanto as análises da morfologia quantitativa crânio-mandibular quanto as moleculares sugeriram a formação de dois grupos dentro de *Castoria*. De acordo com as evidências, sugere-se a manutenção de um gênero monoespecífico, e uma possível ocorrência de duas sub-espécies, sendo uma delas restrita à porção norte (*Castoria angustidens leucogula*) e a outra à porção sul (*Castoria angustidens serrensis*).

ABSTRACT

BARROS, Pollyanna Alves de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2017. **Intrapopulation and Geographic variation in *Castoria angustidens* (Winge, 1887) (Rodentia: Cricetidae) based on molecular and skull characters.** Advisor: Gisele Mendes Lessa Del Giúdice. Co-Advisors: Pablo Rodrigues Gonçalves and Jorge Abdala Dergam dos Santos.

Castoria angustidens is a sigmodontine rodent endemic of the Atlantic Forest lacking studies on its alpha, beta and gamma taxonomy. This research studied the intrapopulation and geographic variation of *C. angustidens* based on skull and jaw morphological and molecular characters. We also evaluated the phylogenetic position of the genus inside the *Akodon* Division according to four previous hypotheses. The intrapopulation analyses were based on *Castoria*'s greatest sampled population that belongs to Serra do Brigadeiro State Park, in Minas Gerais State, Brazil. The occlusal wear evaluation of the upper molar toothrow established six age classes, in which the first three have a vestigial anteromedian flexus. On the other hand, quantitative analyses based on 23 skull and jaw measurements certified only five among those classes. Bones and regions of viscerocranium increased significantly both in length and breadth along with the ontogenetic development. In addition, the intrapopulation study pointed to the absence of sexual dimorphism. Geographic analyses proposed two morphological groups, one belonging to the north of the species distribution, composed by the biggest-skull populations from Minas Gerais, and Espírito Santo States; and the other to its south, composed by the smallest skull-populations from Rio de Janeiro. Among 30 samples of mitochondrial genes (cytochrome b) sequenced, 18 haplotypes were also divided into two groups, one up north containing Minas Gerais, Espírito Santo and Rio de Janeiro States; and the other, down south including populations of Paraná, Santa Catarina, and Rio Grande do Sul States. Both Bayesian Inference and Maximum Likelihood analyses suggested the same two clades as a pattern for the species regional approach. The conserved pattern of intron β -fibrinogen detected only one haplotype in a group of nine sequences along with *Castoria* geographic distribution. The rag1 exon produced three sequences and three haplotypes, all from Serra do Brigadeiro State Park. Consequently, a geographical pattern of this gene could not be observed for *Castoria*. Cytochrome b investigations accepted the hypothesis accounting for *Deltamys* as the sister group of *Castoria*. Skull and jaw morphological and molecular data suggested the existence of two clades inside the species. According to the evidences, the genus is monotypic but we are suggesting that it could be divided into two subspecies: one restricted to the north of species distribution (*Castoria angustidens leucogula*), and the other restricted to the south (*Castoria angustidens serrensis*).

ARTIGO

Artigo a ser submetido à revista Journal of Mammalogy

Variação Intrapopulacional e Geográfica de *Castoria angustidens* (Winge, 1887) (Rodentia: Cricetidae) em caracteres cranianos e moleculares

Pollyanna A. de Barros^{1*}, Pablo R. Gonçalves², Ulyses F. J. Pardiñas³ e Gisele Lessa¹

¹ *Laboratório de Mastozoologia do Museu de Zoologia João Moojen, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa, Minas Gerais, CEP 36570-900, Brasil.*

² *Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida São José Barreto, 764, São José do Barreto, Macaé, CEP 27965-045, Rio de Janeiro, Brasil.*

³ *Instituto de Diversidad y Evolución Austral (IDEAus, CONICET), CC 128, 9120 Puerto Madryn, Chubut, Argentina.*

* Correspondente: pollyalvesb@gmail.com

Palavras-chave: Divisão *Akodon*, Variação Intraespecífica, Variação Geográfica, Taxonomia integrativa, Filogenia.

INTRODUÇÃO

Os sigmodontíneos consistem no segundo grupo de roedores Muroideos mais diverso, representando 56% das espécies e 62% dos gêneros da ordem Rodentia nas Américas (D'Elía & Pardiñas 2015a). Estão distribuídos ao longo de toda a região neotropical até a porção sul da América do Norte. A definição taxonômica da subfamília como um grupo monofilético está fundamentada na complexidade morfológica do báculo, na morfologia dos incisivos e no tamanho do terceiro molar em relação à série molar (Lessa *et al.* 2014, D'Elía & Pardiñas *et al.* 2015). De hábitos diversificados (terrestre, arborícola, escansorial, semi-fossorial ou semi-aquático), eles estão presentes em todos os biomas brasileiros, além de possuírem espécies endêmicas da Mata Atlântica, do Cerrado, da Caatinga e da Amazônia (Bonvicino *et al.* 2008).

Dentre as 11 tribos sigmodontíneas, a segunda mais especiosa é Akodontini, reconhecida como grupo por Thomas em 1916 e denominada tribo por Vorontzov em 1959. Nela estão inseridos animais adaptados aos hábitos cursorial, fossorial e semiaquático,

distribuídos ao longo da América do Sul, porém pouco abundantes na região Amazônica, ausentes no sul da Patagônia e em parte do Chile (D'Elía & Pardiñas 2015b). Desde sua determinação, diversas revisões taxonômicas modificaram o conjunto de espécies da tribo (Reig 1977; Reig 1987; McKenna & Bell 1997; Smith & Patton 1999). A revisão mais recente foi proposta em 2015 por D'Elía e Pardiñas, delimitando 85 espécies distribuídas em 15 gêneros.

Análises moleculares realizadas por D'Elía (2003) com espécies da tribo Akodontini utilizando um gene nuclear (*irbp*) e um mitocondrial (*cyt b*), identificaram cinco sub-clados denominados Divisões: a Divisão *Akodon*, composta pelos gêneros *Akodon*, *Deltamys*, *Necomys*, *Thalpomys* e *Thaptomys*; a Divisão *Blarinomys*, contendo os gêneros *Blarinomys*, *Brucepattersonius* e *Lenoxus*; a Divisão *Oxymycterus*, com os gêneros *Oxymycterus* e *Juscelinomys*; a Divisão *Scapteromys*, constituída pelos gêneros *Scapteromys* e *Kunsia*; e, por fim, a Divisão *Bibimys*, unigenérica. Apesar dos resultados obtidos nesses estudos, muitas das relações filogenéticas dentro e entre as divisões akodontíneas ainda não estão bem suportadas, tornando-se importante a realização de trabalhos complementares ampliando o conhecimento sobre as relações filogenéticas e a história evolutiva de espécies da tribo (D'Elía 2003, Leite *et al.* 2015).

A Divisão *Akodon* concentra as maiores lacunas taxonômicas (D'Elía 2003), muitas destas diretamente relacionadas a alta similaridade morfológica das espécies do gênero *Akodon* (Musser & Carleton 1993). Este é o gênero mais numeroso da tribo e o segundo mais especioso de toda a subfamília totalizando 38 espécies formais e uma espécie em processo de descrição, representando mais de 44% das espécies akodontíneas (Pardiñas *et al.* 2015b). No Brasil há 11 espécies de *Akodon* amplamente distribuídas ao longo da Mata Atlântica, do Cerrado, da Caatinga, do Pantanal e dos Pampas (Pardiñas *et al.* 2015b).

A Mata Atlântica é apontada como um centro de diversificação de pequenos mamíferos diante do elevado grau de endemismo e da ampla biodiversidade encontrada (da Silva & Patton 1998; Smith & Patton 1999; Reis *et al.* 2011; Paglia *et al.* 2012). Apesar do desmatamento e

degradação, este bioma abriga cinco dos sete gêneros da Divisão *Akodon*, sendo *Akodon mystax*, *A. sanctipaulensis*, *Castoria angustidens* e *Thaptomys nigrita* espécies endêmicas (D'Elía & Pardiñas 2015b).

Castoria angustidens é um roedor sigmodontíneo insetívoro-onívoro de hábito terrestre, distribuído ao longo da costa brasileira desde o sul do Espírito Santo até o norte do Rio Grande do Sul, atingindo a província de Misiones, na Argentina, na porção mais a oeste de sua distribuição (Pardiñas *et al.* 2015b). A espécie foi até então registrada entre 400 e 2700 m de altitude (Paglia *et al.* 2012; Pardiñas *et al.* 2015b), sendo as populações do norte detectadas acima de 700 m, e as do sul acima dos 400 m de altitude (Geise *et al.* 2004; Moreira *et al.* 2009). Esse gênero é monoespecífico resultado de uma recém sinonimização entre a espécie vivente *Akodon serrensis* Thomas, 1902 e a fóssil, *Habrothrix angustidens* Winge, 1887 (Pardiñas *et al.* 2016). Diversos estudos aboradaram *C. angustidens* (eg.: Barros-Battesti *et al.* 1998; Smith & Patton 1999; Christoff *et al.* 2000; Geise *et al.* 2001; Bonvicino *et al.* 2002; D'Elía 2003; D'Elía *et al.* 2003; Moraes *et al.* 2003; Gonçalves *et al.* 2007; Olifiers *et al.* 2007; Hass *et al.* 2008; Moreira *et al.* 2009; Raboni *et al.* 2012; Ventura *et al.* 2012; Coutinho *et al.* 2013; Silveira *et al.* 2013; Abreu & Oliveira 2014; Teixeira *et al.* 2014; Leite *et al.* 2015; Salazar-Bravo *et al.* 2016), entretanto poucos avaliaram a espécie isoladamente (Liascovich & Reig 1989; Testoni *et al.* 2012; Abreu *et al.* 2014; Pardiñas *et al.* 2016).

Os estudos morfológicos e moleculares inserindo *Castoria angustidens* apontaram quatro hipóteses distintas de alocação desse táxon. A primeira sugere que a espécie permaneça no clado monofilético do gênero *Akodon* como um ramo basal (Gonçalves *et al.* 2007; Coyner *et al.* 2013). As outras três hipóteses indicam a remoção de *Castoria* do ramo monofilético de *Akodon*, posicionando a espécie como grupo irmão de *Thaptomys nigrita* (D'Elía 2003; D'Elía *et al.* 2003), como grupo irmão do clado *Akodon* + *Deltamys* (Smith & Patton 2007; Ventura *et al.* 2013; Abreu *et al.* 2014; Pardiñas *et al.* 2016b) ou como grupo irmão de *Deltamys* (Fabre *et al.* 2012; Leite *et al.* 2015). Apesar das hipóteses divergentes, a maioria destes estudos aponta

para a exclusão de *C. angustidens* do ramo monofilético do gênero *Akodon*, sem deixar claro o real posicionamento do táxon.

Uma espécie pode ser analisada sob diferentes níveis de organização: bioquímico, molecular, morfológico, ecológico, comportamental, geográfico e/ou evolutivo (Padial *et al.* 2010). Historicamente, a morfologia é o nível de organização mais utilizado na taxonomia dos roedores Sigmodontíneos, utilizando exemplares depositados em museus. Estudos moleculares e citogenéticos vem sendo realizados nas últimas décadas com resultados por vezes incongruentes aos apontados pela morfologia (Padial *et al.* 2010). Uma solução para essa problemática tem sido a utilização da taxonomia integrativa, que defende a definição de uma espécie a partir do estudo com mais de um nível de organização (Padial *et al.* 2010). A partir da congruência de diferentes séries de dados a delimitação de uma espécie é mais suportada (Hillis 1987; Barrett *et al.* 1991; Donoghue & Sanderson 1992; Frunk *et al.* 1995; Padial *et al.* 2010).

Portanto, o presente trabalho estudou a variação morfológica e molecular de *Castoria angustidens* a nível populacional e geográfico, e avaliou o posicionamento da mesma dentro da Divisão *Akodon* contrastando os dados obtidos com as quatro hipóteses de alocação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes analisados

Foram analisadas cinco espécies de Akodontíneos (*Akodon mystax*, *Castoria angustidens*, *Deltamys* sp., *Necomys lasiurus*, *Thaptomys nigrita*), totalizando 277 espécimes oriundas de 17 localidades (Figura 1). Todos os crânios, mandíbulas e amostras de tecido hepático utilizados estão tombados nas coleções mastozoológicas do Museu de Zoologia João Moojen (MZUFV); do Museu Nacional (MN-UFRJ) e do Museu da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES-MAM) (Apêndices I e II). O número de indivíduos analisados variou de acordo com a metodologia aplicada e com a disponibilidade do material nas coleções zoológicas (Apêndices III).

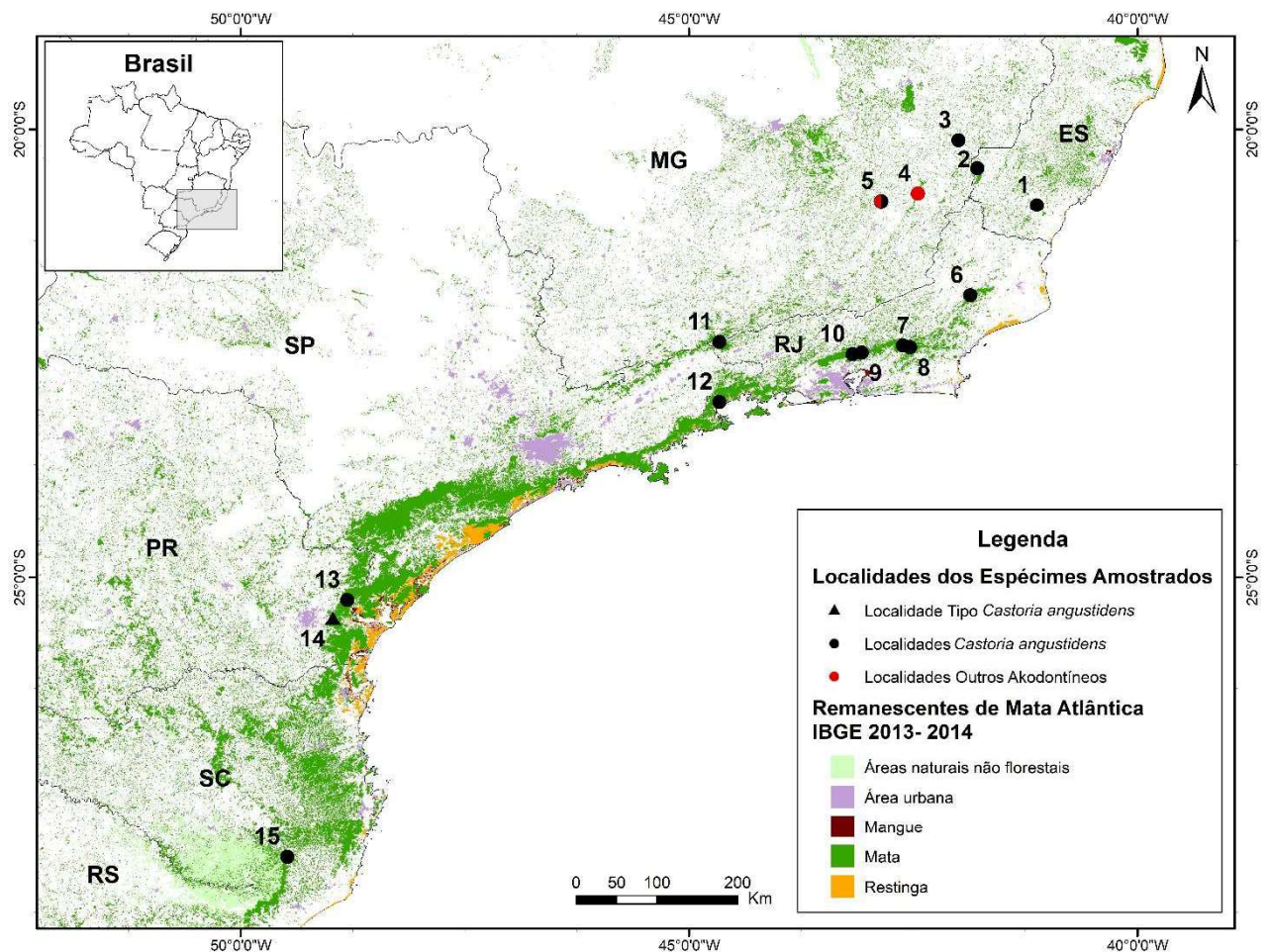


Figura 1: Procedência dos exemplares de Akodontíneos amostrados. 1) Cachoeiro do Itapemirim, 2) Parque Nacional do Caparaó, 3) Reserva Particular do Patrimônio Natural Estação Biológica da Mata do Sossego, 4) Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 5) Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso, 6) Parque Estadual do Desengano, 7) Parque Estadual dos Três Picos, 8) Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, 9) Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 10) Petrópolis, 11) Parque Nacional do Itatiaia, 12) Parque Nacional Serra da Bocaina, 13) Parque Estadual Pico Paraná, 14) Roça Nova, Piraquara, 15) Parque Nacional São Joaquim. Complexos Serranos da Mata Atlântica: Serra da Mantqueira (Populações 1 – 5 e 11), Serra do Mar (Populações 6 – 10 e 12 - 14), e Serra Geral (População 15).

Análises Morfológicas

Qualitativa. — Buscando delinear a variação morfológica intrapopulacional de *Castoria angustidens* foram avaliados 90 indivíduos do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), a população mais numerosa da espécie. Apesar de originados de regiões distintas do parque, todos exemplares foram considerados como uma única unidade taxonômica operacional (Figura 2) (Apêndice I). O PESB é o maior fragmento de Mata Atlântica contínua da Zona da Mata de Minas Gerais com 14.984 ha e altitude variando entre 860 e 1985 m. O clima da região é

mesotérmico (Cwb) delimitando duas estações bem definidas: inverno seco (abril a setembro) e verão temperado (outubro a março) (Köppen & Geiger 1939). As condições do relevo, hidrografia e clima estabelecem duas fitofisionomias predominantes: a Floresta Ombrófila Densa e os Complexos Rupestres de Altitude (IEF 2007).

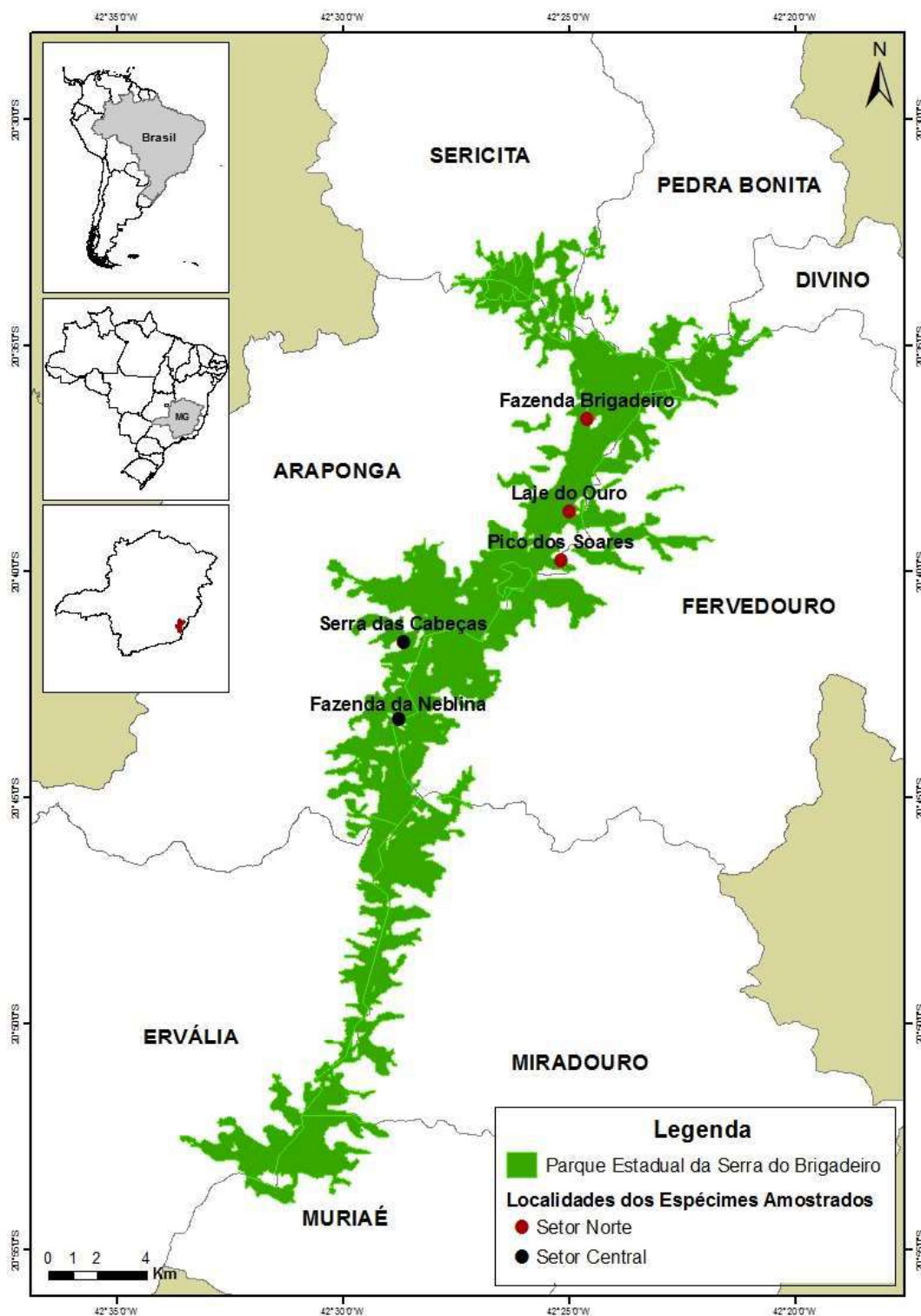


Figura 2: Procedência dos espécimes de *Castoria angustidens* no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro.

Foram realizadas avaliações morfológicas dos molares de *Castoria angustidens* do PESB, buscando descrever as possíveis variações ao longo da ontogenia. A descrição das estruturas oclusais dentárias foi baseada em Reig (1977) e a delimitação das classes etárias em Manduca (2008).

Quantitativa. — A variação morfológica quantitativa foi verificada a partir de 24 medidas (Figura 3) (Apêndice III). Destas, 21 são cranianas sendo: 10 na vista dorsal (Comprimento do Nasal (CN), Comprimento do Frontal (CF), Comprimento do Parietal (CP), Comprimento do Interparietal (CI), Comprimento Total do Crânio (CTC), Largura Rostral (LR), Largura da Constrição Interorbital (LCI), Largura do Arco Zigomático (LAZ), Largura Máxima do Crânio (LMC) e Largura do Interparietal (LI)); sete na vista ventral (Comprimento do Forâmen Incisivo (CFI), Comprimento da Ponte Palatal (CPP), Comprimento Máximo da Bula Timpânica (CMB), Comprimento da Série Molar Superior (SMS), Comprimento do Diastema (DIA), Largura Alveolar Externa (LAE) e Largura do Forâmen Incisivo (LFI)); e quatro na vista lateral (Altura Máxima do Crânio (AMC), Comprimento Rostral (CR), Comprimento Côndilo-Incisivo (CCI) e Largura da Placa Zigomática (LPZ)). As outras três medidas são mandibulares, sendo: duas delas na vista lateral (Altura Máxima da Mandíbula (AMM) e Comprimento Máximo da Mandíbula (CMM)); e uma na vista dorsal (Comprimento da Série Molar Inferior (SMI)). As medidas foram aferidas com um paquímetro digital de precisão 0,01 mm pelo mesmo medidor. Somente indivíduos adultos, com o terceiro molar completamente ou parcialmente erupcionado, foram analisados.

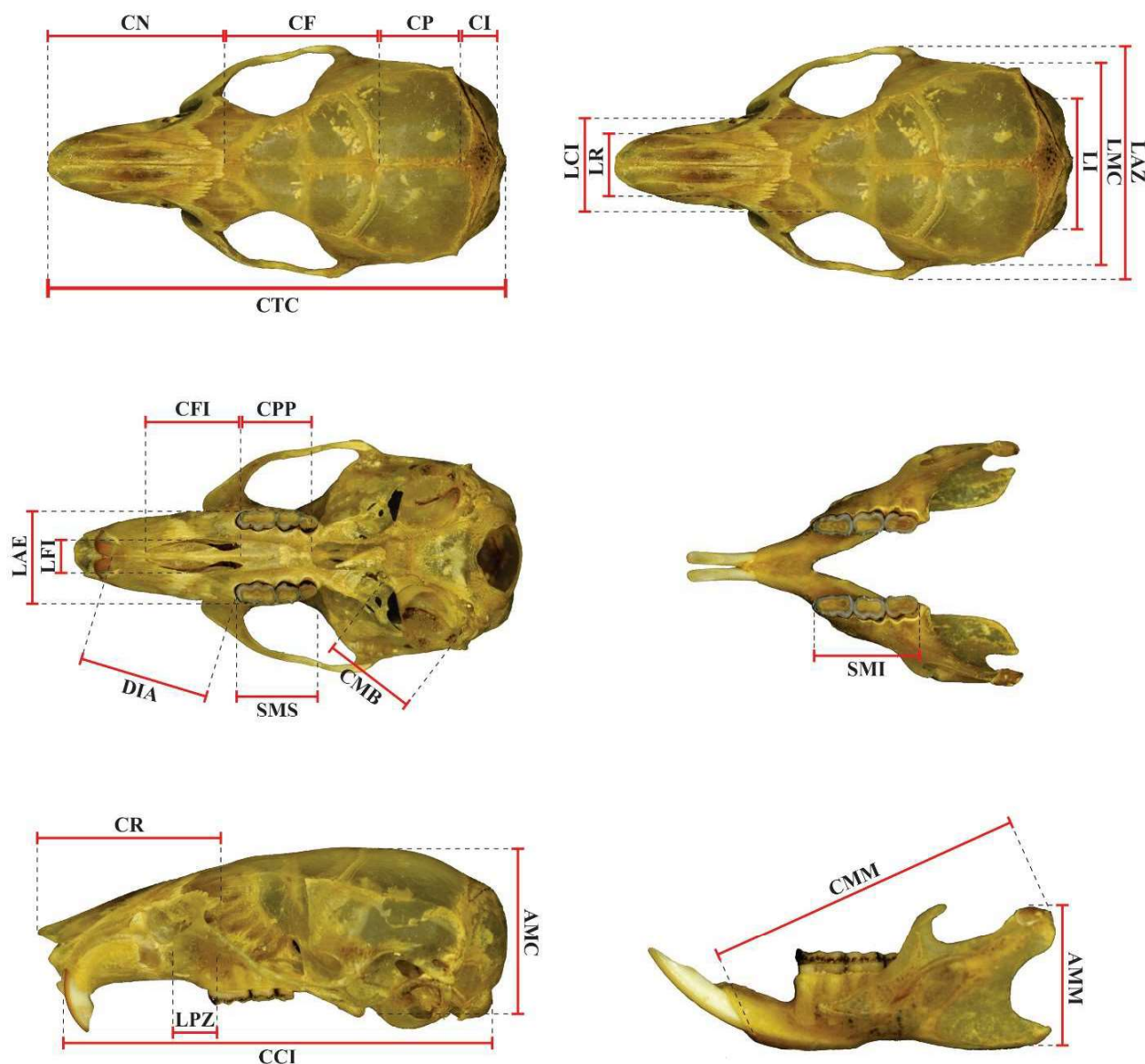


Figura 3: Medidas do crânio e da mandíbula de *Castoria angustidens*. As siglas estão descritas no texto.

Análises Intrapopulacionais: Variação Etária e Dimorfismo Sexual. – A partir das medidas crânio-mandibulares aferidas, foi testada a correspondência das seis classes etárias previamente definidas pela morfologia qualitativa dos 90 indivíduos da população do PESB. Em caso de sobreposição entre classes etárias, as mesmas foram unidas e outra verificação realizada. Dentre os 90 indivíduos desta população 54 eram machos, 31 fêmeas e cinco espécimes não foram sexadas. Somente os espécimes sexados (85) foram utilizados para as

análises da variação sexual de todos os indivíduos desta população. Além disso, foi testada a hipótese de dimorfismo sexual dentro de cada classe etária.

Análise Geográfica. – A variação geográfica ao longo da distribuição de *Castoria angustidens* foi avaliada a partir da morfologia crânio-mandibular de 190 indivíduos provenientes de 14 populações, sendo 100 machos, 59 fêmeas e 31 espécimes não sexados. A utilização dessa amostra foi condicionada aos resultados das análises intrapopulacionais do PESB. Caso detectada variação etária, apenas os indivíduos da idade mais abundante foram utilizados. Caso detectado dimorfismo sexual dentro da população, apenas o sexo mais abundante foi utilizado. Inicialmente foram analisadas todas as populações disponíveis. Posteriormente, estas populações foram agrupadas em três complexos serranos da Mata Atlântica: Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra Geral, buscando testar a hipótese de que esses complexos pudessem funcionar como unidades evolutivas distintas. Somente 21 medidas crânio-mandibulares foram utilizadas nessa avaliação com a exclusão das medidas CI e LI, pela ampla variação morfológica do osso interparietal.

Variação Interspecífica na Divisão Akodon. – Foram analisadas populações de *Castoria angustidens*, *Necromys lasiurus* e *Thaptomys nigrita* buscando comparar a morfologia das mesmas através de caracteres cranianos quantitativos. Compuseram as análises 190 espécimes de *Castoria angustidens*, 58 de *Thaptomys nigrita* e 26 de *Necromys lasiurus*, totalizando 274 indivíduos.

Análises Estatísticas Preliminares: verificação das medidas cranianas. – Buscando avaliar o erro do medidor e verificar a precisão das medidas aferidas foi realizado o Teste de Repetibilidade (Lessels & Boag 1987). Erros de digitalização e erros de medições foram detectados a partir da verificação da presença de *outliers* no software Minitab versão 17.1.0. A

análise linear de Correlação de Pearson foi utilizada na verificação do grau de correlação entre as medidas. A hipótese de normalidade dos dados foi verificada a partir da avaliação do QQ plot (*quantil-quantil plot*) (Atkinson 1985). Para crânios incompletos, foi realizada a estimativa de dados ausentes, a partir do algoritmo *Expectation-Maximization Bootstrap* (Dempster *et al.* 1977; Honaker *et al.* 2011; Clavel *et al.* 2013) utilizando o pacote AMELIA II (Honaker *et al.* 2011). Todos os testes descritos nessa seção, com exceção do teste de *outliers*, foram realizados no *software* RStudio versão 1.0.136 (Team 2016).

Análises Morfológicas Quantitativas. – Foi realizada a Estatística Descritiva das 24 medidas crânio-mandibulares a partir do pacote Rcmdr (Fox & Bouchet-Valat 2017), executado no RStudio versão 1.0.136 (Team 2016). Objetivando compreender os padrões gerais de variação do tamanho e da forma ao longo das amostras foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) a partir de uma matriz de variância-covariância dos dados log-transformados. No caso de correlação positiva, o primeiro componente principal (CP1) está relacionado a variação alométrica, enquanto o segundo (CP2) à variação da forma. A relação entre os vetores e os CPs apontará a influência de cada uma das medidas na variação do tamanho e da forma (Strauss 2010). Posteriormente, uma Análise Discriminante do tipo Canônica (AD) foi executada visando maximizar a separação entre os mesmos grupos testados na ACP. Buscando testar estatisticamente a diferenciação sexual, etária e a interação entre esses fatores, a Análise de Variância Multivariada (MANOVA) foi executada pressupondo normalidade, homocedasticidade e independência entre as variáveis dos dados base. Quando a MANOVA obteve resultados significantes, comparações par-a-par de *Hotelling* testaram a significância das variações entre as medidas dos grupos pré-determinados. Uma ANOVA de dois fatores (*two-way* ANOVA) também foi utilizada para testar a significância da variação das medidas em relação ao sexo, às classes etárias e à interação entre estes. Quando esta ANOVA foi significativa para classes etárias e/ou interação, uma ANOVA de um fator foi realizada para

verificar significância dentro dos grupos. Todas estas análises foram realizadas no software PAST versão 3.16 (Hammer *et al.* 2001).

Análises Moleculares

Dados Moleculares: Extração, amplificação e sequenciamento. — A extração de DNA foi realizada a partir do protocolo de proteinase-k/fenol/clorofórmio estabelecido por Sambrook e colaboradores (1989). Após a extração, a presença e qualidade do DNA obtido foram verificadas a partir do gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio. Para a caracterização haplotípica de *Castoria angustidens* e o estudo de suas relações com outros gêneros da Divisão *Akodon* foram selecionados três marcadores para amplificação: um mitocondrial, citocromo b (*cytb*), e dois nucleares, íntron 7 do beta fibrinogênio (*fgb*) e primeiro gene de ativação de recombinação (*ragI*). Esses genes foram amplificados nas reações em cadeia de polimerase (PCR) com ciclos de desnaturação a 94 °C, acoplamento dos *primers* variando entre 45 e 60 °C e polimerização da fita a 72 °C. Modificações nas proporções dos componentes da reação e nas temperaturas de acoplamento dos *primers* estão relacionados no Apêndice VI. Em todos os PCRs foram utilizados controle positivo e negativo.

A purificação e o sequenciamento das amostras foram realizados pela Macrogen Inc., Seoul, South Korea. As sequências obtidas e analisadas serão registradas e disponibilizadas no site do GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). O GenBank também foi utilizado como fonte de sequências dos genes selecionados para esse trabalho, incluindo sequências de grupos internos e externos para cada uma das análises (Apêndice VII).

Reconstruções Filogenéticas. — Os eletrofenogramas resultantes do sequenciamento foram editados no programa ChromasPro versão 2.0.0 (Technelysium Pty Ltd, Tewantin QLD, Australia, www.technelysium.com.au/ChromasPro.html). Após obtenção dos *contigs* entre as sequências geradas pelos *primers*, os alinhamentos das sequências foram realizados no

programa Mega versão 6 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) (Tamura *et al.* 2013), utilizando a ferramenta ClustalW sem modificação das configurações padrão. Com o alinhamento finalizado o melhor modelo de substituição nucleotídica foi determinado para os dados a partir dos valores de AICc (*Akaike Information Criteria corrected*). Esse modelo foi a base para a construção de uma matriz de distâncias, que por sua vez, embasou a construção das árvores filogenéticas.

No programa TCS versão 1.21 (Clement *et al.* 2000) foi construída uma rede de haplótipos de *Castoria angustidens*. Haplótipos idênticos foram excluídos das análises subsequentes. A variação genética de *C. angustidens* foi avaliada através das análises filogenéticas Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB) para os genes *cyt b* (mitocondrial), *rag1* (éxon) e *fgb* (íntron), separadamente. Posteriormente, foram realizadas análises concatenadas, uma análise de ML e outra de IB, baseadas na combinação dos dados de genes distintos. As análises filogenéticas de ML foram executadas no programa RAxML versão 8.0.0 (Stamatakis 2014) através da plataforma CIPRES (*Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research*, <http://www.phylo.org/>) empregando o modelo evolutivo GTRGAMMA e *bootstrap* com 1000 réplicas. As análises de Inferência Bayesiana foram executadas no programa Mr. Bayes versão 3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012). No total foram quatro cadeias simultâneas, três quentes e uma fria, melhorando a distribuição da amostragem de MCMC e a eficiência do algoritmo de busca da melhor árvore. Os modelos de substituição nucleotídica obtidos para cada alinhamento no Mega 6 foram utilizados para configurar os parâmetros da IB. A análise foi conduzida com duas corridas independentes e simultâneas das cadeias (duas cadeias por corrida), iniciando de árvores aleatórias distintas ao longo de, no mínimo, 1 milhão de gerações. Caso necessário, mais gerações foram adicionadas até que a média do desvio padrão de frequências se igualasse ou aproximasse de zero ($<0,01$), demonstrando assim que a amostragem das duas corridas atingiu distribuições similares. A cada 5.000 gerações, diagnósticos de MCMC foram gerados e, a cada 500 gerações, cadeias foram amostradas, sendo

que os primeiros 25% de árvores produzidas pelas cadeias foram descartados evitando que o resultado fosse influenciado pelo ponto inicial da cadeia. Ao final foi gerada uma árvore consenso a partir das árvores salvas na memória do programa durante a análise. As árvores geradas pelas análises foram enraizadas e editadas no programa FigTree versão 1.4.1 (Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, <http://tree.bio.ed.ac.uk/>). Foram considerados bem suportados os nós da IB com probabilidade posterior maior que 0,95, e os da ML com *bootstrap* maior que 70%.

RESULTADOS

Morfologia

Análises Qualitativas. — Classes Etárias. – A avaliação da morfologia da superfície oclusal dos molariformes de *Castoria angustidens* do PESB definiu seis classes etárias com as seguintes caracterizações:

Idade 1

M1: flexo anteromediano presente e invaginado podendo formar fosseta; muros anterior e posterior muito estreitos; praticamente não há exposição da dentina, sendo visualizada somente a camada de esmalte; protoflexo e hipoflexo presentes e transversais ao eixo do dente; paraflexo e metaflexo presentes em formato de “L” invertido; paralofulo presente; posteroestilo e posterolofos presentes fundidos ao metacone; e, as cúspides principais protocone, hipocone, paracone e metacone sem desgaste.

M2: anterolofos presentes; muros anterior e posterior estreitos; dentina não exposta; protoflexo e hipoflexo presentes perpendiculares ao eixo principal do dente; paraflexo e metaflexo em formato de “L” invertido; paralofulo presente; posteroestilo e posterolofos presentes fundidos ao metacone; principais cúspides, protocone, hipocone, paracone e metacone presentes e não desgastadas.

M3: molar não completamente erupcionado; apesar disso, algumas estruturas dentárias foram visualizadas como o paraflexo, hipoflexo, anterolofo, protocone, hipocone, paracone e metacone.

Espécimes pertencentes a idade 1: **MZUFV 2556**.

Idade 2

M1: anteroflexo mediano vestigial, deslocado ligeiramente para porção labial podendo ou não formar pequena fosseta; muros anterior e posterior pouco separados podendo ou não ocorrer exposição da dentina; protoflexo e hipoflexo presentes e transversais ao eixo do dente; paraflexo e metaflexo presentes em formato de “L” invertido; paralofulo reduzido; posteroestilo e posterolofo reduzidos; e as cúspides principais, protocone, hipocone, paracone e metacone, presentes e praticamente sem desgaste. Dois dos espécimes avaliados apresentaram enterostilo (MZUFV 2463, MZUFV 2552).

M2: anterolofo presente; muros anterior e posterior pouco separados podendo ou não ocorrer exposição da dentina; protoflexo e hipoflexo presentes e perpendiculares ao eixo principal do dente; paraflexo e metaflexo presentes em formato de “L” invertido; paralofulo vestigial; posteroestilo e posterolofo reduzidos; principais cúspides, protocone, hipocone, paracone e metacone, presentes e praticamente sem desgaste. Um dos espécimes avaliados apresentou enterostilo (MZUFV 2552).

M3: estruturas oclusais pouco desgastadas; formato do dente retangular com bordas arredondadas; paraflexo presente, formando fosseta resultante da união do paracone com o anterolofo; metaflexo presente formando fosseta resultante da união do metacone com paracone; hipoflexo reduzido ou vestigial; principais cúspides, protocone, hipocone, paracone e metacone, presentes e praticamente sem desgaste.

Espécimes pertencentes a idade 2: MZUFV 2058, MZUFV 2062, MZUFV 2070; MZUFV 2082, MZUFV 2463, MZUFV 2552, MZUFV 2553, **MZUFV 2568** e MZUFV 2571.

Idade 3

M1: sem evidências do anteroflexo mediano; muros anterior e posterior mais largos devido ao maior desgaste do dente e a exposição da dentina; protoflexo e hipoflexo pouco reduzidos, perpendiculares ao eixo principal do dente; paraflexo e metaflexo presentes em formato de “L” invertido, com porção longitudinal do flexo reduzida; paralofulo vestigial; posteroestilo e posterolofos reduzidos; principais cúspides presentes, protocone, hipocone, paracone e metacone, presentes e pouco desgastadas. Dois dos espécimes avaliados apresentaram enterostilo (MZUFV 510, MZUFV 1299).

M2: anterolofos desgastados; muros anterior e posterior mais largos devido ao maior desgaste do dente e a exposição da dentina; protoflexo reduzido ou vestigial podendo ou não formar uma fosseta resultante da união entre protocone e anterolofos; paraflexo vestigial ou reduzido em função da união entre anterolofos e paracone; hipoflexo pouco reduzido, perpendicular ao eixo principal do dente; metaflexo presente em formato de “L” invertido, com porção longitudinal do flexo reduzida; paralofulo vestigial; posteroestilo e posterolofos reduzidos; principais cúspides presentes, protocone, hipocone, paracone e metacone presentes e pouco desgastadas. Dois dos espécimes avaliados apresentaram enterostilo (MZUFV 510, MZUFV 1299).

M3: estruturas oclusais muito desgastadas; formato triangular com bordas arredondadas, podendo algumas vezes apresentar formato circular; protoflexo vestigial; paraflexo reduzido podendo ou não formar fosseta resultante da fusão entre anterolofos e paracone; metaflexo presente formando fosseta resultante da união do metacone com paracone; hipoflexo vestigial ou ausente; principais cúspides, protocone, hipocone, paracone e metacone, presentes, porém reduzidas.

Espécimes pertencentes a idade 3: **MZUFV 510**, MZUFV 520, MZUFV 1151, MZUFV 1154, MZUFV 1218, MZUFV 1249, MZUFV 1278, MZUFV 1281, MZUFV 1297, MZUFV 1299, MZUFV 2055, MZUFV 2567.

Idade 4

M1: muros anterior e posterior mais largos do que a classe etária anterior, devido ao maior desgaste do dente e a maior exposição da dentina; protoflexo e hipoflexo reduzidos, perpendiculares ao eixo principal do dente; paraflexo e metaflexo presentes em formato de “L” invertido, com porção longitudinal do flexo reduzida no mínimo pela metade; paralofulo vestigial ou ausente; posteroestilo e posterolofos reduzidos; cúspides labiais, paracone e metacone, pouco mais desgastadas em relação às cúspides linguais, protocone e hipocone. Dois dos espécimes avaliados apresentaram enterostilo (MZUFV 1648, MZUFV 1988).

M2: anterolofos e muro anterior ausentes devido ao desgaste do esmalte; muro posterior mais largo em comparação aos muros da classe etária anterior; protoflexo vestigial ou ausente; paraflexo vestigial ou ausente; hipoflexo reduzido, perpendicular ao eixo principal do dente; metaflexo reduzido, praticamente perpendicular ao eixo principal do dente; paralofulo vestigial ou ausente; posteroestilo e posterolofos vestigiais; cúspides labiais, paracone e metacone, pouco mais desgastadas em relação às cúspides linguais, protocone e hipocone.

M3: formato triangular com bordas arredondadas, podendo algumas vezes apresentar formato circular; estruturas oclusais muito desgastadas impossibilitando a visualização de flexus e lofos; paracone, protocone e metacone presentes apesar do elevado grau de desgaste.

Espécimes pertencentes a idade 4: **MZUFV 551**, MZUFV 616, MZUFV 704, MZUFV 1150, MZUFV 1155, MZUFV 1213, MZUFV 1251, MZUFV 1279, MZUFV 1286, MZUFV 1293, MZUFV 1294, MZUFV 1296, MZUFV 1626, MZUFV 1628, MZUFV 1631, MZUFV 1634, MZUFV 1637, MZUFV 1639, MZUFV 1641, MZUFV 1642, MZUFV 1643, MZUFV 1646, MZUFV 1648, MZUFV 1651, MZUFV 1987, MZUFV 1988, MZUFV 2059, MZUFV 2063, MZUFV 2064.

Idade 5

M1: muros anterior e posterior muito largos devido ao elevado grau de desgaste do esmalte e,

portanto, maior exposição da dentina; protoflexo e hipoflexo muito reduzidos; paraflexo e metaflexo muito reduzidos ou vestigiais; paralofulo vestigial ou ausente; posteroestilo e posterolofos vestigiais ou ausentes; cúspides labiais, paracone e metacone, mais desgastadas (praticamente vestigiais) em relação às cúspides linguais, protocone e hipocone. Três dos espécimes avaliados apresentaram enterostilo (MZUFV 541, MZUFV 638, MZUFV 1148).

M2: muros anterior e posterior muito largos devido ao elevado grau de desgaste do esmalte e, portanto, maior exposição da dentina; posteroestilo e posterolofos ausentes; protoflexo e paraflexo ausentes devido ao desgaste; hipoflexo muito reduzidos; metaflexo vestigial ou ausente; cúspides labiais, paracone e metacone, mais desgastadas (praticamente vestigiais) em relação às cúspides linguais, protocone e hipocone.

M3: formato triangular com bordas arredondadas, podendo algumas vezes apresentar formato circular; estruturas oclusais muito desgastadas impossibilitando a visualização de flexus e lofos; paracone, protocone e metacone presentes apesar do elevado grau de desgaste.

Espécimes pertencentes a idade 5: MZUFV 541, MZUFV 638, MZUFV 1148, **MZUFV 1215**, MZUFV 1254, MZUFV 1266, MZUFV 1287, MZUFV 1295, MZUFV 1298, MZUFV 1300, MZUFV 1627, MZUFV 1633, MZUFV 1645, MZUFV 1650, MZUFV 1654, MZUFV 1986, MZUFV 2043, MZUFV 2060, MZUFV 2409, MZUFV 2462, MZUFV 2565.

Idade 6

M1: superfície oclusal muito desgastada e esmalte apenas nas extremidades da porção lingual; muros anterior e posterior ausentes; protoflexo vestigial; hipoflexo vestigial ou ausente; paraflexo e metaflexo ausentes. Um dos espécimes avaliados apresentou enterostilo (MZUFV 1280).

M2: grau máximo de desgaste oclusal com esmalte apenas nas extremidades da porção lingual; muros anterior e posterior ausentes; protoflexo e paraflexo ausentes devido ao desgaste; hipoflexo vestigial ou ausente; metaflexo vestigial ou ausente; cúspides labiais, paracone e

metacone, mais desgastadas (praticamente vestigiais) em relação às cúspides linguais, protocone e hipocone. Um dos espécimes avaliados apresentou enterostilo (MZUFV 1280).

M3: formato triangular com bordas arredondadas, podendo algumas vezes apresentar formato circular; estruturas oclusais muito desgastadas impossibilitando a visualização de flexus e lofos; paracone, protocone e metacone presentes apesar do elevado grau de desgaste.

Espécimes pertencentes a idade 6: MZUFV 1153, MZUFV 1172, MZUFV 1231, MZUFV 1252, MZUFV 1267, MZUFV 1280, MZUFV 1640, MZUFV 1644, MZUFV 1656, MZUFV 1984, MZUFV 1985, **MZUFV 2057**, MZUFV 2375, MZUFV 2451, MZUFV 2454, MZUFV 2461, MZUFV 2554, MZUFV 2570.

De forma geral, os molariformes, com exceção do M3, apresentam formato retangular, com a porção labial dos cíngulos em formato retilíneo, enquanto a porção lingual dos cíngulos é arredondada. O procíngulo (M1) é arredondado na porção anterior e pouco achatado antero-posteriormente. As principais cúspides, hipocone, metacone, paracone e protocone, são praticamente paralelas. A série molar superior é inclinada no sentido labial e essa inclinação é progressiva aumentando do M1 para o M3. Em todas as classes etárias o M1 é maior que o M2 que, por sua vez, é maior que o M3 (Figura 4).

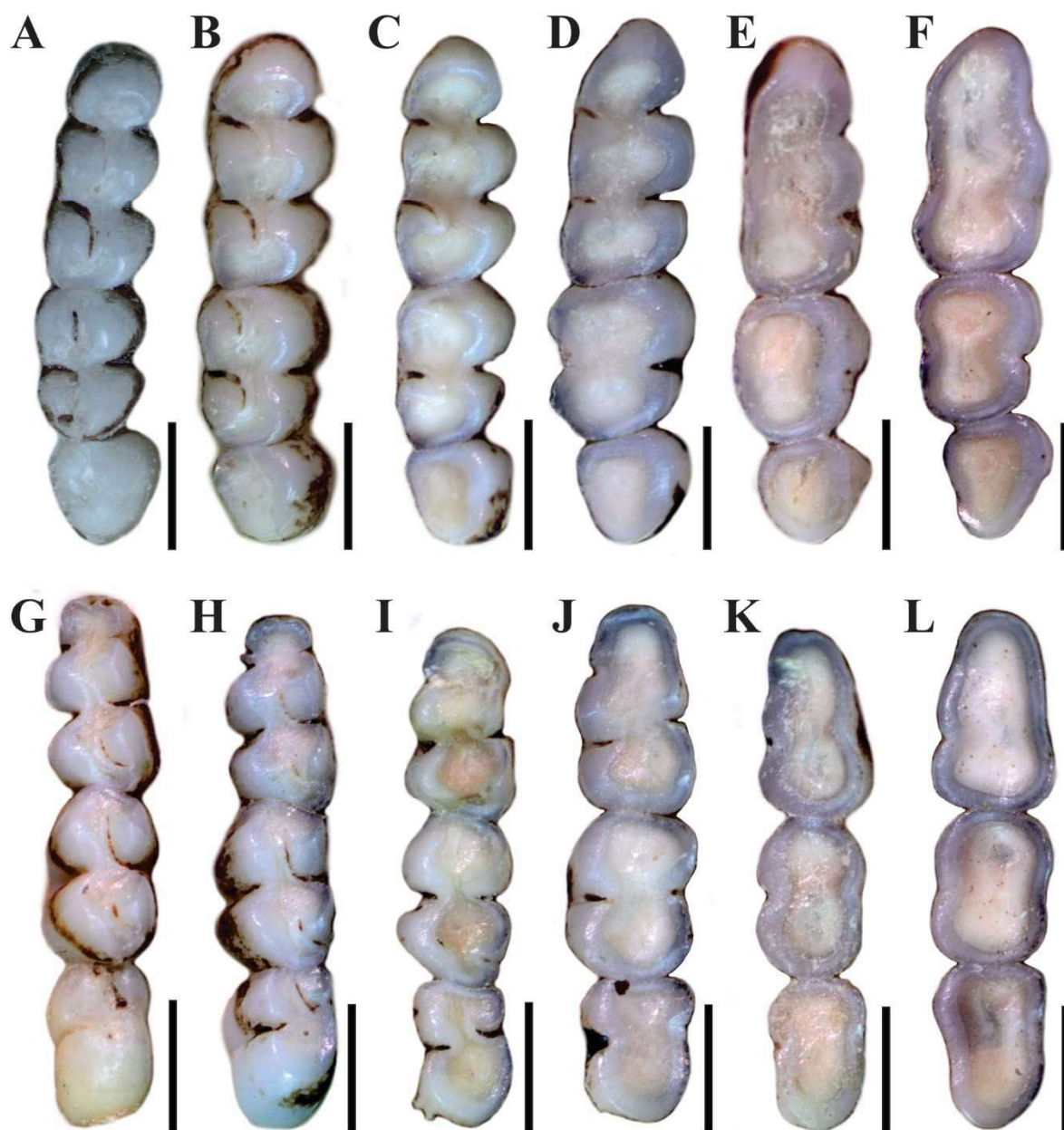


Figura 4: Classes etárias de *Castoria angustidens* pertencentes a população do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro com base na morfologia dos molares. Seis classes etárias (1 a 6) da esquerda para a direita. De A a F estão as séries molares superiores, e de G a L as séries molares inferiores. De cima para baixo estão os molares: M1, M2 e M3. À esquerda está a porção labial do dente. Da esquerda para a direita: MZUFV 2556, MZUFV 2058, MZUFV 1278, MZUFV 1213, MZUFV 1215 e MZUFV 1172. Escala = 1 mm.

Análises Quantitativas Preliminares. — As análises preliminares não apontaram problemas com a repetibilidade das medidas. Os *outliers* foram verificados, corrigidos nos casos de erro ou então excluídos das análises. Os dados apresentam distribuição normal e os resultados do teste de correlação colinear de Pearson levaram a exclusão da medida CTC ($r >$

0,85) (Apêndice V).

A população de Castoria angustidens do PESB. — Variação Etária. — A análise da variação qualitativa com base nos caracteres dentários dos indivíduos de *Castoria angustidens* do PESB indicou seis classes etárias (CEs), com um indivíduo pertencente à classe etária 1, nove indivíduos na 2, 12 indivíduos na 3, 29 na 4, 21 na 5 e, por fim, 18 na 6, totalizando 90 espécimes. A CE1 não foi utilizada nas análises qualitativas por possuir um exemplar. Ao testar a validade das CEs determinadas pela morfologia qualitativa com base nas medidas cranianas, as medidas CI e LI foram removidas (ACP e AD) devido ampla variação do interparietal apresentada em análises prévias. Os resultados apontaram dados controversos para as idades 2 e 3, com sobreposição de todas as médias ao considerarmos o desvio-padrão. Tanto a ACP quanto a AVC também apontaram grande sobreposição dessas CEs. Dessa maneira, para as análises subsequentes, as idades 2 e 3 foram unidas, constituindo uma única CE denominada de agora em diante idade 2/3. Portanto, a variação etária foi reavaliada a partir das idades 2/3, 4, 5 e 6.

A análise descritiva das cinco classes etárias apontou para o alargamento e alongamento anteroposterior do crânio, além do crescimento no eixo vertical (altura) ao longo do desenvolvimento etário de *Castoria angustidens*. Doze das 24 medidas contribuíram para tais alterações, incluindo nove medidas de ossos da face do crânio (viscerocrânio) (CN, DIA, CR, CTC, CCI, LAE, LR, LAZ e LPZ), uma da caixa craniana (neurocrânio) (AMC), e duas mandibulares (AMM e CMM). O alongamento no eixo longitudinal do crânio foi observado no nasal, diastema, rostro, placa zigomática e acompanhado pela mandíbula (CN, DIA, CR, LPZ e CMM), observado da mesma maneira nas medidas CTC e CCI. Por outro lado, as medidas LR, LAZ e LAE indicaram o alargamento do rostro, do arco zigomático e de toda a região entre as séries molares superiores (palatino + molares). Alterações na altura do crânio foram constatadas na AMC, sendo esta, acompanhada pelo aumento da altura da mandíbula (AMM). As medidas CPP, CMB, LFI, SMS e SMI não apresentaram variações nas diferentes CEs.

Algumas medidas exibiram crescimento somente até a idade 4 (CF, CFI), e outras somente até a idade 5 (CP, LCI e LMC). As medidas do interparietal (CI e LI) aumentaram até a idade 4 e diminuíram nas classes etárias subsequentes (Tabela 1) (Apêndice IV).

Ao testar a variância multivariada (MANOVA) foi possível detectar diferença entre as médias das classes etárias ($f=2,543$; $p=4,63E-07$). As comparações par-a-par (*post hoc*) demonstraram que com a combinação das médias em uma abordagem multivariada foi possível diferenciar a idade 2/3 da idade 5, a 2/3 da 6, e a 4 da 6. Ao analisar as medidas separadamente através da ANOVA, foram detectadas 13 medidas com diferenças significativas entre as classes etárias: CN ($f=5,749$; $p=0,001$), LAZ ($f=15,010$; $p=8,02E-08$), CF ($f=2,863$; $p=0,042$), LI ($f=3,537$; $p=0,018$), LAE ($f=41,6$; $p=3,13E-16$), CFI ($f=3,817$; $p=0,013$), DIA ($f=14,36$; $p=1,48E-07$), LR ($f=5,867$; $p=0,001$), CR ($f=9,504$; $p=1,97E-05$), CCI ($f=9,83$; $p=1,39E-05$), LPZ ($f=3,114$; $p=0,031$), CMM ($f=10,6$; $p=6,20E-06$) e AMM ($f=13,35$; $p=3,94E-07$) (Tabela 2). Esse resultado concordou com as tendências apresentadas pela estatística descritiva. As únicas medidas que apresentaram tendências de crescimento, porém sem significância, foram AMC e CTC, sendo que a última não foi testada devido ao seu alto grau de correlação com as outras medidas. O teste de *Tukey* realizado para cada uma das medidas com variações significativas para as médias, demonstrou que, as medidas com maior potencial de diferenciação etária na espécie são LAE e DIA. A LAE diferenciou indivíduos de qualquer uma das classes etárias, enquanto o DIA só não diferenciou as idades 4 da 5. Além disso, as idades 2/3 e 6 foram as mais passíveis de distinção sendo diferenciadas por praticamente todas as medidas, com exceção de LI. Portanto, tanto a largura do palato quanto a da série molar superior estão diretamente relacionadas à variação etária dos indivíduos dessa população de *Castoria angustidens*. Esses dados indicam a ocorrência de uma expansão látero-lateral contínua dessas porções do crânio e a presença de alterações significativas na variação ontogenética dessa população associadas principalmente ao alongamento e alargamento do viscerocrânio.

Ao avaliar a disposição desses dados no espaço multivariado através da ACP, foram ob-

Tabela 1: Estatística descritiva das cinco classes etárias da população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada nas 24 medidas crânio-mandibulares.

Medidas	Idade 1 n = 1 (♂)	Idade 2/3 n = 21 (11♂, 9♀, 1?)	Idade 4 n = 29 (17♂, 10♀, 2?)	Idade 5 n = 21 (13♂, 8♀)	Idade 6 n = 18 (12♂, 4♀, 2?)	p-valor
CN	9,83	11,22 ± 0,56 (1)	11,53 ± 0,55 (1)	11,70 ± 0,58 (1)	12,09 ± 0,47 (3)	**
CF	7,85	8,69 ± 0,38	8,84 ± 0,43	8,84 ± 0,43	9,10 ± 0,45	*
CP	5,89	5,86 ± 0,35	5,73 ± 0,35	5,86 ± 0,51	5,87 ± 0,40	ns
CI	2,20	2,08 ± 0,34	2,24 ± 0,29	2,01 ± 0,40	2,06 ± 0,42	ns
CTC	25,59	27,75 ± 0,93 (2)	28,29 ± 0,72 (2)	28,50 ± 0,83 (1)	29,23 ± 0,43 (3)	x
LR	3,88	3,68 ± 0,15 (1)	3,71 ± 0,17 (2)	3,78 ± 0,17	3,88 ± 0,21	**
LCI	5,47	5,54 ± 0,16	5,59 ± 0,18	5,64 ± 0,17	5,65 ± 0,17	ns
LAZ	12,87	14,23 ± 0,45 (2)	14,58 ± 0,35 (2)	14,85 ± 0,38	15,03 ± 0,28	**
LMC	12,18	12,71 ± 0,26 (1)	12,78 ± 0,34	12,83 ± 0,29	12,81 ± 0,22	ns
LI	6,60	7,55 ± 0,72	7,71 ± 0,54	7,10 ± 0,76	7,61 ± 0,55	*
CFI	5,21	5,91 ± 0,28	6,18 ± 0,33	6,16 ± 0,43	6,31 ± 0,26	*
CPP	3,73	4,27 ± 0,23	4,30 ± 0,17	4,18 ± 0,17	4,33 ± 0,27	ns
CMB	5,45	6,17 ± 0,34 (1)	6,20 ± 0,18 (2)	6,15 ± 0,37	6,24 ± 0,42 (1)	ns
SMS	5,17	5,10 ± 0,15	5,11 ± 0,12	5,06 ± 0,14	5,20 ± 0,21	ns
DIA	6,45	7,35 ± 0,34	7,67 ± 0,29	7,78 ± 0,38	8,09 ± 0,21	**
LAE	5,14	5,55 ± 0,19	5,75 ± 0,14	5,94 ± 0,21	6,16 ± 0,16	**
LFI	2,17	2,32 ± 0,11	2,34 ± 0,11	2,35 ± 0,09	2,34 ± 0,10	ns
AMC	8,61	9,35 ± 0,28 (1)	9,39 ± 0,34	9,42 ± 0,31	9,56 ± 0,33 (1)	ns
CR	10,01	11,33 ± 0,60 (1)	11,76 ± 0,46 (1)	11,93 ± 0,44 (1)	12,22 ± 0,38 (3)	**
CCI	22,38	25,95 ± 0,94 (1)	26,74 ± 0,60 (2)	26,86 ± 0,96	27,30 ± 0,72	**
LPZ	2,48	2,73 ± 0,21	2,81 ± 0,16	2,83 ± 0,23	2,95 ± 0,18	*
AMM	5,01	6,19 ± 0,67 (2)	6,37 ± 0,27 (1)	6,44 ± 0,26 (1)	6,79 ± 0,31 (1)	**
CMM	12,47	13,64 ± 0,48 (1)	13,90 ± 0,39	14,06 ± 0,46	14,51 ± 0,35	**
SMI	5,35	5,18 ± 0,17 (1)	5,20 ± 0,15	5,19 ± 0,17	5,25 ± 0,22	ns

Entre parênteses está o número de medidas ausentes (n = número de indivíduos por classe etária, ♂ = machos por classe etária, ♀ = fêmeas por classe etária, “?” = indivíduos não sexados por classe etária). Na idade 1 foram dispostas as medidas do único indivíduo encontrado. Na última coluna estão os níveis de significância da ANOVA de dois fatores ao testar a variação ontogenética (ns = valores de probabilidade não significativos, com p-valor > 0,05; x = valor não inserido na análise; * = valores de probabilidade significativos, com p-valor < 0,05; ** = valores de probabilidade significativos, com p-valor < 0,01).

Tabela 2: Potencial de diferenciação entre as classes etárias a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste *post hoc* de Tukey.

Combinações de Classes Etárias		Medidas												
		CN	LAZ	CF	LI	LAE	CFI	DIA	LR	CR	CCI	LPZ	CMM	AMM
2/3	4		x			x		x		x	x			
2/3	5		x			x		x		x	x		x	x
2/3	6	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x
4	5				x	x								
4	6		x			x		x	x				x	x
5	6					x		x					x	x

“x” corresponde as medidas crânio-mandibulares capazes de diferenciar significativamente indivíduos entre cada combinação de classes etárias.

servadas diferenças entre as classes etárias, porém com grande sobreposição. Os dois primeiros componentes principais (CPs) representaram mais de 50% da variação total dos dados, sendo o CP1 responsável por 38,5% da variação e o CP2 por 12,3%. Apesar da sobreposição e não diferenciação aparente das classes etárias, foi detectado na ACP uma tendência de aumento do tamanho dos espécimes com o avanço da idade da população (Figura 5A). De acordo com os *loadings* de cada CP, esse resultado foi influenciado principalmente pelas medidas CN, CFI, DIA, LAE, CR, CCI, LPZ, AMM e CMM, todas variando diretamente proporcionais ao tamanho. Essas medidas haviam apresentado anteriormente propensão de aumento concomitante ao tamanho tanto na estatística descritiva quanto na ANOVA.

A análise discriminante separou as idades 2/3, 4, 5 e 6 com pouca sobreposição. O primeiro componente da análise discriminante (VC1) foi responsável por 76,1% dessa variação, e o VC2 por 15,0%, representando mais de 90% da variação total (Figura 5B). A partir de VC1 foi possível separar todas as classes etárias, sendo as medidas CN, CR, DIA, LPZ, LR, LAZ, LAE, AMM e CMM as mais influentes na variação ao longo do desenvolvimento etário da espécie. Esse resultado corroborou tanto com a tendência apontada pela estatística descritiva quanto com os resultados da ANOVA e da ACP, com exceção das medidas CTC (não utilizada nessas análises) e AMC. O segundo componente da análise discriminante separou a idade 2/3 da 5, e a idade 5 da 6. Como a variação desse eixo tem sido relacionada ao estudo da forma,

essa diferenciação está relacionada ao estudo da forma do osso palatino (CPP) e da série molar (SMS). A matriz de confusão com *jackknife* apontou as cinco classes etárias como um modelo capaz de diferenciar a variação ontogenética dos indivíduos dessa população em 53,41% dos casos. Dessa maneira, corrobora-se a hipótese de que, a partir de variações morfológicas quantitativas, é possível detectar a classe etária de adultos de *Castoria angustidens* na população do PESB.

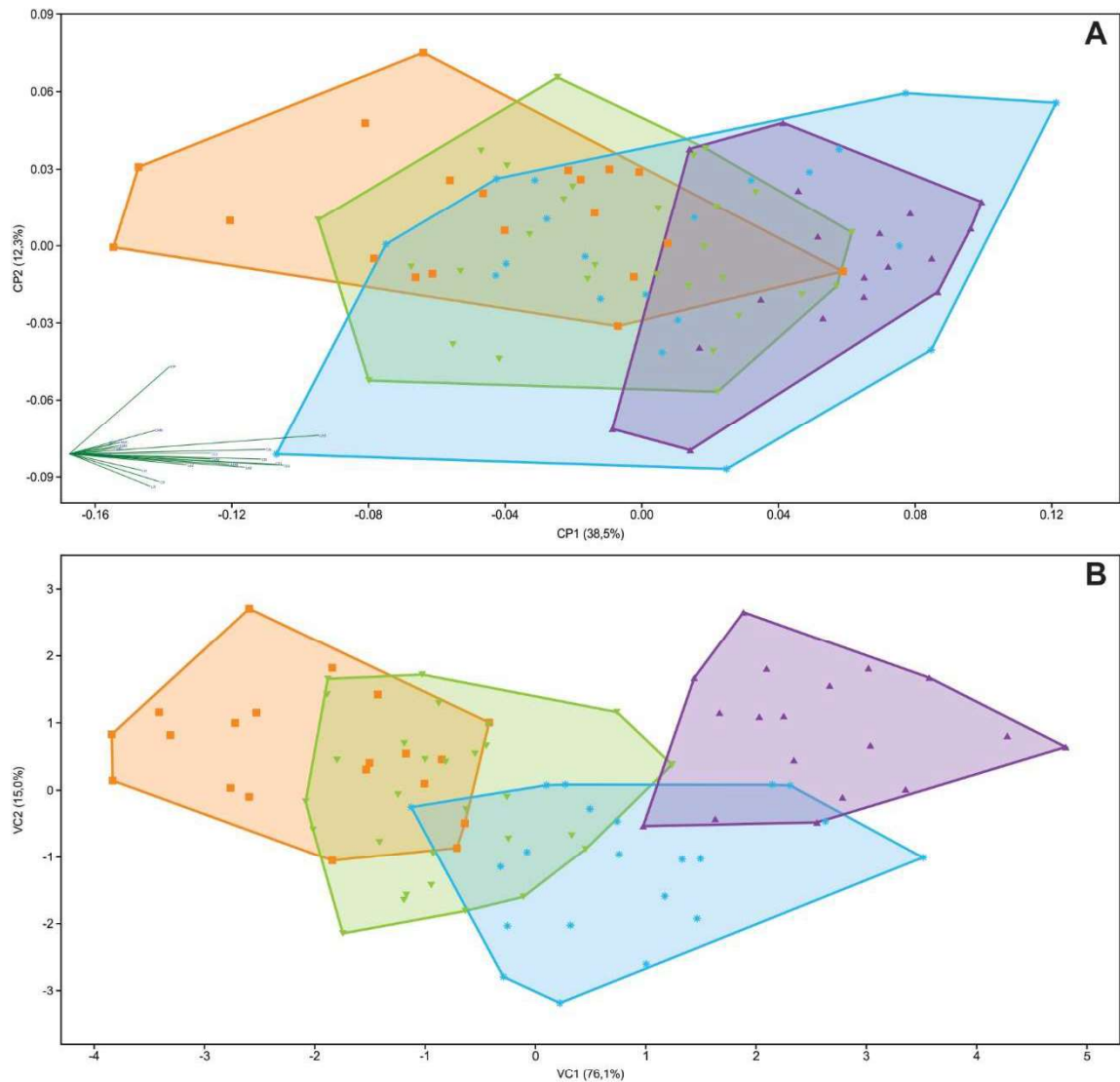


Figura 5: Variação ontogenética da população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação das idades. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica apontando o nível de separação entre as classes etárias: idade 2/3 (quadrado alaranjado), idade 4 (triângulo invertido verde), idade 5 (círculo azul claro), e idade 6 (triângulo roxo).

Dimorfismo sexual. – Os valores da estatística descritiva apontaram sobreposição das medidas ao comparar machos e fêmeas. Para a metade das medidas aferidas (CN, CI, LAZ, LI, CFI, CPP, LAE, LFI, AMC, CR, AMM e CMM), os valores máximos e mínimos das fêmeas estavam contidos dentro da amplitude de variação dos valores dos machos. O oposto ocorreu apenas para LCI. Para as outras nove medidas (CF, CP, CTC, LR, LMC, CMB, SMS, DIA, CCI e LPZ), foi observada sobreposição parcial entre os sexos, sendo a amplitude dos valores dos machos menor do que a das fêmeas. A sobreposição ocorreu de forma oposta para LR e SMI, com a amplitude de variação das fêmeas menor em relação a dos machos. A amplitude dos valores das medidas das fêmeas foi inferior à dos machos na maioria das medidas, com exceção do CF, LCI, LMC, SMS e LPZ, sendo as duas últimas praticamente iguais para ambos os sexos (Tabela 3).

O resultado da MANOVA não detectou dimorfismo sexual ($f=1,663$; $p=0,060$). Entretanto, quando as medidas foram avaliadas através da ANOVA de dois fatores, as médias de LR ($f=6,213$; $p=0,015$), LI ($f=4,066$; $p=0,047$) e AMM ($f= 4,146$; $p=0,045$) foram significativamente distintas para machos e fêmeas, sendo machos maiores que fêmeas para LR e AMM, e fêmeas maiores que machos para LI.

Apesar dessas diferenças, há sobreposição entre machos e fêmeas. Os resultados observados no espaço multivariado indicaram que mais de 60% da variação macho/fêmea está concentrada nos dois primeiros componentes principais, sendo o primeiro responsável por 38,5% da variação (CP1) e o segundo por 22,8% (CP2) (Figura 6A), corroborando com os dados descritos anteriormente. Todas as variações detectadas nas fêmeas, com exceção dos espécimes MZUFV 1148, MZUFV 1251 e MZUFV 2409, estão contidas dentro da amplitude da variação dos machos. Dentre os *loadings* dos componentes principais, somente sete apresentaram correlação positiva com o CP1, destacando as medidas do osso interparietal, CI e LI, com os maiores valores ($CI=0,972$; $LI=0,199$) (Figura 6B). Tratando-se do CP2, as correlações foram positivas para todas as medidas (Figura 6C). Apesar disso, o intervalo de confiança para os

coeficientes de todas as medidas do CP1 e CP2 foram muito amplos (Figura 6B e 6C).

Tabela 3: Estatística Descritiva entre os sexos de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro de acordo com as 24 medidas crânio-mandibulares.

Medidas	Machos (n= 54)	Fêmeas (n= 31)	p-valor	Total (n= 90)
CN	11,60 ± 0,69 (3)	11,55 ± 0,51 (2)	ns	11,57 ± 0,59
CF	8,78 ± 0,43	8,90 ± 0,48	ns	8,84 ± 0,45
CP	5,81 ± 0,41	5,85 ± 0,38	ns	5,82 ± 0,40
CI	2,16 ± 0,40	2,06 ± 0,30	ns	2,11 ± 0,36
CTC	28,42 ± 0,98 (4)	28,22 ± 0,88 (3)	x	28,36 ± 0,94
LR	3,79 ± 0,18 (2)	3,70 ± 0,19 (1)	*	3,76 ± 0,18
LCI	5,61 ± 0,16	5,60 ± 0,20	ns	5,60 ± 0,17
LAZ	14,63 ± 0,52 (2)	14,63 ± 0,47 (2)	ns	14,64 ± 0,50
LMC	12,77 ± 0,29 (1)	12,75 ± 0,30	ns	12,78 ± 0,29
LI	7,36 ± 0,69	7,65 ± 0,64	*	7,50 ± 0,68
CFI	6,14 ± 0,40	6,11 ± 0,32	ns	6,13 ± 0,37
CPP	4,28 ± 0,22	4,22 ± 0,20	ns	4,27 ± 0,22
CMB	6,18 ± 0,33 (2)	6,22 ± 0,31 (2)	ns	6,18 ± 0,33
SMS	5,12 ± 0,15	5,11 ± 0,16	ns	5,12 ± 0,16
DIA	7,70 ± 0,44	7,67 ± 0,38	ns	7,69 ± 0,42
LAE	5,84 ± 0,30	5,80 ± 0,28	ns	5,83 ± 0,28
LFI	2,35 ± 0,11	2,32 ± 0,08	ns	2,33 ± 0,10
AMC	9,42 ± 0,35 (2)	9,38 ± 0,31	ns	9,41 ± 0,33
CR	11,78 ± 0,60 (3)	11,72 ± 0,55 (2)	ns	11,76 ± 0,59
CCI	26,66 ± 1,04 (2)	26,64 ± 1,03 (1)	ns	26,65 ± 1,02
LPZ	2,83 ± 0,21	2,80 ± 0,21	ns	2,82 ± 0,21
AMM	6,45 ± 0,41 (3)	6,34 ± 0,26 (2)	*	6,41 ± 0,37
CMM	14,00 ± 0,58	13,92 ± 0,42 (1)	ns	13,99 ± 0,53
SMI	5,22 ± 0,17	5,20 ± 0,19 (1)	ns	5,21 ± 0,17

Valores das médias e desvio-padrão das medidas para cada um dos sexos, com número de medidas ausentes entre parênteses. Nível de significância da ANOVA de dois fatores no teste de dimorfismo sexual (ns = valores de probabilidade não significativos, com p-valor > 0,05; x = valor não incluído na análise; * = valores de probabilidade significativos, com p-valor < 0,05).

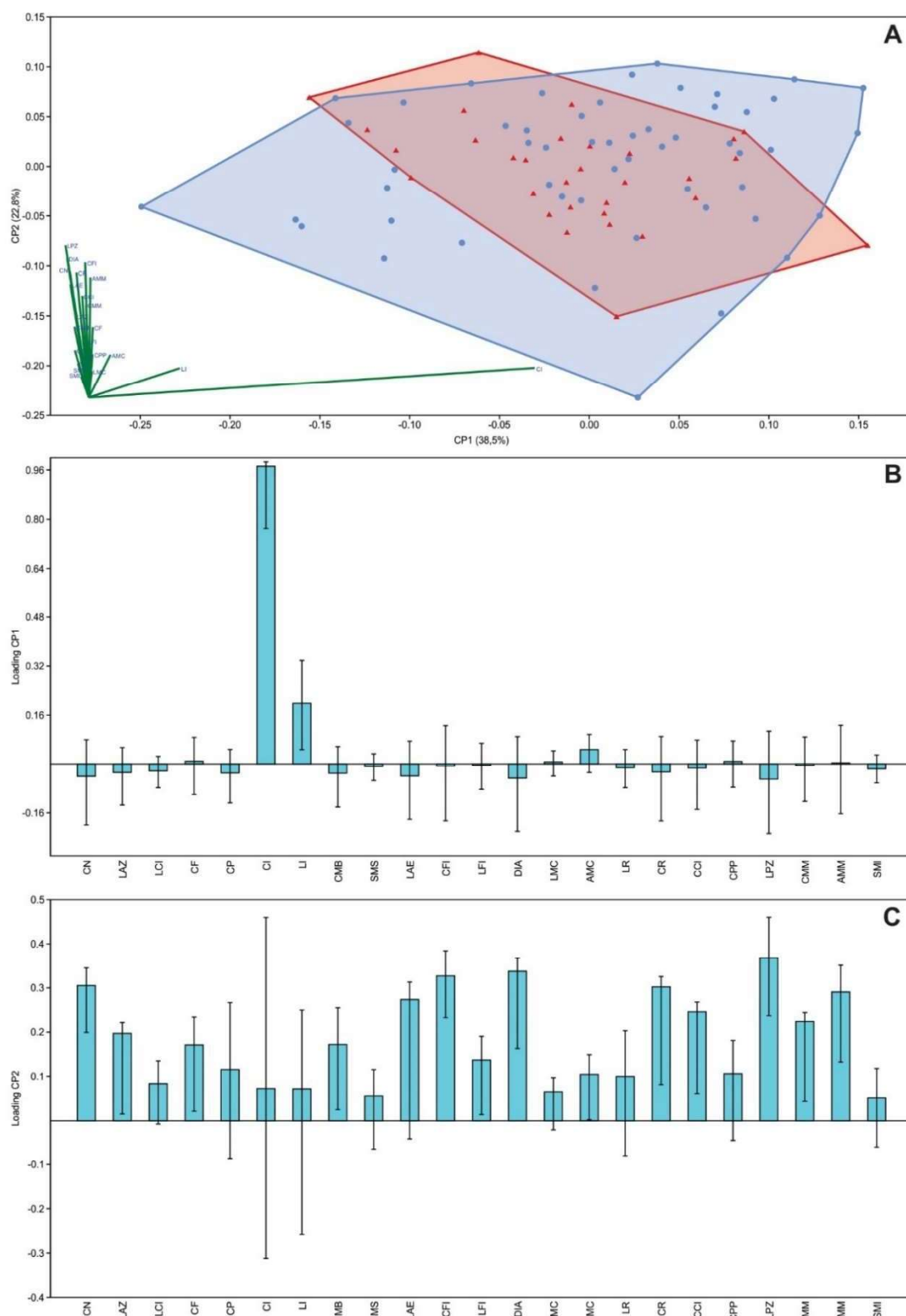


Figura 6: Dimorfismo sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 23 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representadas pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação entre os sexos: fêmeas (triângulos rosas) e machos (círculos azuis). Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. Entre parênteses está a porcentagem de variação de cada eixo. (B e C) *Loadings* de cada uma das medidas referentes ao CP1 (B) e CP2 (C), e intervalo de confiança gerado a partir do *bootstrap* (10.000).

As medidas CI e LI apresentaram elevados *loadings* para o CP1 e, apesar do mesmo não ocorrer no CP2, o intervalo de confiança desses coeficientes foi muito amplo. Portanto, essas medidas acabaram ocultando e dificultando a visualização da relação entre as outras variáveis. Para melhor entender estas relações, outra análise de componentes principais foi realizada excluindo essas medidas do osso interparietal. Nessa análise, os dois primeiros componentes representaram 54,1% de toda variação (CP1=42,7%, CP2=11,4%). Os machos e fêmeas continuaram sobrepostos apontando para ausência de dimorfismo sexual na população (Figura 7A). Todas as medidas apresentaram correlação positiva com o primeiro componente relacionado ao tamanho, denotando menor intervalo de confiança comparado a análise anterior (Figura 7B). Ao avaliar o CP2, a maioria das medidas foi negativa, variando na direção inversa ao eixo desse componente (LAZ, LCI, CF, LAE, CFI, LFI, DIA, LMC, LR, CR, CCI, CMM e AMM) (Figura 7C).

A análise discriminante ratificou o resultado apontado pela ACP apresentando sobreposição entre machos e fêmeas, sendo o dimorfismo sexual pouco representativo dentro da população, representando 44,6% da variação. A matriz de confusão com *jackknife* apontou o dimorfismo sexual como um modelo capaz de prever corretamente o sexo de um indivíduo dessa população apenas em 55,95% dos casos. Corroborou-se portanto, a hipótese de que, o dimorfismo sexual é ausente em *Castoria angustidens* na população do PESB, indicando semelhança morfológica craniana e mandibular entre os sexos de acordo com as medidas utilizadas nesse trabalho (Figura 8).

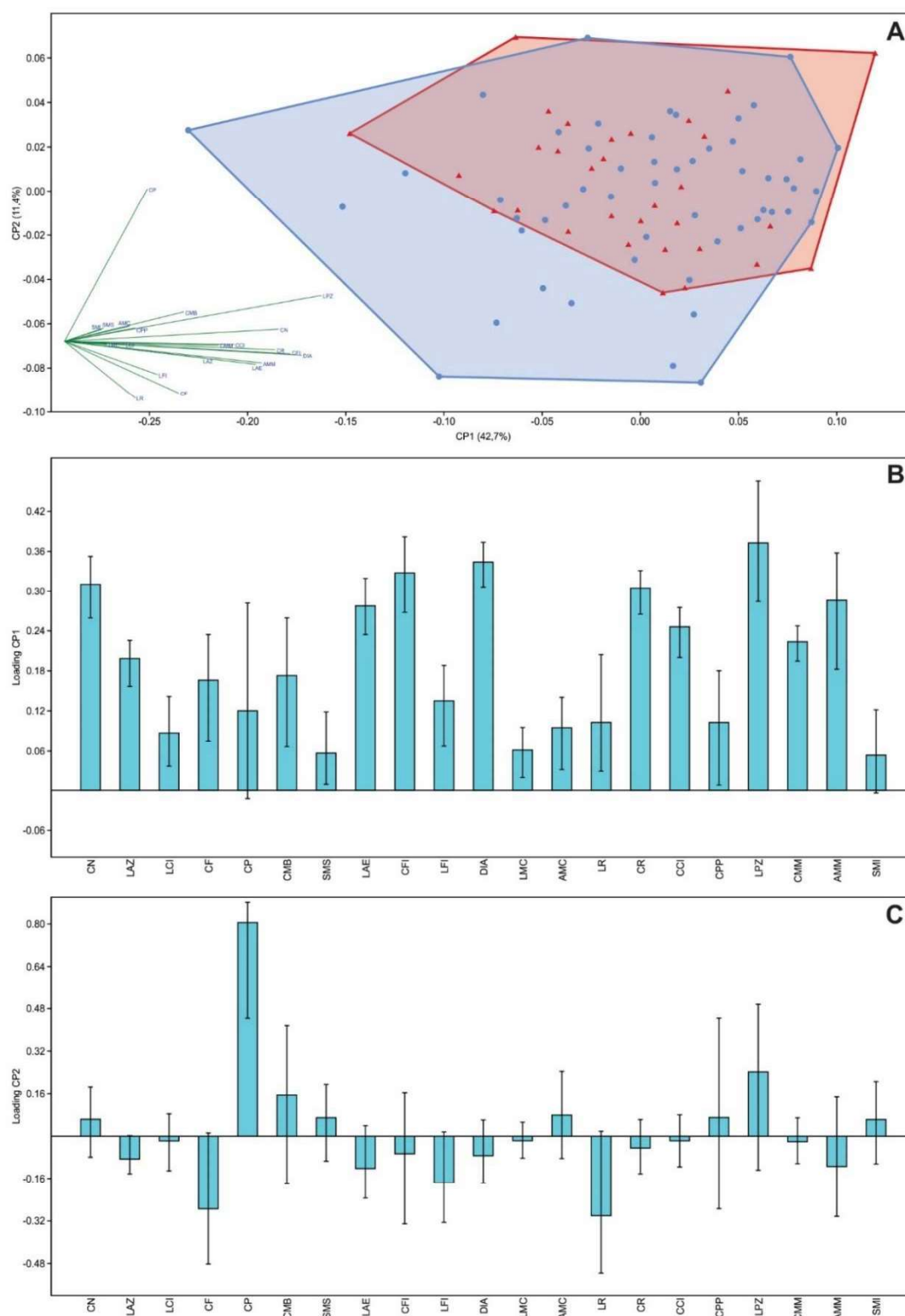


Figura 7: Dimorfismo sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseado em 21 medidas crânio-mandibulares (exceto medidas do osso parietal). (A) Análise de Componentes Principais representadas pelos dois componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação entre os sexos: fêmeas (triângulos rosas) e machos (círculos azuis). Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. Entre parênteses está a porcentagem de variação de cada eixo. (B e C) *Loadings* de cada uma das medidas referentes ao CP1 (B) e CP2 (C), e intervalo de confiança gerado a partir do *bootstrap* (10.000).

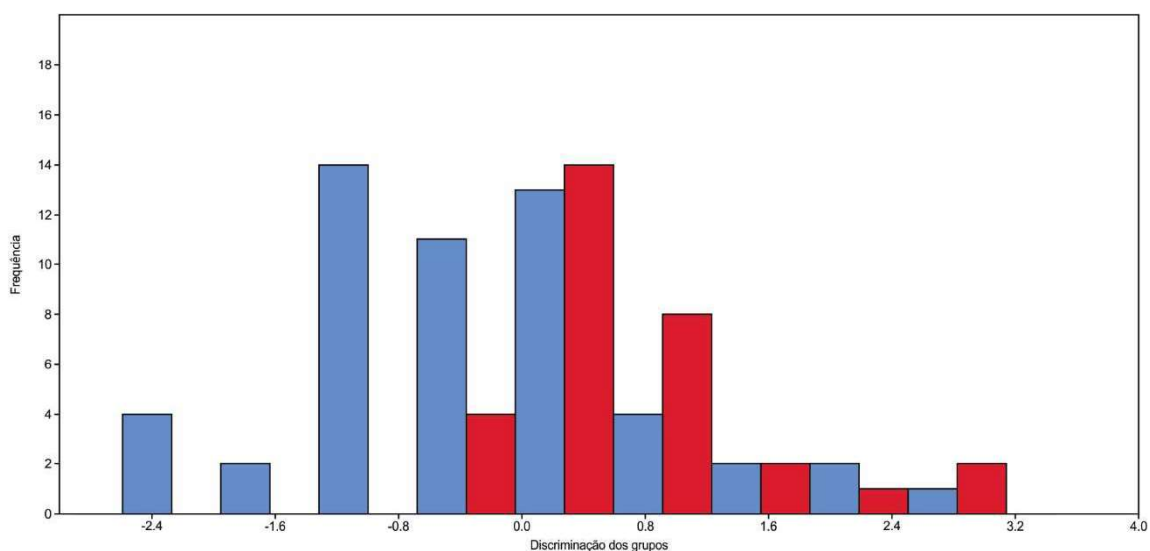


Figura 8: Análise Discriminante Canônica avaliando Dimorfismo Sexual na população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-mandibulares: fêmeas (barras rosas) e machos (barras azuis).

Dimorfismo sexual nas Classes Etárias. – Ao avaliar essa interação, não foram inseridas nas análises multivariadas as medidas CI e LI, nem a idade 1 por possuir apenas um indivíduo macho. As idades 2 e 3 foram mantidas juntas como idade 2/3. De acordo com a estatística descritiva, o número de machos e fêmeas foi semelhante entre as classes etárias (Tabela 4). Observando as médias e os desvio-padrão, não foi identificada predominância no tamanho de machos ou de fêmeas dentro das classes etárias, nem ao comparar os sexos em diferentes idades. Independente da classe etária, a amplitude das medidas sempre apresentou sobreposição entre os sexos. A diferença entre as médias dos sexos em cada uma das idades foi, na maioria dos casos, menor que 0,1 mm (idade 2/3: 14 medidas; idade 4: 16 medidas; idade 5: 10 medidas; idade 6: 14 medidas).

A MANOVA foi significativa ($f=1,607$; $p=0,0001$), porém o teste *post hoc* falhou em vários casos devido ao baixo número de machos e fêmeas por grupo. A ANOVA de dois fatores indicou interação entre sexo e classe etária significativa para as medidas CF ($f=3,214$; $p=0,028$) e LCI ($f=3,102$; $p=0,032$). Após detecção da significância encontrada para essas medidas, uma ANOVA de um fator mostrou que há dimorfismo sexual nas idades 4 ($f=4,241$; $p=0,050$) e 5 ($f=5,035$; $p=0,037$) para LCI, e somente na idade 5 ($f=8,914$; $p=0,008$) para CF. Apesar disso,

Tabela 4: Estatística descritiva dos sexos nas diferentes classes etárias de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada nas 21 medidas crânio-mandibulares.

Medidas	Idade 1	Idade 2/3 (n = 20)		Idade 4 (n = 27)		Idade 5 (n = 21)		Idade 6 (n = 16)	
	♂ (1)	♀ (9)	♂ (11)	♀ (10)	♂ (17)	♀ (8)	♂ (13)	♀ (4)	♂ (12)
CN	9,83	11,21 ± 0,36	11,23 ± 0,73 (1)	11,54 ± 0,52	11,59 ± 0,57 (1)	11,81 ± 0,52	11,62 ± 0,62 (1)	12,02 ± 0,13 (2)	12,05 ± 0,50
CF	7,85	8,60 ± 0,39	8,72 ± 0,38	8,76 ± 0,43	8,83 ± 0,42	9,14 ± 0,31*	8,65 ± 0,38*	9,44 ± 0,51	8,98 ± 0,42
CP	5,89	5,96 ± 0,34	5,80 ± 0,36	5,77 ± 0,33	5,68 ± 0,38	5,87 ± 0,51	5,86 ± 0,54	5,80 ± 0,35	5,96 ± 0,34
CI	2,20	2,11 ± 0,15	2,08 ± 0,46	2,26 ± 0,31	2,25 ± 0,29	1,91 ± 0,27	2,07 ± 0,46	1,76 ± 0,26	2,18 ± 0,45
CTC	25,59	27,55 ± 0,70	27,95 ± 1,17 (2)	28,19 ± 0,63 (1)	28,36 ± 0,82 (1)	28,79 ± 0,89	28,30 ± 0,77 (1)	29,07 ± 0,38 (2)	29,20 ± 0,41
LR	3,88	3,65 ± 0,16	3,69 ± 0,14 (1)	3,62 ± 0,19 (1)	3,76 ± 0,15 (1)	3,75 ± 0,18	3,81 ± 0,16	3,90 ± 0,18	3,90 ± 0,23
LCI	5,47	5,52 ± 0,18	5,55 ± 0,16	5,51 ± 0,22*	5,65 ± 0,15*	5,64 ± 0,13*	5,59 ± 0,17*	5,70 ± 0,18	5,63 ± 0,17
LAZ	12,87	14,24 ± 0,37 (1)	14,19 ± 0,53 (1)	14,56 ± 0,40 (1)	14,59 ± 0,35 (1)	14,93 ± 0,45	14,80 ± 0,34	14,99 ± 0,11	15,00 ± 0,31
LMC	12,18	12,77 ± 0,21	12,66 ± 0,31 (1)	12,69 ± 0,45	12,78 ± 0,26	12,81 ± 0,22	12,84 ± 0,33	12,74 ± 0,24	12,83 ± 0,23
LI	6,60	7,83 ± 0,73	7,31 ± 0,69	7,77 ± 0,52	7,59 ± 0,52	7,30 ± 0,63	6,97 ± 0,83	7,65 ± 0,68	7,58 ± 0,58
CFI	5,21	5,96 ± 0,22	5,87 ± 0,34	6,12 ± 0,34	6,25 ± 0,32	6,25 ± 0,36	6,10 ± 0,48	6,14 ± 0,39	6,37 ± 0,20
CPP	3,73	4,19 ± 0,18	4,30 ± 0,23	4,25 ± 0,22	4,33 ± 0,14	4,15 ± 0,07	4,20 ± 0,21	4,33 ± 0,37	4,30 ± 0,26
CMB	5,45	6,12 ± 0,40	6,22 ± 0,32 (1)	6,16 ± 0,22 (2)	6,21 ± 0,17	6,22 ± 0,22	6,10 ± 0,44	6,55 ± 0,27	6,25 ± 0,36 (1)
SMS	5,17	5,10 ± 0,18	5,09 ± 0,13	5,12 ± 0,15	5,11 ± 0,12	5,03 ± 0,10	5,08 ± 0,16	5,24 ± 0,23	5,19 ± 0,20
DIA	6,45	7,30 ± 0,29	7,39 ± 0,40	7,66 ± 0,20	7,69 ± 0,34	7,97 ± 0,37	7,66 ± 0,35	7,93 ± 0,16	8,13 ± 0,22
LAE	5,14	5,56 ± 0,16	5,55 ± 0,24	5,70 ± 0,17	5,76 ± 0,13	6,01 ± 0,19	5,90 ± 0,21	6,18 ± 0,11	6,19 ± 0,16
LFI	2,17	2,31 ± 0,08	2,34 ± 0,14	2,30 ± 0,07	2,35 ± 0,12	2,34 ± 0,09	2,35 ± 0,09	2,38 ± 0,04	2,35 ± 0,11
AMC	8,61	9,40 ± 0,27	9,28 ± 0,30 (1)	9,23 ± 0,35 (1)	9,47 ± 0,32	9,39 ± 0,27	9,44 ± 0,34	9,67 ± 0,16	9,53 ± 0,37 (1)
CR	10,01	11,28 ± 0,48	11,36 ± 0,74 (1)	11,71 ± 0,49	11,85 ± 0,45 (1)	12,10 ± 0,43	11,81 ± 0,43 (1)	12,13 ± 0,13 (2)	12,17 ± 0,36
CCI	22,38	25,66 ± 0,94	26,18 ± 0,97 (1)	26,70 ± 0,62 (1)	26,76 ± 0,64 (1)	27,33 ± 0,95	26,57 ± 0,88	27,32 ± 0,22	27,37 ± 0,64
LPZ	2,48	2,69 ± 0,16	2,76 ± 0,26	2,84 ± 0,14	2,79 ± 0,17	2,83 ± 0,29	2,83 ± 0,20	2,92 ± 0,20	2,96 ± 0,19
AMM	5,01	6,25 ± 0,30 (1)	6,13 ± 0,26 (1)	6,36 ± 0,29 (1)	6,39 ± 0,27 (1)	6,33 ± 0,22	6,50 ± 0,26 (1)	6,55 ± 0,11 (1)	6,85 ± 0,31
CMM	12,47	13,64 ± 0,28 (1)	13,65 ± 0,62	13,89 ± 0,37	13,89 ± 0,42	14,13 ± 0,50	14,02 ± 0,44	14,16 ± 0,34	14,58 ± 0,31
SMI	5,35	5,15 ± 0,22 (1)	5,19 ± 0,13	5,24 ± 0,17	5,20 ± 0,13	5,16 ± 0,18	5,20 ± 0,17	5,26 ± 0,20	5,26 ± 0,25

Entre parênteses está o número de medidas ausentes (n=número de indivíduos por classe etária, ♂ = machos por classe etária, ♀ = fêmeas por classe etária, * = valores de probabilidade significativos para dimorfismo sexual por classe etária, com p-valor <0,05). Na idade 1 foram dispostas as medidas do único indivíduo encontrado.

a estatística descritiva para essas medidas e classes etárias apresentou sobreposição.

A disposição dos dados no espaço multivariado através da ACP não apontou diferenciação entre os sexos. Os dois CPs contendo mais de 50% da variação, CP1 (39,1%) e CP2 (12,3%), também não indicaram dimorfismo sexual dentro das classes etárias (Figura 9A). A análise discriminante resultou em dois eixos com mais de 60% da variação (CV1 = 52,9%; CV2 = 14,3%) (Figura 9B). A variação contida no primeiro eixo explicou a diferenciação entre as classes etárias, porém não foi capaz de diferenciar os sexos dentro das mesmas. Apesar disso, as idades 4 e 5 podem ser distinguidas a partir do segundo eixo de variação, geralmente relacionado a forma. De acordo com os *loadings*, as medidas CPP e AMM foram as que mais influenciaram o segundo eixo. Portanto, as idades 4 e 5 podem ser diferenciadas a partir do estudo da forma do osso palatino e da porção posterior da mandíbula. As medidas LCI e CF, detectadas significativas para a ANOVA, não influenciaram esse panorama. A matriz de confusão com *jackknife* apontou a diferenciação macho-fêmea em classes para essa população como pouco eficiente, sendo esse modelo capaz de classificar corretamente os indivíduos em apenas 21,69% dos casos. Dessa maneira, a partir de variações morfológicas quantitativas, não é possível detectar dimorfismo sexual em classes etárias de adultos de *Castoria angustidens* na população em estudo.

Variação Geográfica. — Na análise geográfica, foram avaliados 50 espécimes da classe etária 4 de *Castoria angustidens* pertencentes às populações do PARNA Caparaó (Pop. 2), do PESB (Pop. 4), do Parque Estadual (PE) Três Picos (Pop. 7), de Nova Friburgo (Pop. 8), do PARNASO (Pop. 9), do PARNA Itatiaia (Pop. 11), do PE Pico Paraná (Pop. 13) e do PARNA São Joaquim (Pop. 15).

A estatística descritiva desses indivíduos indicou grande amplitude de variação entre as médias das medidas avaliadas, quando comparado às análises intrapopulacionais. Apesar disso, ocorreu sobreposição entre médias de algumas populações (Tabela 5). As análises realizadas

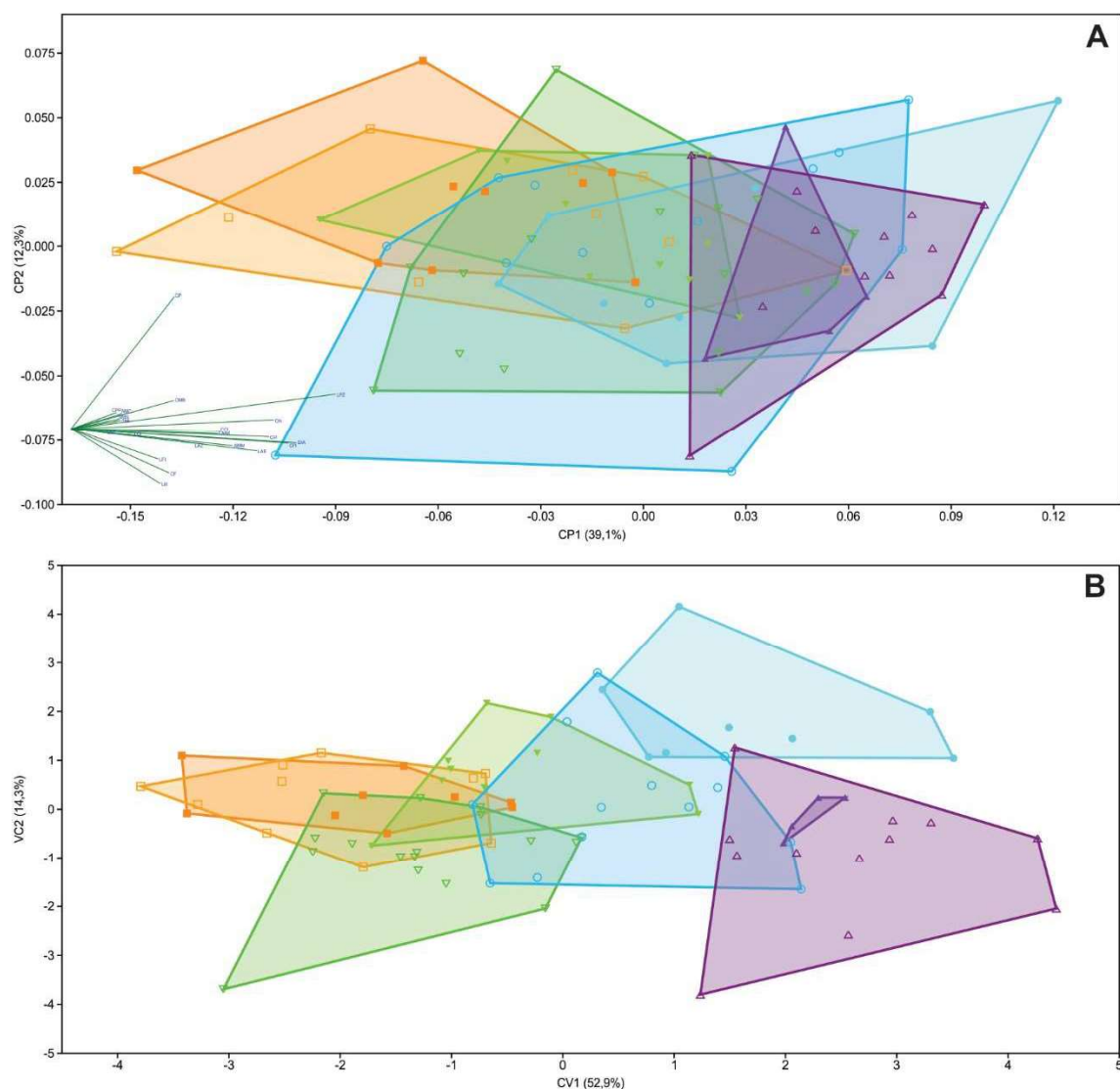


Figura 9: Variação sexual por classe etária da população de *Castoria angustidens* do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 50% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando presença ou ausência de dimorfismo dentro de cada classe etária: idade 2/3 (quadrados alaranjados), idade 4 (triângulos verdes invertidos), idade 5 (círculos azuis), idade 6 (triângulos roxos), fêmeas (símbolos cheios) e machos (símbolos vazios).

com a idade 4 excluíram as medidas cranianas CI e LI, devido à grande variação e irregularidade apresentada pela morfologia do interparietal.

Para a MANOVA e a ANOVA de um fator, foram excluídas as três populações da idade 4 com somente um indivíduo (populações 7, 13 e 15) por inviabilizarem estas análises. A MANOVA identificou diferenças significativas em pelo menos uma das médias das populações

Tabela 5: Estatística descritiva das oito populações de *Castoria angustidens* pertencentes a idade 4 com base nas 24 medidas crânio-mandibulares.

Idade 4								
Medidas	Pop. 2 n = 4 (1 ♀, 2 ♂, 1 ?)	Pop. 4 n = 29 (10♀, 17♂, 2?)	Pop. 7 n = 1 (?)	Pop. 8 n = 3 (?)	Pop. 9 n = 8 (2 ♀, 6 ♂)	Pop. 11 n = 3 (2 ♂, 1 ?)	Pop. 13 n = 1 (?)	Pop. 15 n = 1 (?)
CN	11,24 ± 0,24	11,53 ± 0,55 (1)	11,78	10,73 ± 0,41	10,81 ± 0,27	11,36 ± 0,29	9,88	10,60
CF	8,37 ± 0,55	8,84 ± 0,43	10,50	8,95 ± 0,36	8,82 ± 0,29	8,77 ± 0,96	7,66	8,78
CP	6,16 ± 0,26	5,73 ± 0,35	6,08	5,81 ± 0,52	5,65 ± 0,31	6,13 ± 0,57	5,86	5,30
CI	2,02 ± 0,28	2,24 ± 0,29	2,32	2,33 ± 0,30	2,09 ± 0,43	1,68 ± 0,46	1,87	2,55
CTC	28,11 ± 0,73	28,29 ± 0,72 (2)	30,65	27,45 ± 0,77	27,44 ± 0,55	28,44 ± 1,42	25,59	27,34
LR	3,78 ± 0,12	3,71 ± 0,17 (2)	4,02	3,38 ± 0,10	3,34 ± 0,14	3,85 ± 0,49	3,44	4,15
LCI	5,59 ± 0,29	5,59 ± 0,18	5,40	5,22 ± 0,16	5,41 ± 0,10	5,31 ± 0,12	5,17	5,61
LAZ	14,45 ± 0,43 (1)	14,58 ± 0,35 (2)	15,48	14,08 ± 0,06 (1)	14,19 ± 0,39	14,93 ± 0,93	13,43	14,06
LMC	12,74 ± 0,23	12,78 ± 0,34	13,30	12,29 ± 0,21	12,50 ± 0,38	12,79 ± 0,48	12,12	12,67
LI	7,85 ± 0,82	7,71 ± 0,54	7,66	8,35 ± 0,46	7,71 ± 0,71	6,65 ± 1,22 (1)	7,64	7,36
CFI	5,88 ± 0,40	6,18 ± 0,33	6,62	5,58 ± 0,27	6,05 ± 0,17	6,33 ± 0,46	5,44	6,19
CPP	4,10 ± 0,28	4,30 ± 0,17	4,01	3,94 ± 0,13	4,11 ± 0,18	3,64 ± 0,26	3,81	3,88
CMB	6,41 ± 0,23	6,20 ± 0,18 (2)	6,41	6,18 ± 0,12	5,47 ± 0,16	6,21 ± 0,35 (1)	4,89	5,43
SMS	5,11 ± 0,15	5,11 ± 0,12	4,60	4,76 ± 0,07	5,00 ± 0,11	4,74 ± 0,17	4,90	4,88
DIA	7,34 ± 0,29	7,67 ± 0,29	8,48	7,18 ± 0,06	7,41 ± 0,22	7,67 ± 0,57	6,49	7,55
LAE	5,43 ± 0,18	5,75 ± 0,14	5,99	5,57 ± 0,18	5,39 ± 0,21	5,59 ± 0,38 (1)	5,05	5,53
LFI	2,13 ± 0,16	2,34 ± 0,11	2,39	2,11 ± 0,11	2,02 ± 0,20	2,28 ± 0,18	1,67	2,18
AMC	9,38 ± 0,48	9,39 ± 0,34	9,64	9,11 ± 0,39	9,05 ± 0,51	9,37 ± 0,45	8,61	9,33
CR	11,48 ± 0,46	11,76 ± 0,46 (1)	13,02	10,94 ± 0,42	11,26 ± 0,21	11,45 ± 0,28	10,39	11,51
CCI	26,53 ± 0,81	26,74 ± 0,60 (2)	28,92	25,96 ± 0,62	25,97 ± 0,49	27,12 ± 1,46	24,13	26,00
LPZ	2,71 ± 0,27	2,81 ± 0,16	3,20	2,70 ± 0,13	2,62 ± 0,13	2,73 ± 0,11	2,23	2,69
AMM	6,41 ± 0,28	6,37 ± 0,27 (1)	6,69	6,50 ± 0,22	6,41 ± 0,31	6,44 ± 0,43	5,83	5,72
CMM	13,94 ± 0,36	13,90 ± 0,39	15,33	13,55 ± 0,10	13,76 ± 0,50	14,38 ± 0,88	12,63	13,25
SMI	5,13 ± 0,18 (2)	5,20 ± 0,15	x	x	5,03 ± 0,14	4,95 ± 0,19 (1)	4,86	5,01

Entre parênteses está o número de medidas ausentes (n=número de indivíduos na população, ♂ = machos, ♀ = fêmeas, “?” = indivíduos não sexados por população). Os números das populações correspondem aos da Figura 1: 2) Parque Nacional do Caparaó, 4) Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 7) Parque Estadual dos Três Picos, 8) Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, 9) Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 11) Parque Nacional do Itatiaia, 13) Parque Estadual Pico Paraná, e 15) Parque Nacional São Joaquim. Para as populações com um indivíduo foram dipostas somente as medidas.

($f = 2,646$; $p < 0,001$). O teste de comparação par a par falhou para a maioria dos grupos, devido ao baixo número amostral de algumas populações. Na ANOVA de um fator, foram observadas 13 médias significativamente distintas entre as populações: CN ($f=5,100$; $p=0,002$), LAZ ($f=12,7$; $p=0,002$), SMS ($f=11,230$; $p<0,001$), LAE ($f=5,716$; $p=0,031$), CFI ($f=3,552$; $p=0,014$), LFI ($f=10,81$; $p<0,001$), DIA ($f=3,647$; $p=0,012$), LR ($f=11,75$; $p=0,004$), CR ($f=4,855$; $p=0,003$), CPP ($f=12,150$; $p<0,001$), SMI ($f=6,124$; $p=0,001$), LCI ($f=5,124$; $p=0,002$) e CMB ($f=29,72$; $p<0,001$). Dentre elas, a maioria está relacionada a alterações de estruturas do viscerocrânio como o nasal, o arco zigomático, o forâmen incisivo, o diastema, o palatino e a série molar (CN, LAZ, SMS, LAE, CFI, LFI, DIA, LR, CR e CPP). Apenas o CMB, uma medida da bula timpânica, e a LCI, medida da constrição interorbital, estão relacionadas ao neurocrânio. A SMI foi a única medida da mandíbula que apresentou variação significativa. De acordo com o teste de comparações par a par de *Tukey*, realizado para as medidas com variação significativa de médias entre as populações, as medidas com maior poder de distinção de pares de populações foram SMS, capaz de distinguir seis dos 10 pares de populações (2-8, 2-11, 4-8, 4-11, 8-9, 9-11); e, CMB (2-9, 4-9, 8-9, 9-11), LR (2-9, 4-8, 4-9, 9-11) e CPP (2-11, 4-8, 4-11, 9-11) capazes de diferenciar quatro pares de populações cada um. Os pares de populações com maior número de medidas diferenciáveis foram 4-8 (PESB/Nova Friburgo), com 10 medidas (todas, exceto CMB, LAE e LFI), seguido de 4-9 (PESB/PARNASO), com sete medidas (CN, CMB, LAZ, LAE, LFI, DIA, LR) (Tabela 6).

A Análise de Componentes Principais resumiu em dois eixos mais de 50% da variação entre as populações. O primeiro eixo (CP1), relacionado ao tamanho e responsável por 44,2% da variação, foi capaz de separar a população de Nova Friburgo (Pop. 8) da população do PARNA do Itatiaia (Pop. 11), a população do PARNASO (Pop. 9) das populações do PESB (Pop. 4) e do PARNA Caparaó (Pop. 2). Além disso, as populações do PE Pico Paraná (Pop. 13) e do PE Três Picos (Pop. 7) foram distintas de todas as outras, sendo respectivamente, as populações de menor e maior tamanho para a idade 4 da espécie (Figura 10A). As medidas que

Tabela 6: Potencial de diferenciação dos pares de populações da idade 4 de *Castoria angustidens* a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste *post hoc* de Tukey.

Pares de Pop.		Medidas												
		CN	LAZ	LCI	CMB	SMS	LAE	CFI	LFI	DIA	LR	CR	CPP	SMI
2	4						X							
2	8			X		X								
2	9	X			X						X			
2	11					X							X	
4	8	X	X	X		X		X		X	X	X	X	X
4	9	X	X		X		X		X	X	X			
4	11					X							X	
8	9				X	X								
8	11							X						
9	11				X	X			X		X		X	

“x” corresponde as medidas crânio-mandibulares capazes de diferenciar significativamente indivíduos entre cada combinação de populações.

mais influenciaram esta diferenciação entre essas populações foram CN, LR, LFI, DIA, LPZ e CMB. Esse resultado reforçou aquele obtido na análise de variância univariada, pois todas estas medidas, com exceção de LPZ, foram significativas para a diferenciação das populações. De acordo com o segundo CP, responsável por 11,2% da variação, foi possível diferenciar a população do PE Três Picos e a população do PARNA Itatiaia das outras a partir da variação da forma do parietal (CP), do palatino (CPP) e das séries molares (SMS e SMI) (Figura 10A).

Os resultados da Análise Discriminante indicaram separação entre a maioria das populações. A análise explicou em dois eixos mais de 60% da variação das populações, contando com 47,4% para o primeiro eixo e 17,1% para o segundo (Figura 10B). As populações do PARNASO (Pop. 9) e do PE Pico Paraná (Pop. 13) foram aquelas com menor tamanho para as medidas avaliadas. Estas puderam ser diferenciadas das populações de Nova Friburgo (Pop. 8) e do PARNA São Joaquim (Pop. 15), que possuem tamanho intermediário. E, por fim, as outras populações do PARNA Caparaó (Pop. 2), do PESB (Pop. 4), do PE Três Picos (Pop. 7) e do PARNA Itatiaia (Pop. 11) foram agrupadas como as maiores da espécie. As medidas que mais influenciaram esta variação do tamanho populacional foram o CN, LPZ, LR, LFI e CMB.

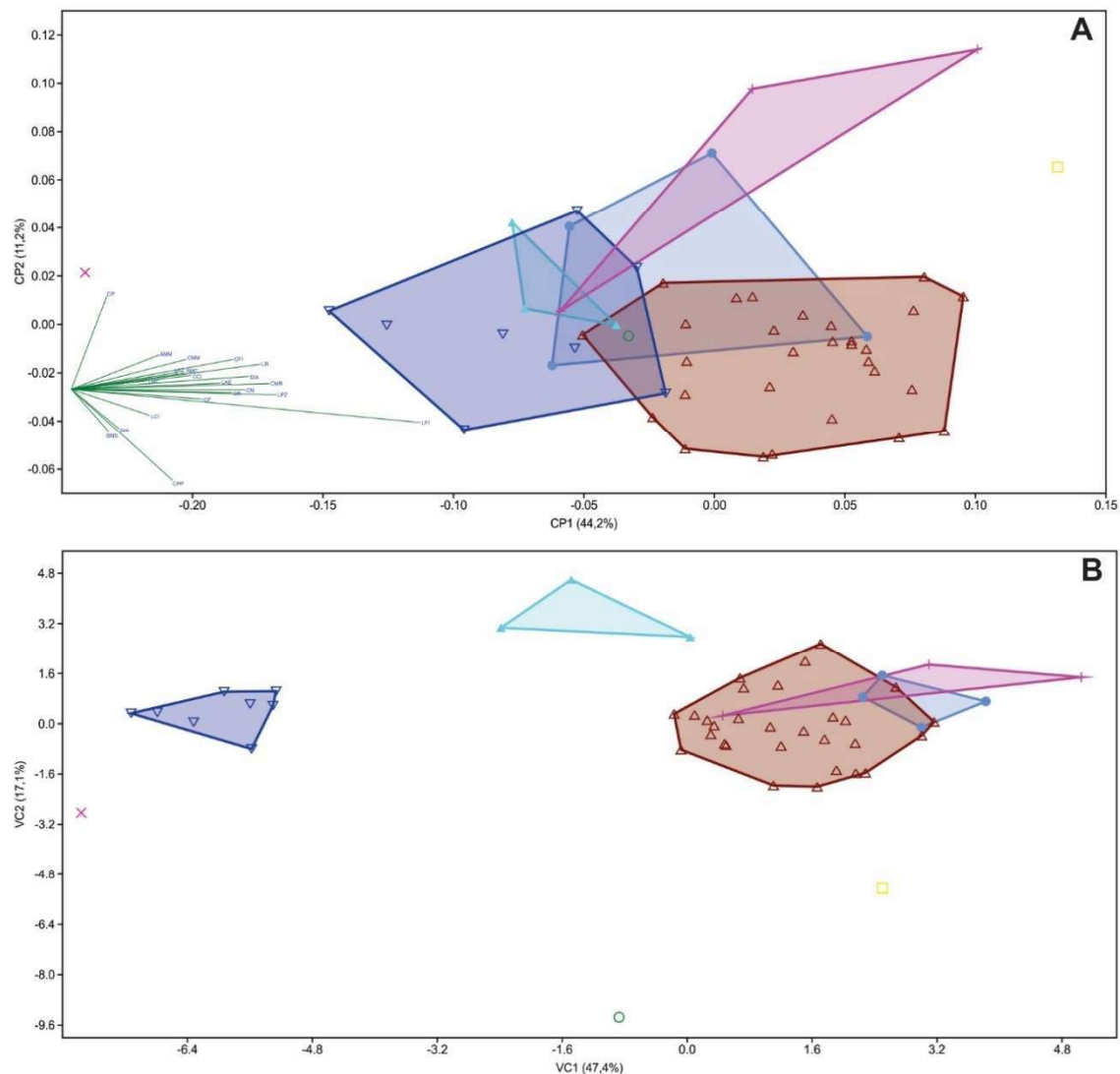


Figura 10: Variação geográfica de *Castoria angustidens* da idade 4 baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 60% da variação populacional. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica apontando o nível de separação entre as populações: População 2 - PARNA Caparaó (círculos azuis), População 4 - PESB (triângulos marrons), População 7 - PE Três Picos (quadrados amarelos), População 8 - Nova Friburgo (triângulos azuis), Pop. 9 – PARNASO (triângulos invertidos azuis), População 11 - PARNA Itatiaia (+ magenta), População 13 - PE Pico Paraná (“x” rosa), População 15 - PARNA São Joaquim (círculos verdes).

Esse resultado corroborou com o apontado pela ANOVA e pela ACP, indicando expansão longitudinal e lateral do crânio na medida em que as populações aumentam de tamanho. Essas alterações estavam relacionadas a região do rosto e da bula timpânica. O segundo eixo da discriminante diferenciou três grupos distintos, sendo um deles formado pela população do PARNA São Joaquim (Pop. 15), outro constituído pela população do PE Três Picos (Pop. 7), e

o último deles formado pelas outras populações. Essa distinção populacional sofreu maior influência da LR, CFI, CMB e AMM, provavelmente relacionada às formas das estruturas aferidas: rostró, bula timpânica e porção posterior da mandíbula. A matriz de confusão com *jackknife* apontou a diferenciação entre as populações da idade 4 de *Castoria angustidens* baseada nas 21 medidas crânio-mandibulares como um modelo eficaz, sendo capaz de classificar corretamente os indivíduos em 66% dos casos.

Buscando testar a hipótese de que os complexos serranos da Mata Atlântica (Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra Geral) funcionem como unidades evolutivas distintas e que promovam ou tenham promovido separação espacial em algum momento da história de *Castoria angustidens*, foi testada a diferenciação morfológica crânio-mandibular entre esses complexos. Apenas indivíduos da idade 4 foram selecionados para as análises. Os dados gerados pela estatística descritiva, apesar da sobreposição entre valores das médias e desvios-padrão, apontaram maiores médias para o complexo populacional da Serra da Mantiqueira em comparação às dos outros complexos serranos (CP, CTC, LCI, LAZ, LMC, CFI, CPP, CMB, SMS, DIA, LAE, LFI, AMC, CR, CCI, LPZ, CMM e SMI). Por outro lado, para as populações da Serra do Mar foram registradas as médias menores (CI, LR, LCI, LMC, CFI, SMS, DIA, LAE, LFI, AMC, CR, CCI, LPZ, AMM e SMI). A população da Serra Geral apresentou perfil intermediário em relação aos demais complexos (Tabela 7).

Para testar a significância da tendência apresentada pela média dos complexos serranos foi realizada uma MANOVA. O resultado desta análise apontou diferenças significativas em pelo menos uma das médias crânio-mandibulares ($f=7,873$; $p<0,001$). Como apenas dois grupos foram testados, não foi necessário realizar o teste *post hoc* de comparação par a par. Ao verificar a variância das médias para as distinções entre os complexos serranos da Mantiqueira e do Mar, a ANOVA identificou como significativas 16 das 21 medidas: CN ($f= 19,080$; $p<0,001$), LR ($f=26,560$; $p<0,001$), LCI ($f=13,030$; $p=0,001$), LAZ ($f=8,330$; $p=0,006$), LMC ($f=6,549$; $p=0,014$), CPP ($f=4,947$; $p=0,031$), CMB ($f=37,310$; $p<0,001$), SMS ($f=10,400$; $p=0,002$), DIA

Tabela 7: Estatística descritiva e ANOVA dos complexos serranos da Mata Atlântica de *Castoria angustidens* da idade 4 baseadas nas 24 medidas crânio-mandibulares.

Medidas	Idade 4			
	Serra da Mantiqueira	Serra do Mar	p-valor	Serra Geral
	n = 36 (11 ♀, 21 ♂, 4 ?)	n = 13 (2 ♀, 6 ♂, 5 ?)		n = 1
CN	11,48 ± 0,51 (1)	10,80 ± 0,47	**	10,60
CF	8,78 ± 0,50	8,89 ± 0,65	Ns	8,78
CP	5,81 ± 0,39	5,74 ± 0,34	Ns	5,30
CI	2,17 ± 0,34	2,14 ± 0,38	x	2,55
CTC	28,28 ± 0,77 (2)	27,55 ± 1,19	x	27,34
LR	3,73 ± 0,20 (2)	3,41 ± 0,22	**	4,15
LCI	5,57 ± 0,20	5,35 ± 0,14	**	5,61
LAZ	14,60 ± 0,42 (3)	14,22 ± 0,55 (1)	**	14,06
LMC	12,77 ± 0,33	12,49 ± 0,41	*	12,67
LI	7,66 ± 0,64 (1)	7,85 ± 0,64	x	7,36
CFI	6,16 ± 0,35	5,94 ± 0,36	Ns	6,19
CPP	4,22 ± 0,26	4,04 ± 0,18	*	3,88
CMB	6,23 ± 0,20 (3)	5,66 ± 0,45	**	5,43
SMS	5,08 ± 0,16	4,91 ± 0,17	**	4,88
DIA	7,63 ± 0,32	7,37 ± 0,46	**	7,55
LAE	5,70 ± 0,19 (1)	5,45 ± 0,27	**	5,53
LFI	2,31 ± 0,13	2,04 ± 0,22	**	2,18
AMC	9,38 ± 0,35	9,07 ± 0,47	*	9,33
CR	11,71 ± 0,45 (1)	11,25 ± 0,63	**	11,51
CCI	26,75 ± 0,70 (2)	26,06 ± 1,10	**	26,00
LPZ	2,80 ± 0,17	2,65 ± 0,23	*	2,69
AMM	6,38 ± 0,27 (1)	6,41 ± 0,32	Ns	5,72
CMM	13,94 ± 0,44	13,75 ± 0,69	Ns	13,25
SMI	5,18 ± 0,16 (3)	5,01 ± 0,14 (4)	**	5,01

Entre parênteses está o número de medidas ausentes (n=número de indivíduos por complexo serrano, ♂ = machos, ♀ = fêmeas, “?” = indivíduos não sexados por complexo serrano). Níveis de significância da ANOVA ao testar variação geográfica nos complexos serranos (ns = valores de probabilidade não significativos, com p-valor > 0,05; * = valores de probabilidade significativos, com p-valor < 0,05; ** = valores de probabilidade significativos, com p-valor < 0,01; x = valor não incluído na análise).

(f=5,654; p=0,022), LAE (f=13,360; p<0,001), LFI (f=26,950; p<0,001), AMC (f=6,470; p=0,014), CR (f=8,689; p=0,005), CCI (f=7,342; p=0,009), LPZ (f=6,239; p=0,016) e SMI

($f=16,660$; $p<0,001$). Dentre estas medidas, todas, com exceção de CN, apresentaram maiores médias para as populações do complexo da Serra da Mantiqueira.

A ACP, realizada com os três complexos serranos, indicou diferenciação entre os *Castoria angustidens* da Serra da Mantiqueira e da Serra do Mar, apesar de pequena sobreposição. Essa diferenciação foi expressa a partir de dois CPs totalizando mais de 55% da variação entre os grupos, sendo o CP1 com 44,2% e o CP2 com 11,2% (Figura 11A). Assim como nos dados descritivos, o complexo da Mantiqueira apresentou dimensões ligeiramente maiores em relação às da Serra do Mar, e a população da Serra Geral apareceu sobreposta pelas outras duas em posição intermediária, como previsto. As medidas mais influentes nessa conformação foram as mesmas geradas para o agrupamento geográfico populacional. O complexo serrano da Mantiqueira apresentou as médias de CN, LR, CMB, DIA, LFI e LPZ maiores em relação às dos outros complexos serranos. Por outro lado, as medidas mais associadas ao CP2, CP, CPP, SMS e SMI, estão relacionadas a forma do palatino, do parietal, e a conformação e orientação das séries molares superior e inferior.

A análise discriminante separou os três complexos serranos no espaço multivariado sem sobreposição, sendo o primeiro eixo responsável por 83,9% da variação e o segundo por 16,1% (Figura 11B). O primeiro eixo isolou completamente os complexos da Serra da Mantiqueira e da Serra do Mar. Os espécimes da Serra da Mantiqueira possuem dimensões maiores em relação aos da Serra do Mar. Essas alterações foram detectadas nas medidas do rostro (LR, LFI e CN) e da bula timpânica (CMB). No outro eixo, foi observada a separação entre o complexo da Serra Geral quando comparado aos demais, explicada por alterações no rostro (LR), no palatino (CPP), no parietal (CP), na bula timpânica (CMB) e na mandíbula (AMM). A matriz de confusão detectou com o *jackknife* alta probabilidade (92%) de acerto do modelo afirmando que os complexos serranos apresentam conformações morfológicas distintas dentro da espécie. Desta maneira, *Castoria angustidens* foi dividida geograficamente em três grupos com características morfológicas distintas, os complexos serranos da Mantiqueira, do Mar, e Geral.

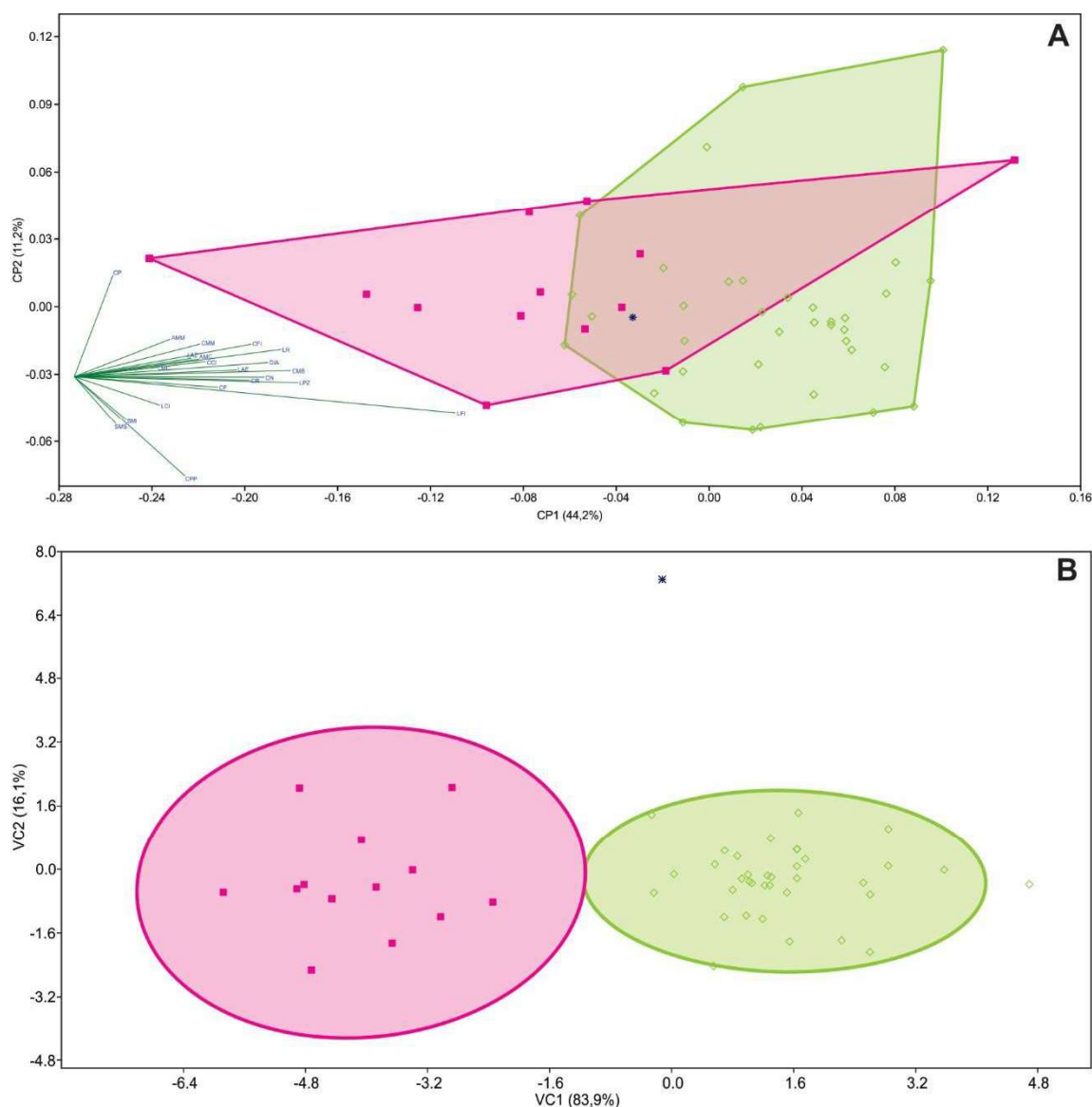


Figura 11: Variação geográfica dos complexos serranos de *Castoria angustidens* da idade 4 baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 55% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando o nível de separação entre os complexos serranos da Mata Atlântica: Complexo Serrano da Mantiqueira (losangos verdes), Complexo Serrano do Mar (quadrados rosas), e Complexo Serrano Geral (asteriscos azuis).

Variação Interespecífica. — A análise interespecífica da Divisão *Akodon* contou com 189 espécimes de *Castoria angustidens*, 58 de *Thaptomys nigrita* e 26 de *Necromys lasiurus*, totalizando 273 indivíduos. Os espécimes de *C. angustidens* foram separados em três grupos devido a diferenciação morfológica detectada entre os complexos serranos. As variações das médias geradas pela estatística descritiva indicaram *Thaptomys nigrita* como a menor das

espécies, enquanto *Castoria angustidens* e *Necomys lasiurus* variaram de forma semelhante com relação ao tamanho (CP, CTC, LR, LI, CPP, CMB, LAE, CCI e AMM) (Tabela 8).

O resultado da MANOVA apontou diferença significativa em pelo menos uma das médias das espécies ($f=9,869$; $p<0,001$). O teste par a par de *Hotelling* apresentou valores significativos entre os pares de populações 1-2, 1-4, 1-5, 2-4, 2-5, 3-5 e 4-5, sendo as populações 1, 2 e 3 formadas por *Castoria angustidens* dos complexos da Mantiqueira, do Mar e Geral, respectivamente, a população 4 por *Necomys lasiurus* da EPTEA MP, e a população 5 por *Thaptomys nigrita* do PESB, com p-valor menor que 0,001 para todos os pares. De acordo com a ANOVA de um fator, as medidas que influenciaram a diferenciação do maior número de pares de populações foram LAZ (9 pares), LFI (8 pares), LCI, LMC, AMC, CPP, LPZ e SMI (6 pares) (Tabela 8). Os pares de populações diferenciáveis pelo maior número de medidas foram *Castoria angustidens* da Mantiqueira e *Thaptomys nigrita* (19 medidas), *C. angustidens* do Mar e *T. nigrita* (19 medidas), *N. lasiurus* e a *T. nigrita* (18 medidas), e *C. angustidens* da Serra Geral e *T. nigrita* (17 medidas). Por outro lado, os pares de espécies formados pelas populações dos complexos serranos de *C. angustidens* contaram com o menor número de medidas capazes de diferenciá-los (Tabela 9).

A disposição dos dados no espaço multivariado resumiu a variação entre os táxons em dois CPs contando com mais de 80% de variação, sendo o CP1 com 72,9% e o CP2 com 8,8% (Figura 12A). O primeiro componente separou *Thaptomys nigrita* das duas outras espécies, apontando esta, como a menor delas. As medidas que mais influenciaram tal disposição foram CR, CN, LFI, SMS e SMI, sendo estas menores em *T. nigrita*. O outro CP, separou *Necomys lasiurus* das outras espécies apontando distinções na forma das estruturas cranianas quando comparadas entre si. Essas variações estão relacionadas ao viscerocrânio, mais especificamente aos ossos nasal (CN), frontal (CF), diastema (DIA) e ao formato da placa zigomática (LPZ).

Os dois eixos de variação da análise discriminante apresentaram resultado similar ao da ACP. A única distinção foi detectada no primeiro eixo, capaz de diferenciar através do tamanho

Tabela 8: Estatística descritiva de *Castoria angustidens*, *Necomys lasiurus* e *Thaptomys nigrita*, baseada nas 24 medidas crânio-mandibulares e comparação destas com as médias do holótipo de *C. angustidens*, depositado no Museu Britânico de História Natural (BMNH).

Medidas	<i>Castoria angustidens</i>					<i>Necomys lasiurus</i>	<i>Thaptomys nigrita</i>
	Holótipo	<i>C. angustidens</i>	Serra da Mantiqueira	Serra do Mar	Serra Geral		
	(Thomas 1902) BMNH 3.7.1.66 ♂	<i>leucogula</i> MN 2513 ♂	n = 134 (47 ♀, 76 ♂, 11 ?)	n = 53 (11 ♀, 24 ♂, 18 ?)	n = 2 (1 ♀, 1 ?)	n = 26 (7 ♀, 14 ♂, 5 ?)	n = 58 (18 ♀, 37 ♂, 3 ?)
CN	11,5	11,13	11,51 ± 0,63 (10)	11,13 ± 0,61 (4)	10,50 ± 0,14	9,13 ± 0,49	8,60 ± 0,43 (5)
CF	-	8,63	8,75 ± 0,50	8,91 ± 0,49	8,75 ± 0,04	10,62 ± 0,56	7,42 ± 0,40
CP	-	5,46	5,88 ± 0,41	5,66 ± 0,37	5,67 ± 0,52	5,32 ± 0,27	4,86 ± 0,38
CI	-	1,93	2,10 ± 0,37	2,08 ± 0,34	2,22 ± 0,47	1,88 ± 0,29	1,32 ± 0,32
CTC	27	-	28,31 ± 0,96 (14)	27,87 ± 0,96 (4)	26,82 ± 0,74	27,49 ± 1,12	23,24 ± 0,96 (1)
LR	-	3,43	3,76 ± 0,20 (5)	3,53 ± 0,21	3,91 ± 0,34	3,91 ± 0,21	3,59 ± 0,17
LCI	5,3	5,25	5,54 ± 0,21	5,38 ± 0,23 (1)	5,48 ± 0,19	4,78 ± 0,31	4,98 ± 0,36
LAZ	13,5	13,88	14,58 ± 0,50 (6)	14,34 ± 0,61 (3)	13,78 ± 0,40	15,21 ± 0,74 (1)	12,88 ± 0,55 (2)
LMC	12,5	11,86	12,72 ± 0,32 (2)	12,44 ± 0,36	12,27 ± 0,57	12,79 ± 0,41	11,33 ± 0,29 (1)
LI	-	7,11	7,60 ± 0,76 (1)	7,74 ± 0,71	7,42 ± 0,09	7,54 ± 0,43	6,64 ± 0,76 (1)
CFI	6	5,76	6,12 ± 0,37	6,01 ± 0,37	6,11 ± 0,11	6,27 ± 0,40	4,94 ± 0,34
CPP	-	4,28	4,20 ± 0,28	4,13 ± 0,27 (1)	3,78 ± 0,14	3,99 ± 0,24	3,45 ± 0,27
CMB	-	-	6,23 ± 0,31 (7)	5,69 ± 0,47	5,55 ± 0,17	5,62 ± 0,22 (1)	4,92 ± 0,16
SMS	4,6	4,65	5,08 ± 0,21	4,87 ± 0,25	4,91 ± 0,04	4,75 ± 0,18	3,65 ± 0,12
DIA	7,10	7,39	7,64 ± 0,43	7,56 ± 0,51	7,36 ± 0,28	8,32 ± 0,48	7,00 ± 0,43
LAE	-	5,25	5,79 ± 0,29 (1)	5,62 ± 0,30	5,36 ± 0,25	5,81 ± 0,30	4,73 ± 0,21
LFI	-	1,95	2,30 ± 0,14	2,08 ± 0,17	2,23 ± 0,06	1,99 ± 0,14	1,60 ± 0,09
AMC	-	-	9,39 ± 0,35 (4)	9,08 ± 0,38	9,12 ± 0,30	9,46 ± 0,31 (1)	7,85 ± 0,23 (1)
CR	-	11,13	11,70 ± 0,57 (10)	11,54 ± 0,62 (4)	11,16 ± 0,50	10,40 ± 0,49	8,23 ± 0,39 (5)
CCI	-	-	26,63 ± 1,02 (4)	26,36 ± 0,90 (1)	25,76 ± 0,35	26,34 ± 1,16	22,50 ± 1,03 (1)
LPZ	-	2,73	2,79 ± 0,21 (1)	2,78 ± 0,23	2,66 ± 0,05	3,10 ± 0,22	2,48 ± 0,20
AMM	-	-	6,43 ± 0,35 (7)	6,43 ± 0,32 (2)	5,98 ± 0,37	6,45 ± 0,35	5,58 ± 0,37
CMM	-	13,47	13,98 ± 0,53 (2)	13,84 ± 0,59 (2)	13,65 ± 0,56	15,01 ± 0,72	12,43 ± 0,56
SMI	-	4,93	5,18 ± 0,19 (26)	5,01 ± 0,22 (18)	5,10 ± 0,12	4,86 ± 0,18	3,73 ± 0,13

Entre parênteses está o número de medidas ausentes (n=número de indivíduos por população, ♂ = machos, ♀ = fêmeas, “?” = indivíduos não sexados por população). Para as populações com um indivíduo foram tabeladas somente as medidas.

Tabela 9: Potencial de diferenciação dos pares de populações de espécies da Divisão *Akodon* a partir das médias das medidas significativas para ANOVA de um fator e do teste *post hoc* de Tukey.

Medidas	Pares de Populações									
	1 - 2	1 - 3	1 - 4	1 - 5	2 - 3	2 - 4	2 - 5	3 - 4	3 - 5	4 - 5
CN		x	x	x		x	x	x	x	
LAZ	x	x	x	x		x	x	x	x	x
LCI			x	x		x	x	x	x	
CF			x	x		x	x	x	x	x
CP			x	x			x		x	
CMB	x	x	x	x			x		x	x
SMS			x	x			x		x	x
LAE		x	x				x	x		x
CFI				x			x		x	x
LFI	x		x	x		x	x	x	x	x
DIA			x	x		x		x		x
LMC		x		x			x	x	x	x
AMC	x			x		x	x		x	x
LR					x	x			x	x
CR			x	x		x	x	x	x	x
CCI				x			x		x	x
CPP		x		x	x		x		x	x
LPZ			x	x		x	x	x		x
CMM			x	x		x	x	x	x	x
AMM				x			x			x
SMI			x	x			x	x	x	x

“x” corresponde às medidas crânio-mandibulares capazes de identificar significativamente indivíduos entre cada combinação de populações nas diferentes espécies da Divisão *Akodon*. População 1: *Castoria angustidens* da Serra da Mantiqueira; População 2: *Castoria angustidens* da Serra do Mar; População 3: *Castoria angustidens* da Serra Geral; População 4: *Necomys lasiurus* da EPTEA Mata do Paraíso; População 5: *Thaptomys nigrita* do PESB.

as três espécies explicando 81,4% da variação. Ambos os eixos resumiram mais de 96% da variação interespecífica testada a partir das medidas crânio-mandibulares (Figura 12B). A matriz de confusão apontou a combinação das medidas utilizadas nesse trabalho como um modelo eficiente para a separação dessas espécies de Akodontíneos, classificando corretamente os dados com uma taxa de 91,63% de acerto (*jackknifed*). Nestas análises,

as três populações de *C. angustidens* apresentaram pequena distinção no panorama multivariado indicando a diferenciação morfológica observada nas análises geográficas como fator de variação morfológica da espécie, não sendo suficientes para distinguir novos táxons dentro desta espécie.

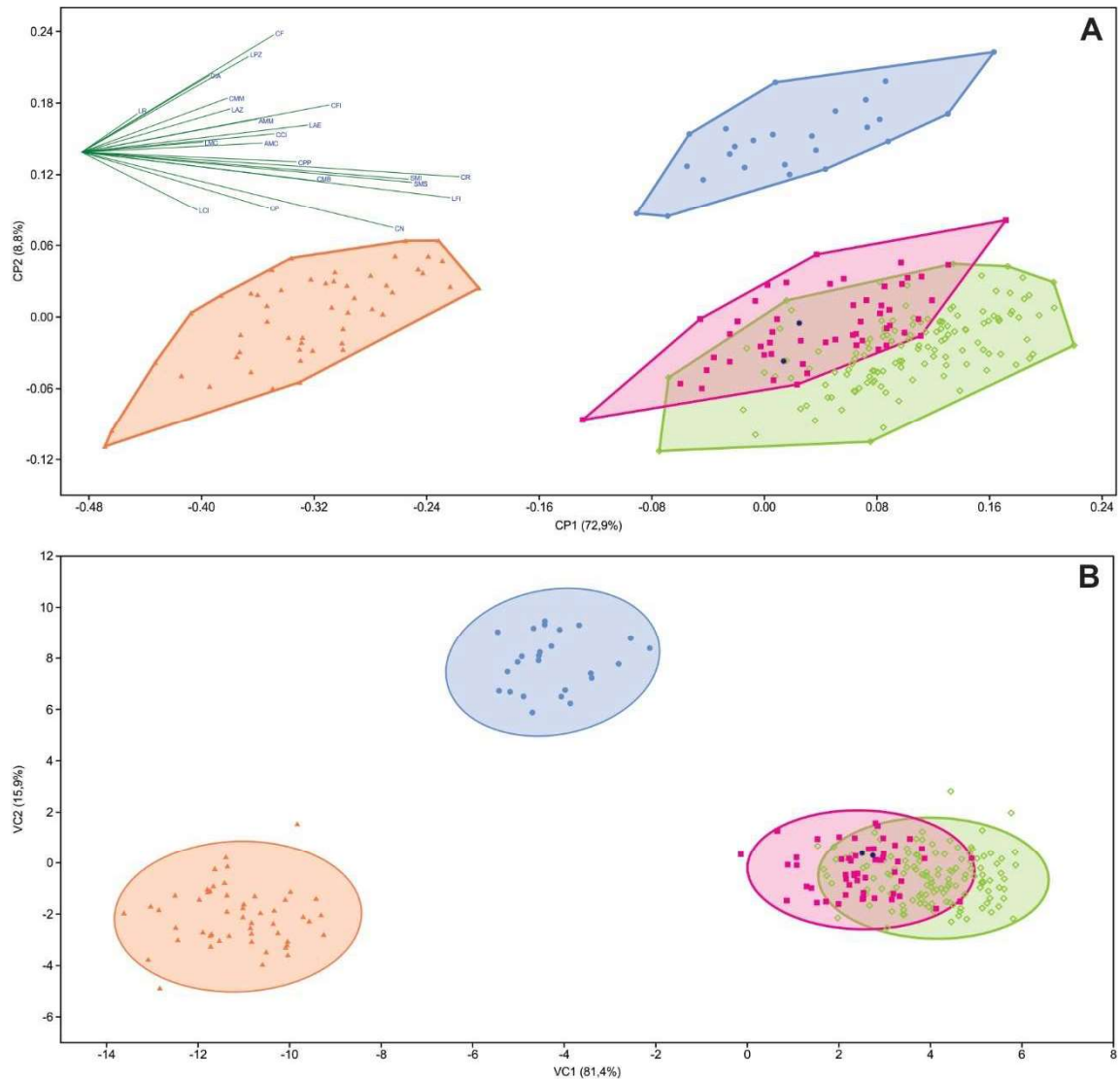


Figura 12: Variação geográfica interespecífica entre *Castoria angustidens*, *Necromys lasiurus* e *Thaptomys nigrita* baseada em 21 medidas crânio-mandibulares. (A) Análise de Componentes Principais representada pelos dois primeiros componentes (CPs) contendo juntos mais de 80% da variação. Os vetores (linhas verdes) indicam a influência de cada uma das medidas no panorama multivariado. (B) Análise Discriminante Canônica indicando o nível de separação das populações de cada uma das espécies: Populações de *Castoria angustidens* do complexo serrano da Mantiqueira (losangos verdes), da Serra do Mar (quadrados rosas) e Geral (asteriscos azuis); População de *Necromys lasiurus* da Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (círculos azuis); e a População do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro de *Thaptomys nigrita* (triângulos alaranjados).

Molecular

Rede de Haplótipos. — O gene *cytb* foi sequenciado em 26 indivíduos de *Castoria angustidens* contando com 1140 pares de base (pb), sendo 1042 pb conservados e 98 pb variáveis. Além do sequenciamento desse gene, foram obtidas no *genbank* quatro sequências da espécie. Dentre as 30 sequências foram identificados 18 haplótipos distintos, sendo cinco deles pertencentes à população do PARNA Caparaó, outros cinco a população do PESB, quatro a população do Pico Paraná, dois a populações do Rio de Janeiro, um a população de Santa Catarina e outro a população do Rio Grande do Sul (Figura 13) (Tabela 10). A rede haplotípica apontou para separação de três grupos, sendo o primeiro deles formado por espécimes da população do Pico Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Este grupo apresentou grande distância (23 pb) do próximo grupo, formado por indivíduos do PARNA Caparaó e do PESB. Este último está interligado com o terceiro grupo a partir de um indivíduo do PARNA Caparaó e contém indivíduos de populações do Rio de Janeiro. Haplótipos compartilhados entre as populações do PESB e do PARNA Caparaó, e entre as populações do Pico Paraná e de Urubici apontam para presença de fluxo gênico entre essas populações (Tabela 10).

Reconstruções Filogenéticas. — A análise de Inferência Bayesiana (IB) do *cytb* indicou a formação de três clados estatisticamente suportados dentro de *Castoria angustidens*, sendo o primeiro formado por indivíduos das populações do PESB e do PARNA Caparaó; o segundo, por populações do Rio de Janeiro e por apenas um indivíduo do PARNA Caparaó; e por fim, um clado formado por espécimes provenientes do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 14). Dentre estes clados, dois estão mais próximos, sendo o primeiro (PARNA Caparaó e PESB) mais próximo filogeneticamente do segundo (RJ e PARNA Caparaó) quando comparados ao clado da região sul (PR, SC

e RS). Nessa filogenia, *C. angustidens* foi alocado como grupo irmão de *Deltamys*. Juntos, esses gêneros formaram o clado irmão do gênero *Akodon*. Essa topologia gerou uma politomia entre os gêneros *Thaptomys*, *Thalpomys*, *Podoxymys* e *Necromys*, não sendo possível apontar relações entre esses táxons.

Da mesma forma que a IB, a análise filogenética de Máxima Verossimilhança (ML) do *cytb* definiu três grupos de *C. angustidens* idênticos com altos valores de *bootstrap*, e apontou *Deltamys* como gênero irmão da espécie (Figura 15). Ao contrário da IB, a análise de ML apresentou posições filogenéticas distintas para os gêneros *Thaptomys*, *Thalpomys*, *Necromys* e *Podoxymys*.

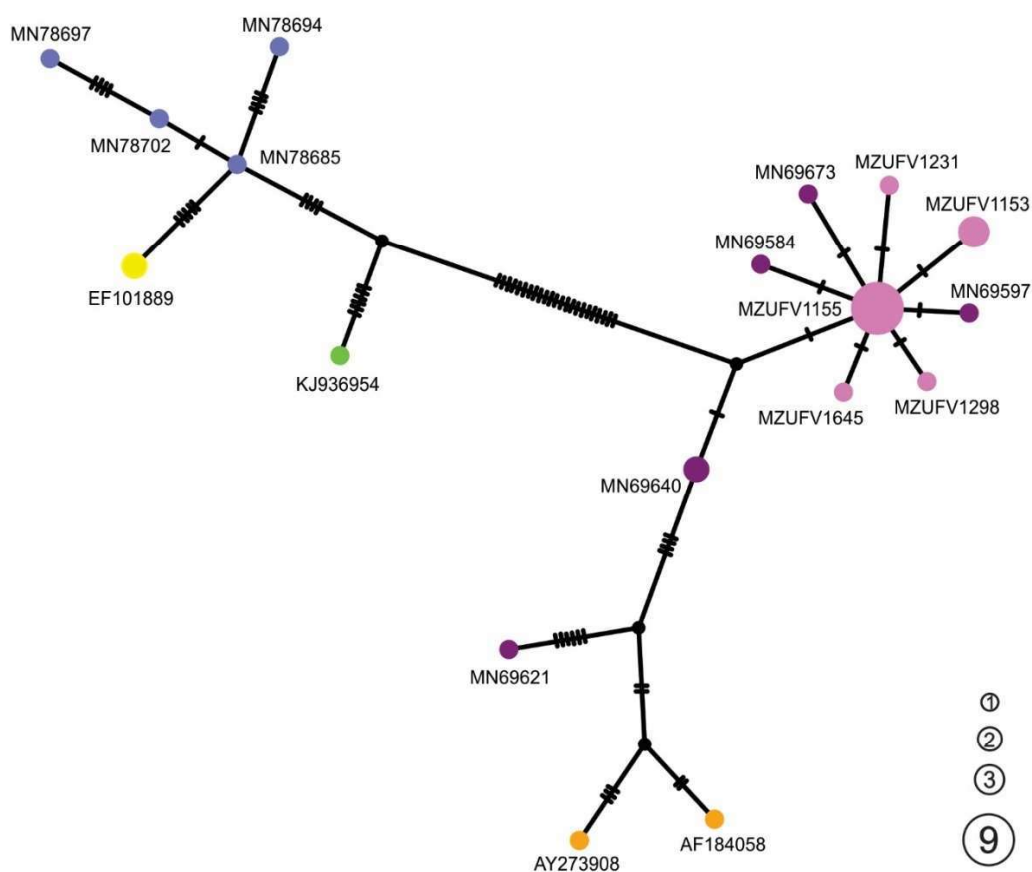


Figura 13: Rede de haplótipos do gene *cytb* de *Castoria angustidens* construída a partir do critério da parcimônia utilizando o método TCS. Cada círculo corresponde a um haplótipo. O tamanho do círculo é proporcional à frequência dos haplótipos e os traços entre os círculos indicam o número de diferenças entre os mesmos. As cores indicam as diferentes populações ao longo da distribuição da espécie: Pico Paraná (azul), Santa Catarina (amarelo), Rio Grande do Sul (verde), PESB (rosa), e PARNA Caparaó (roxo). Os indivíduos estão referenciados com os seus números de tombo nas respectivas coleções ou com o número de registro do *genbank*.

Tabela 10: Lista de haplótipos de *Castoria angustidens* com as respectivas frequências e procedências.

Haplótipos	Frequência	Nº de Tombo	Procedência
H1	9	MZUFV 1155	Fazenda da Neblina, PESB, MG
		MZUFV 1151	Fazenda da Neblina, PESB, MG
		MZUFV 1294	Serra das Cabeças, PESB, MG
		MZUFV 1249	Serra das Cabeças, PESB, MG
		MN 69654	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
		MN 69655	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
		MN 69657	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
		MN 69666	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
		MN 69667	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H2	1	MZUFV 1231	Fazenda da Neblina, PESB, MG
H3	3	MZUFV 1153	Fazenda da Neblina, PESB, MG
		MZUFV 1150	Fazenda da Neblina, PESB, MG
		MZUFV 1281	Fazenda da Neblina, PESB, MG
H4	1	MZUFV 1298	Fazenda da Neblina, PESB, MG
H5	1	MZUFV 1645	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG
H6	1	MN 69584	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H7	1	MN 69597	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H8	1	MN 69621	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H9	2	MN 69640	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
		MN 69669	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H10	1	MN 69673	Terreirão, PARNA Caparaó, MG
H11	1	AF184058	Rio de Janeiro, RJ
H12	1	AY273908	PARNASO, Teresópolis, RJ
H13	1	MN 78697	PE Pico Paraná, PR
H14	1	MN 78694	PE Pico Paraná, PR
H15	1	MN 78702	PE Pico Paraná, PR
H16	1	MN 78685	PE Pico Paraná, PR
H17	2	EF 101889	Urubici, SC
		MN 78693	PE Pico Paraná, PR
H18	1	KJ936954	Rio Grande do Sul

Todos os indivíduos estão listados com o número de tombo ou número de acesso do *genbank*.

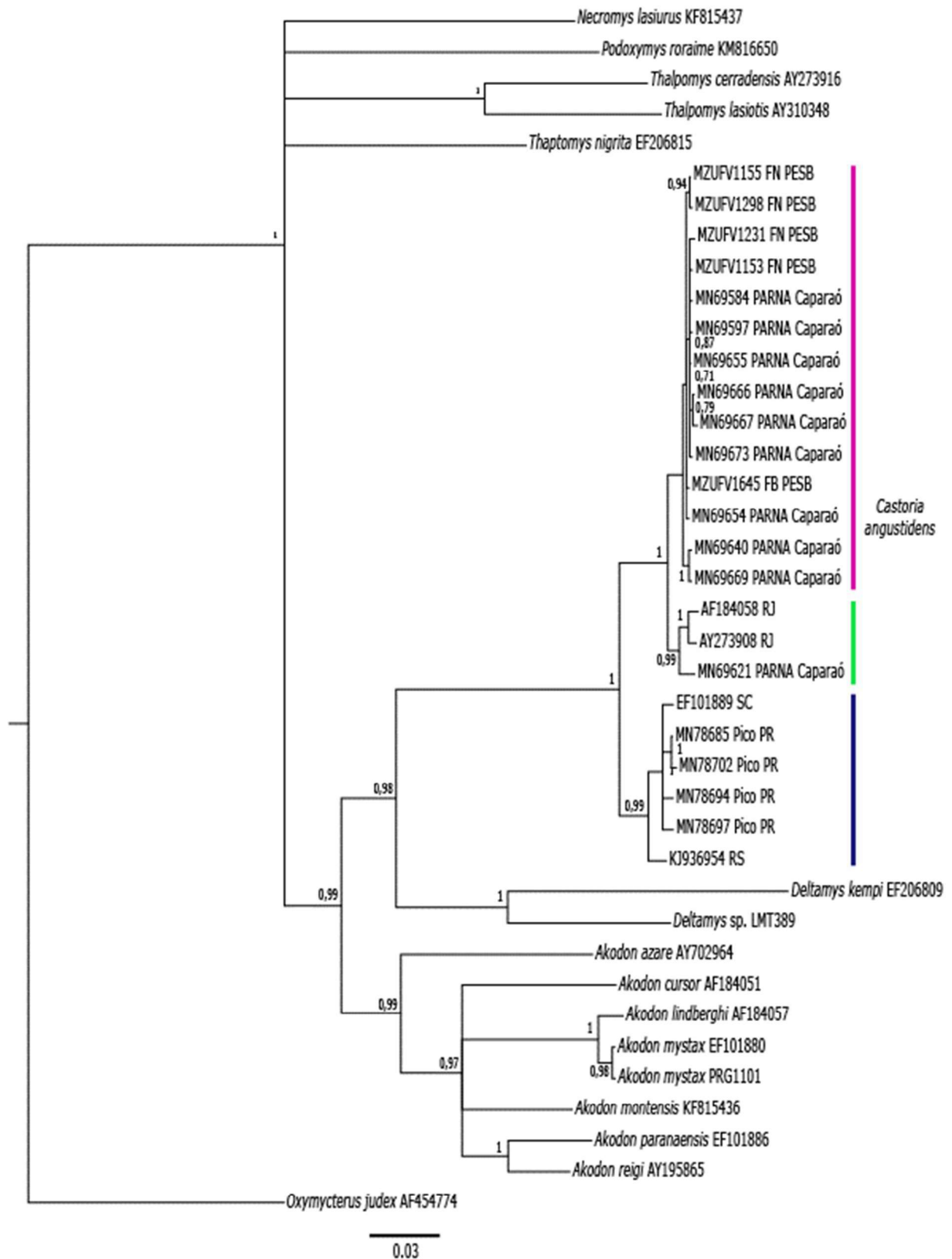


Figura 14: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Inferência Bayesiana do gene *cytb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica GTR + G + I. Os valores dos nós correspondem às probabilidades posteriores (>0,95). As porções coloridas englobam grupos de espécimes de *Castoria angustidens* separados em ramos distintos. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus judex*, considerado como grupo externo.

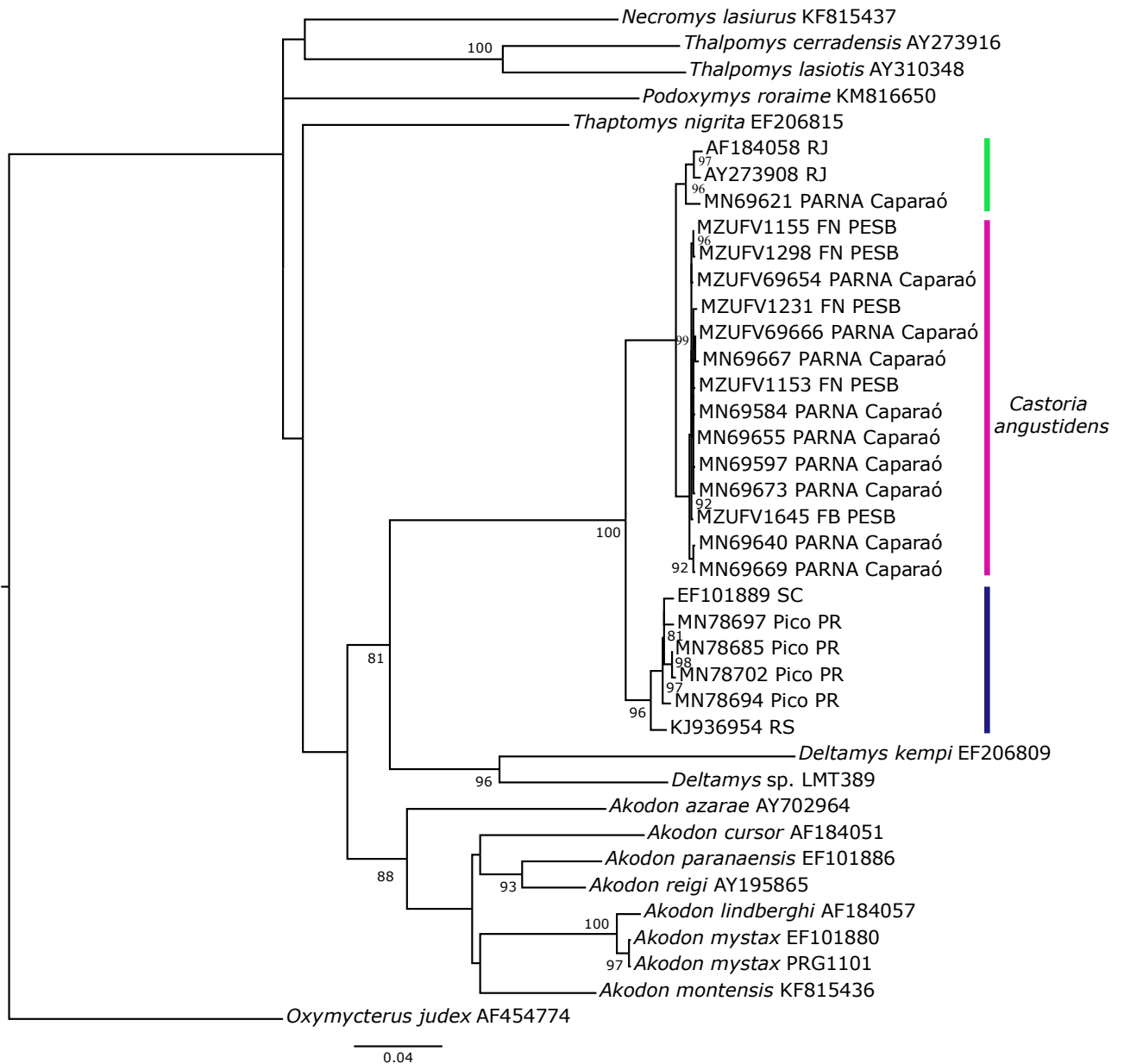


Figura 15: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Máxima Verossimilhança do gene *cytb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica GTR + G + I. Os valores dos nós correspondem aos valores de *bootstrap*. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus judex*, considerado como grupo externo.

Nessa conformação filogenética, o gênero *Thalpomys* apareceu como grupo irmão de *Necromys*, o gênero *Thaptomys* como grupo irmão do clado (*Akodon* + (*Castoria* + *Deltamys*)), o gênero *Podoxymys* como grupo irmão do clado (*Thaptomys* + (*Akodon* + (*Castoria* + *Deltamys*))). Apesar disso, os valores de *bootstrap* gerados para essas

relações foram baixos, menores do que 55.

As análises morfológicas apontaram separações entre as populações do complexo da Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra Geral. Quando esses grupos tiveram suas sequências de *cytb* comparadas foi possível observar diferenças entre os valores das distâncias-p intra e intergrupos. Apesar disso, todos os valores de distância entre grupos foram menores do que a distância-p entre as espécies da Divisão *Akodon*, indicando, com base no *cytb*, a não ocorrência de outras espécies em *Castoria* (Tabela 11) (Apêndice VIII).

Tabela 11: Valores da distância molecular (p) dentro e entre os grupos de populações de *Castoria angustidens* observados nas análises morfológicas geográficas.

Grupos Morfológicos	Serra da Mantiqueira	Serra do Mar	Serra Geral
Serra da Mantiqueira	0,005		
Serra do Mar	0,036	0,029	
Serra Geral	0,039	0,021	0,015

Para o *fgb* foram sequenciados nove espécimes de *Castoria angustidens* sendo três deles do PARNA Caparaó, outros três do PESB e mais três do PE Pico Paraná. As sequências obtidas apresentaram alto grau de conservação, exibindo 671 pb totais, dos quais 667 constituíram bases conservadas e apenas duas delas apresentaram variações. Nenhuma das posições (*sites*) exibiram informações parcimoniosas. A elevada similaridade entre as sequências apontou a existência de apenas um haplótipo do gene para a espécie.

Os resultados das análises de IB e ML foram bastante similares. Ambos apontaram para *Castoria angustidens* como grupo irmão de *Akodon azarae* e o gênero *Deltamys* como grupo externo de (*Castoria* + *Akodon*), sendo todas essas relações filogenéticas bem suportadas estatisticamente através dos valores de probabilidade posterior e de *bootstrap* (Figuras 16 e 17). A única distinção entre os dois métodos foi a relação entre os espécimes de *Castoria angustidens*. Na IB todos espécimes estavam inseridos dentro

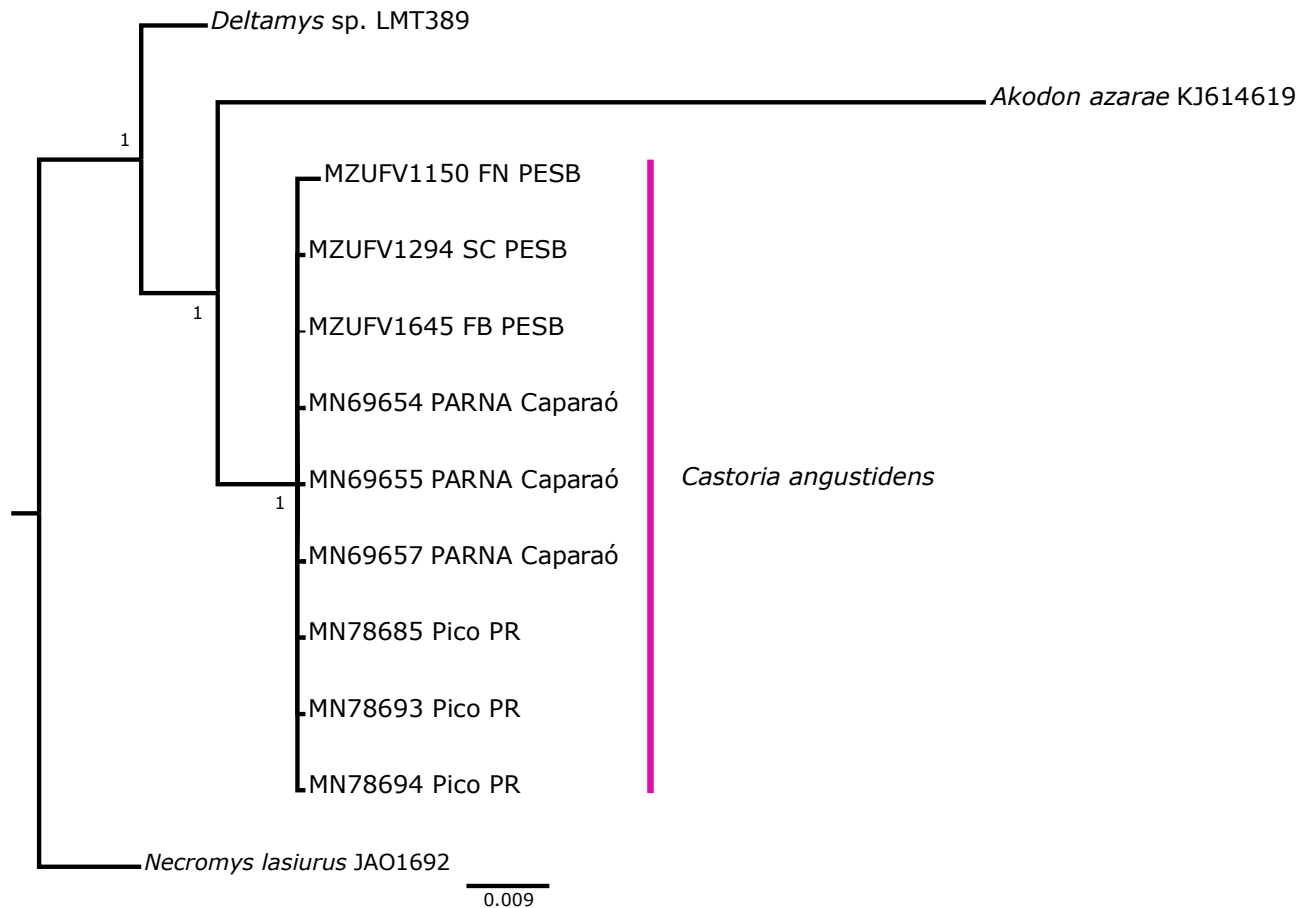


Figura 16: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Inferência Bayesiana do gene *fgb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica T92. Os valores dos nós correspondem às probabilidades posteriores ($>0,95$). A árvore foi enraizada em *Necromys lasiurus*, considerado como grupo externo do clado.

de uma politomia, enquanto na ML a politomia não agrupou todos os indivíduos sendo MZUFV 1150 e MZUFV 1645, provenientes do PESB, diretamente relacionados a MN 69655 do PARNA Caparaó.

Foram geradas três sequências do *rag1* em *Castoria angustidens*, todas provenientes do PESB, sendo duas delas coletadas na Fazenda da Neblina e uma na Serra das Cabeças. Dos 1254 pb obtidos, 1247 foram detectados como posições conservadas ao longo da sequência, enquanto três posições variaram. Não foi encontrado *locus* com informações parcimoniosas. Apesar do baixo número de sequências de *rag1* na espécie, a rede de haplótipos gerada apontou para a ocorrência de três haplótipos distintos (H1:

MZUFV 1231; H2: MZUFV 1150; H3: MZUFV 1294) (Figura 18).

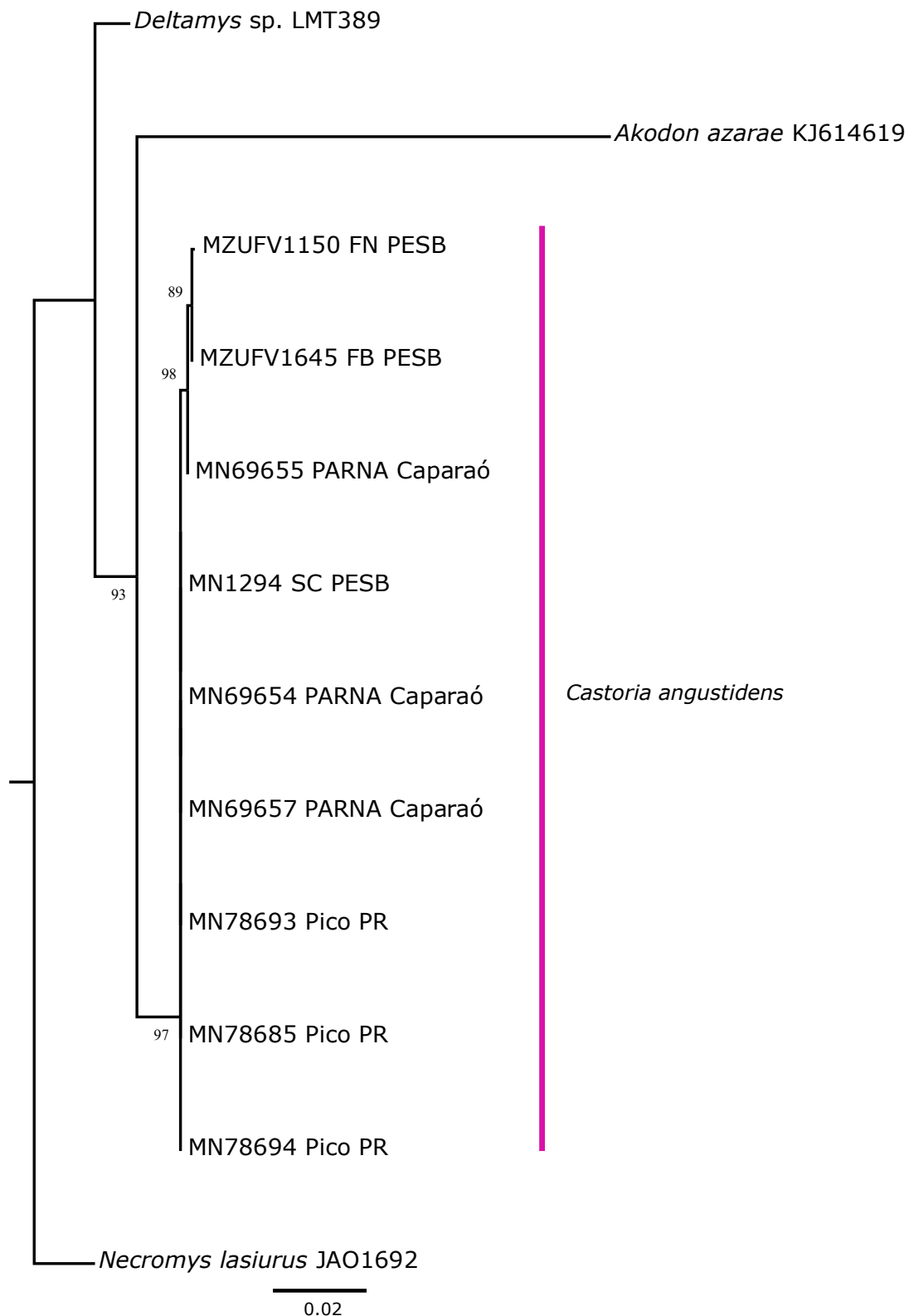


Figura 17: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* a partir da árvore consenso gerada pela Análise de Máxima Verossimilhança do gene *fgb* utilizando o modelo de substituição nucleotídica T92. Os valores dos nós correspondem aos valores de *bootstrap*. A árvore foi enraizada em *Necromys lasiurus*, considerado como grupo externo do clado.



Figura 18: Rede de haplótipos do gene *rag1* de *Castoria angustidens* construída a partir do critério da parcimônia utilizando o método TCS. Cada círculo corresponde a um haplótipo. O tamanho do círculo é proporcional à frequência dos haplótipos ($f=1$) e os traços entre os círculos indicam o número de diferenças entre os mesmos. As cores indicam as diferentes populações dos espécimes sequenciados ao longo da distribuição da espécie: Fazenda da Neblina, PESB (rosa escuro); Serra das Cabeças, PESB (lilás). Os indivíduos estão referenciados com os respectivos números de tombo.

As análises de ML e IB comparando as sequências de *rag1* em *Castoria angustidens* geraram topologias consenso idênticas e com alto suporte estatístico (Figura 19). Esta árvore filogenética não apontou distinções entre os espécimes de *C. angustidens* originando uma politomia. Os gêneros *Necromys* e *Thaptomys* foram alocados como grupos irmãos e como o clado irmão de *Castoria*, diferente do esperado. Isso ocorreu provavelmente em detrimento da ausência de sequências de *rag1* de gêneros como *Thalpomys* e *Deltamys* na análise. As espécies do gênero *Akodon* foram detectadas nas análises como grupo irmão do clado (*Castoria angustidens* + (*Necromys* + *Thaptomys*)). As relações intragênero corroboraram com as topologias já conhecidas (Coyner *et al.* 2013). Não foi possível realizar a análise concatenada entre os genes diante da incompatibilidade de sequências dos mesmos espécimes disponíveis, principalmente para os genes *rag1* e *fgb*, ainda pouco sequenciados para os roedores Akodontíneos.

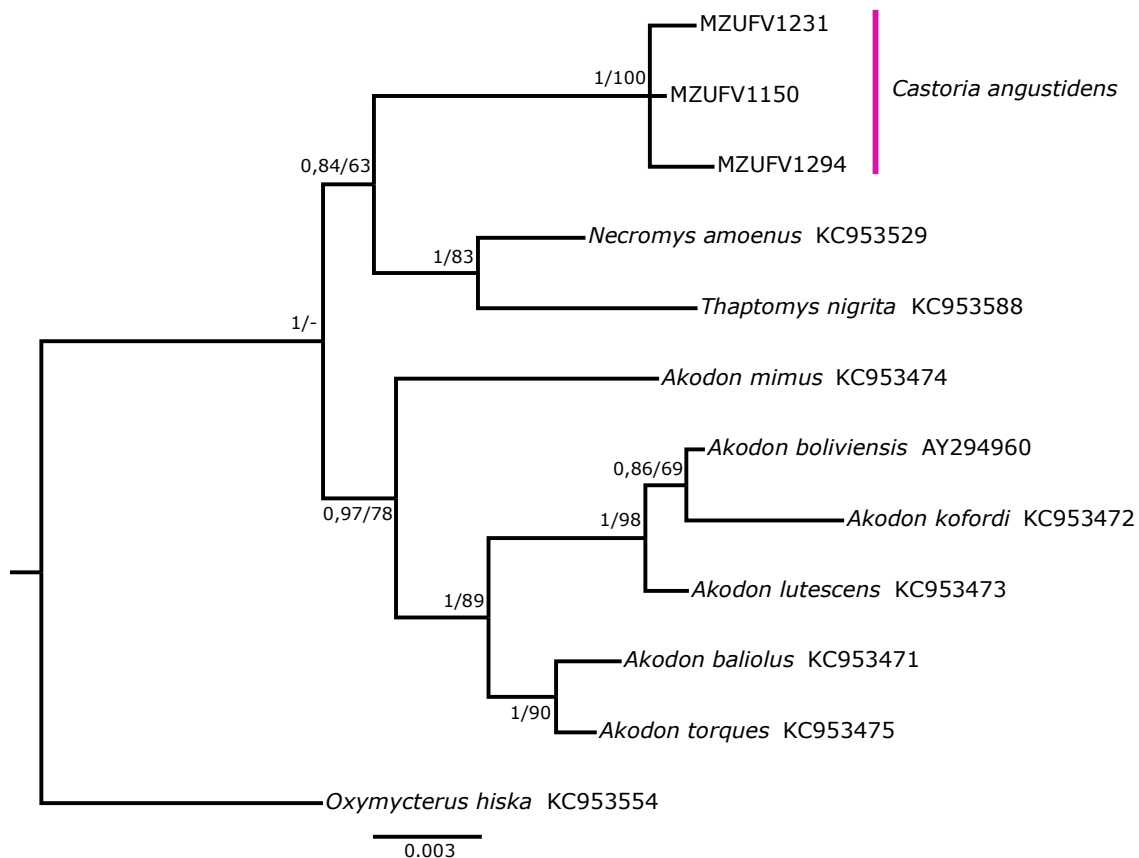


Figura 19: Relações filogenéticas entre os indivíduos da Divisão *Akodon* geradas a partir da árvore consenso da Análise de Máxima Verossimilhança e da Inferência Bayesiana do gene *rag1* utilizando do modelo de substituição nucleotídica K2 + G. Os valores dos nós da árvore correspondem aos valores de *bootstrap* seguidos dos valores de probabilidade posterior. A árvore foi enraizada em *Oxymycterus hiska*, considerado como grupo externo do clado.

DISCUSSÃO

Variação Intrapopulacional

Um dos grandes desafios da biologia é a definição do conceito de espécie diante da diversidade de proposições existentes (número de conceitos > 50). Independente do conceito a ser utilizado, o principal é separar grupos de indivíduos de acordo com suas “descontinuidades”. Para definir esses grupos de “descontinuidades” denominadas espécies é mandatório entender a amplitude de variação intraespecífica do tipo populacional, que pode estar relacionada a ontogenia e/ou dimorfismo sexual, para então verificar a variação do tipo geográfica (e.g.: Marroig 2016). Estudos taxonômicos como

estes são extremamente relevantes em meio a descrições e sinonimizações de inúmeras espécies de roedores sigmodontíneos. O roedor Akodontíneo *Castoria angustidens*, apesar de descrito há mais de um século (Winge 1887; Thomas 1902) não contava com estudos descritivos da espécie propondo uma pesquisa sistemática intrapopulacional e geográfica. Dessa maneira, torna-se relevante o estudo de fontes de variações fenotípicas genéticas e não-genéticas envolvendo respectivamente o sexo (dimorfismo sexual) e a ontogenia (variação etária) (Mayr 1969). Além disso, a utilização de mais de uma fonte de dados, morfológicos e moleculares por exemplo, torna mais robusto a delimitação do conjunto de caracteres que definem a espécie apresentando dados mais fidedignos de sua história evolutiva.

A análise qualitativa da série molar superior de *Castoria angustidens* delimitou, nesse estudo, seis classes etárias com acelerado desgaste das estruturas oclusais ao longo do processo ontogenético. O elevado grau de desgaste das cúspides e lofos pode estar correlacionado a uma dieta composta por itens alimentares abrasivos, como ocorre em outros roedores Akodontíneos (e.g.: Myers 1989). Há poucas informações registradas sobre a alimentação da espécie, que é relatada até o momento, genericamente, como insetívora onívora (Paglia *et al.* 2012). Um experimento testando o consumo alimentar de nove indivíduos da espécie, provenientes do Parque Estadual de Intervales, São Paulo, apontou preferência da espécie por polpas de frutos e sementes pequenos e médios com diâmetro menor que 10 mm (Vieira *et al.* 2003). O fato desses indivíduos de *Castoria* terem consumido os itens vegetais oferecidos não necessariamente reflete a condição em ambiente natural. Além disso, não há trabalhos analisando conteúdo fecal ou estomacal da espécie, os quais forneceriam informações mais precisas e robustas sobre a dieta desses animais.

Diferente das seis classes etárias descritas nesse trabalho, Pardiñas e

colaboradores (2016) determinaram apenas três classes (3, 4 e 5) baseadas em *Zygodontomys* (Voss 1991). O maior número de classes etárias no presente trabalho está provavelmente relacionado ao maior número populacional analisado quando comparado aos anteriores. Quanto maior o número amostral, maior é tendência de se encontrar variações morfológicas. As três classes etárias delimitadas por Pardiñas e colaboradores (2016) (3, 4 e 5) correspondem as idades 3, 4 e 5 descritas nesse trabalho. Assim, nessa nova amostra foram encontrados indivíduos mais jovens delimitando as idades 1 e 2, e indivíduos mais velhos delimitando a idade 6. A detecção do anteroflexo mediano no procíngulo dos molares em classes etárias iniciais (idades 1, 2 e 3) é revelante visto que sua ausência tem sido utilizada como característica dentária apomórfica da espécie (Christoff *et al.* 2000; Pardiñas *et al.* 2015; Pardiñas *et al.* 2016). A ausência de anteroflexo mediano foi utilizada para apontar distinções entre a dentição de *Castoria angustidens* e *Akodon paranaensis* (Christoff *et al.* 2000); para diferenciar *Castoria* de outras espécies do gênero *Akodon* (Pardiñas *et al.* 2015); e como característica diagnóstica da espécie na recente sinonimização (Pardiñas *et al.* 2016). A utilização desta apomorfia em trabalhos prévios pode estar relacionada ao baixo número de indivíduos jovens, indicando a importância do resultado e da amostragem deste estudo.

Outra variação na morfologia dentária encontrada em alguns indivíduos de *Castoria angustidens* foi o enterostilo, sempre reduzido independente da classe etária (MZUFV 510, 541, 638, 1148, 1280, 1299, 1648, 1988, 2463 e 2552). Apesar de descrita por Hershkovitz (1990) como uma característica comum dentre os akodontíneos, o enterostilo não foi descrito para alguns dos gêneros da Divisão *Akodon*: *Deltamys*, *Necromys*, *Thaptomys* e *Podoxymys* (Pérez-Zapata *et al.* 1992). Esta estrutura foi relatada em indivíduos jovens de *Akodon polopi*, um *Akodon* do grupo *boliviensis* (Jayat *et al.* 2010), e no gênero *Thalpomys* (Hershkovitz 1990). Em *Akodon paranaensis*, a estrutura

morfologicamente correspondente, o ectolofídeo, foi detectada no m1 (Christoff *et al.* 2000). Não há informações sobre distinções funcionais no processo mastigatório relacionados a ocorrência desse estilo. De forma geral, o enterostilo pode ser considerado ausente na maioria dos indivíduos de *Castoria*. Sua presença em alguns espécimes foi considerada como uma variação da morfologia dentária ocorrendo em baixa frequência. Além disso, variações morfológicas como estas tendem a aparecer na medida em que o tamanho da amostra aumenta.

O crescimento crânio-mandibular contínuo é comum em roedores (Manduca 2008; Prado & Percequillo 2011; Libardi 2013; Percequillo *et al.* 2017) e, como neste estudo, há sobreposição entre as classes etárias. O crescimento e o desenvolvimento ontogenético do crânio de roedores sigmodontíneos ocorre de maneira distinta quando comparados neurocrânio e viscerocrânio, sendo o último mais influenciado devido a maior correlação morfológica com o processo mastigatório (Zelditch & Carmichael 1989; Hallgrímsson *et al.* 2009; Garcia *et al.* 2014). O neurocrânio, constituído pela caixa craniana e região interorbital, é formado durante o processo pré-natal, finalizando seu desenvolvimento logo após o nascimento dos filhotes e anteriormente à erupção completa da série molar, apresentando crescimento determinado. Dessa maneira, essa porção do crânio é proporcionalmente maior em filhotes e não apresenta variação significativa no restante do processo ontogenético. Distintamente, o viscerocrânio tem maior parte do seu desenvolvimento iniciado quando os indivíduos são jovens, apresentando modificações até seu último estágio de desenvolvimento (Voss 1991). Portanto, alterações morfológicas no tamanho e/ou na forma restritas ao viscerocrânio encontradas em *Castoria angustidens* seguem o mesmo padrão de desenvolvimento encontrado no processo ontogenético de roedores sigmodontíneos.

As mudanças ontogenéticas crânio-mandibulares da população do PESB

indicaram o alongamento antero-posterior e o alargamento do viscerocrânio. A expansão longitudinal do crânio com o envelhecimento dos indivíduos foi observada com o aumento de tamanho do osso nasal (CN), do diastema (DIA) e da placa zigomática (LPZ). Por outro lado, a expansão do crânio em seu eixo transversal foi evidenciada na série ontogenética através de variações de tamanho significativas do rostro (LR), do arco zigomático (LAZ) e do osso palatino (LAE). Expansões das estruturas crânio-mandibulares estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento e ancoramento da musculatura massetérica responsável por mais de 60% do processo mastigatório nos roedores (Turnbull 1970). O conjunto de músculos massetéricos desempenha papel crucial no sucesso adaptativo dos sigmodontíneos na medida em que condiciona um processo de mastigação exclusivo propiciando ao grupo ampla diversidade alimentícia (Cox 2012).

Duas das 23 medidas cranianas, LI e CI, referentes ao osso interparietal, foram removidas tanto das análises de variação etária quanto das de dimorfismo sexual por apresentarem relações inversamente proporcionais (negativas) ao crescimento do crânio mascarando influências de outras medidas no estudo da variação populacional. O entendimento do processo embriológico desse osso em mamíferos é recente (Koyabu *et al.* 2012), e sugere que em roedores o interparietal é formado por quatro elementos, dois mediais e dois laterais. Segundo estes autores, ao longo do processo embriológico os dois elementos mediais fundem entre si e posteriormente se unem aos elementos laterais formando um osso único curto e alongado. Durante esse processo pode ocorrer fusão dos elementos laterais com os ossos supraoccipital e/ou com o próprio parietal. Baseando-se nessa descrição, a variação no tamanho observada nos ossos interparietais de *Castoria angustidens* pode estar relacionada à sobreposição do supraoccipital ao parietal. Entretanto, essa hipótese não se aplicou a este estudo, uma vez que, o osso parietal foi

mensurado ao longo das classes etárias e não apresentou variação.

De acordo com as análises quantitativas dos parâmetros cranianos não foi detectado dimorfismo sexual significativo em *Castoria angustidens*. Quando esse caráter foi analisado dentro de cada uma das classes etárias, foram detectadas pequenas diferenças entre machos e fêmeas nas idades 4 e 5, porém esses indícios não apresentaram suporte estatístico. Apesar da ausência de dimorfismo sexual nessa espécie, é importante testar a variação sexual intraespecífica, visto que alguns estudos da subfamília detectaram dimorfismo. Em *Necromys lasiurus*, por exemplo, foi detectado dimorfismo sexual em duas das cinco classes etárias descritas para a espécie, provavelmente relacionado a algum nível de competição reprodutiva entre machos, usualmente refletindo no tamanho das fêmeas da população (Libardi 2013). Outra ocorrência de variação sexual foi observada em todas as classes etárias analisadas em populações de *Cerradomys subflavus*, um roedor da tribo Oryzomyini (Camardella *et al.* 1998). Entretanto, a diferenciação entre sexos em roedores sigmodontíneos não é comum (Voss 1988). A ausência de dimorfismo sexual na maioria dos sigmodontíneos pode estar relacionada a desvantagem desse tipo de seleção sexual. Em mamíferos, a variação macho-fêmea está correlacionada a espécies de maior porte (Weckerly 1998), sendo fêmeas maiores que machos em resposta ao alto custo energético exigido pela gestação e lactação (Anderson 1994). Independente da seleção sexual ser estimulada a partir da competição por parceiros ou por recursos, variações de tamanho serão detectadas nas fêmeas. E esse aumento de tamanho está, por sua vez, relacionado a diminuição na taxa de fecundidade das fêmeas (Fairban *et al.* 2007). Ao considerarmos a elevada taxa reprodutiva dos pequenos roedores, diminuições da taxa de fecundidade das fêmeas poderiam alterar a taxa de sobrevivência e consequentemente o tamanho e a composição dessas populações. Portanto, o dimorfismo sexual não é evolutivamente vantajoso para a maioria das espécies de roedores Sigmodontinae.

Variação Geográfica

A comparação entre populações de *Castoria angustidens* pertencentes a idade 4 apresentou diferenciações morfológicas capazes de distinguir três grandes grupos. O primeiro grupo foi composto pelas populações maiores em tamanho craniano, restritas ao norte da distribuição da espécie, em Minas Gerais e no Espírito Santo (PARNA Caparaó, PESB e PARNA Itatiaia). Os outros dois grupos, ambos provenientes do Rio de Janeiro, exibiram posição distinta no espaço multivariado sendo formados pela população de Nova Friburgo, com tamanho craniano intermediário, e pela população do PARNASO, contendo as menores métricas cranianas da espécie. As medidas com maior potencial para distinguir as populações foram CPP, SMS e LR, relacionadas a alterações do viscerocrânio, e CMB, componente do neurocrânio. Essas medidas estão associadas, respectivamente, ao aumento de tamanho do osso palatino, da série molar superior, da largura do rosto e do comprimento máximo da bula timpânica. O alongamento longitudinal e alargamento do viscerocrânio estão diretamente relacionados ao aumento da superfície de inserção da musculatura mastigatória dentre os sigmodontíneos. Além disso, essa é a parte do crânio mais susceptível aos processos de seleção natural em mamíferos diante do menor grau de integração morfológica (Garcia *et al.* 2014). As alterações de tamanho na bula timpânica provavelmente não estão relacionadas a capacidade auditiva da espécie, visto que, adaptações morfológicas da bula têm sido geralmente relacionadas a espécies de roedores subterrâneas ou desérticas, que como resultado da expansão timpânica ampliam sua capacidade auditiva de sons de baixa frequência (Burda *et al.* 1990; Mason 2001).

Ao avaliar a diferenciação morfológica entre as populações quando agrupadas nos complexos serranos do bioma Mata Atlântica (Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra do Geral), foi possível separar *Castoria* em três grupos com certo grau de distinção. Os

complexos populacionais serranos apresentaram diferenças tanto nas análises estatísticas quanto no espaço multivariado. De acordo com Straney (1987), modificações na forma de estruturas morfológicas estão relacionadas a diferenciação genética entre populações. Apesar disso, o baixo número amostral do complexo da Serra Geral não permitiu a formulação de hipóteses e/ou afirmações relacionando tamanho e forma aos padrões geográficos.

As localidades registradas para *Castoria* ao longo de sua distribuição indicam que a espécie ocorre majoritariamente em altitudes acima de 800 m, sendo os registros abaixo dessa altitude, raros (Pardiñas *et al.* 2016). O fóssil de *Castoria* foi coletado nos depósitos Quaternários de Lagoa Santa, Minas Gerais, uma região fora da atual distribuição da espécie (Winge 1887). Retrações e expansões marcaram os campos ao longo do Pleistoceno e do Holoceno nesta localidade, enquanto atualmente, a região é um importante ecótono entre a Mata Atlântica e o Cerrado. Tal fato pode indicar que no passado geológico houve conexão entre a região de Lagoa Santa e os campos de altitude e os campos do Brasil Central. Gonçalves e colaboradores (2007) apontaram como indicadores desta conexão, a estreita relação filogenética entre *Akodon mystax* e *A. lindberghi*, e o grande *gap* entre as populações de *A. lindberghi*. Além disso, a alta similaridade entre a flora dos campos de altitude e espécies características do Cerrado também corroborou com essa hipótese (Safford 1999). Dessa maneira, duas hipóteses podem explicar esse panorama. Na primeira, espera-se que o clima e a vegetação do Quaternário favoreceram a expansão da distribuição da espécie atingindo regiões mais baixas, sendo naquela época a Mata Atlântica com distribuição a oeste mais ampla. Como segunda alternativa, supõe-se que a espécie estava presente somente na região de Lagoa Santa e após as mudanças climáticas na transição Pleistoceno/Holoceno refugiou-se em regiões de maior altitude na Mata Atlântica.

A espécie está adaptada a ambientes de altitude ocorrendo em distintas fitofisionomias do bioma atlântico: os campos de altitudes, as florestas ombrófilas densas, e as florestas ombrófilas mistas, conhecidas como Matas de Araucária. Associada a porções abertas de áreas florestadas, essa espécie pode estar relacionada a localidades com maior densidade de espécies da família Bromeliaceae (Abreu & Oliveira 2014). A combinação de um clima mais frio e ameno, encontrado tanto em elevadas altitudes quanto nas Matas de Araucária pode ter favorecido a ocupação da espécie exercendo papel fundamental na sobrevivência e no sucesso reprodutivo de *Castoria angustidens*. Tanto nas florestas ombrófilas mistas ou Matas de Araucária quanto nos campos de altitude das regiões sul e sudeste do Brasil e da província de Misiones na Argentina, é comum a presença de *Araucaria angustifolia*, mais conhecida como pinheiro-do-Paraná, no Brasil, ou Pino de Misiones, na Argentina (Carlucci *et al.* 2011; Souza 2012). Numerosa nas florestas e esparsa nos campos de altitude, essa espécie vegetal é considerada uma importante fonte alimentar para pequenos mamíferos, produzindo seu fruto ao longo de todo ano, cujas sementes são ricas energeticamente (Iob & Vieira 2008). Assim como para *Akodon paranaensis* (Christoff *et al.* 2000), a presença de *Araucaria angustifolia* pode estar correlacionada a ocorrência de *Castoria angustidens* e o pinheiro pode ser um item alimentar crucial na dieta desses akodontíneos. Tanto *C. angustidens* quanto *A. angustifolia* são espécies endêmicas do bioma Mata Atlântica com distribuição restrita a áreas de conservação. Esse fato reforça a relevância da criação, manutenção e ampliação de unidades de conservação em meio a contínua degradação dos biomas neotropicais.

Com a diferenciação da morfologia dos complexos populacionais serranos de *Castoria angustidens*, a possibilidade de diferenciação específica ou subespecífica passa a ser considerada. Porém, essa tomada de decisão não deve ser baseada apenas em caracteres morfológicos, visto que, a distinção morfológica encontrada ao longo da

variação geográfica de uma espécie pode ser consequência da plasticidade fenotípica em resposta às condições ambientais de cada população, expressas através da epigenética (Cheverud 1988).

Ao analisar a variação geográfica, nenhuma alteração crânio-mandibular capaz de diferenciar a subespécie descrita por Miranda-Ribeiro (1905) foi observada no holótipo ou em outros indivíduos no PARNA Itatiaia. Christoff e colaboradores (2000) também não reconheceram a validade da subespécie considerando que está delimitada por apenas um caráter morfológico, uma mancha branca na região da garganta, que pode representar unicamente uma variação anatômica populacional.

Ao comparar a morfologia crânio-mandibular dos complexos populacionais serranos de *Castoria angustidens* com outras espécies da Divisão *Akodon* ficou evidente a não separação da espécie baseada em caracteres morfológicos diante da sobreposição apontada pela análise discriminante e pelas análises estatísticas uni e multivariadas. Os resultados mostraram que *Castoria angustidens* apresenta semelhança de tamanho com *Necomys lasiurus*, diferenciando-se apenas pela forma. De maneira distinta, *Castoria* assemelha-se a *Thaptomys nigrata* quanto a forma, diferindo no quesito tamanho. Todas as medidas relacionadas a essas alterações estão contidas no viscerocrânio dessas espécies. As espécies comparadas do gênero *Akodon* ocorrem em simpatria no PESB e em outras regiões do bioma Mata Atlântica (Moreira *et al.* 2009). A coexistência destas é possível em virtude da partição de recursos principalmente de uso do habitat (Schoener 1974). *Thaptomys nigrata*, por exemplo, é uma espécie semi-fossorial enquanto as outras são espécies cursoriais (Moreira & Oliveira 2011). Por outro lado, *Castoria angustidens* apresenta divisão de nicho altitudinal, não sobrepondo ou com pouquíssima área de sobreposição entre a espécie e outras do gênero *Akodon* presentes no bioma (Moreira *et al.* 2009). Diferente destes, *Necomys lasiurus*, apesar de ser uma espécie cursorial

apresenta segregação comportamental e temporal apresentando picos de atividades ao longo do período diurno ao contrário do esperado para outros akodontíneos (Vieira *et al.* 2005).

Além das informações morfológicas geográficas apontarem para a permanência de *Castoria* como um gênero uniespecífico, dados citogenéticos da literatura provenientes de várias localidades dentro da área de vida da espécie também reforçam esse resultado. Análises citogenéticas de indivíduos provenientes do PARNA Caparaó (Bonvicino *et al.* 2002), do PESB (Moreira *et al.* 2009), de Simonésia (MG), de Nova Friburgo (RJ) (Geise *et al.* 1998), do Paraná (Barros-Battesti *et al.* 1998) e de Santa Catarina (Testoni *et al.* 2012) não apontaram distinções no número cromossômico e no número fundamental ao longo da distribuição de *C. angustindes* ($2n=46$, $FN=46$).

As análises moleculares desse akodontíneo complementaram e concatenaram mais dados sobre a história de vida, a taxonomia e a biogeografia da espécie. A maioria das relações filogenéticas estabelecidas dentre os roedores sigmodontíneos tem se embasado nos genes *cytb* e *irbp* (Smith & Patton *et al.* 1999; D'Elia 2003; D'Elia *et al.* 2003; Weksler 2003; Martinez *et al.* 2012; Alvarado-Serrano & D'Elia 2013; Salazar-Bravo *et al.* 2016), sendo escassos os estudos com abordagem *multiloci* (Vilela *et al.* 2013; Pardiñas *et al.* 2015; Prado & Percequillo 2017). O presente estudo utilizou três genes com características distintas, o *cytb* (gene mitocondrial), o *rag1* (éxon) e o *fgb* (íntron), buscando abranger diferentes aspectos da história evolutiva da espécie.

Em mamíferos, o *cytb* tem sido utilizado na caracterização genética populacional e como indicador do nível de divergência interespecífico (Baker & Bradley 2006). Ao avaliar as redes de haplótipos geradas por esse gene, foi detectado fluxo gênico entre o PESB e o PARNA Caparaó, e entre o Paraná e Santa Catarina. As topologias geradas delimitaram três clados distintos: dois ao norte da distribuição da espécie, englobando as

populações da Serra da Mantiqueira e as populações ao norte da Serra do Mar, e outro ao sul formado pelas populações do sul da Serra do Mar e da Serra Geral.

O íntron *fgb* tem sido utilizado em filogenias de mamíferos desde 2003 (Wickliffe *et al.* 2003). O presente estudo foi o primeiro a utilizar o *fgb* em Akodontíneos. Até o momento, o gene foi empregado como ferramenta sistemática das tribos Sigmodontini (Carroll & Bradley 2005), Oryzomyini (Agrellos *et al.* 2012; Machado *et al.* 2013; Weksler *et al.* 2017) e Abrotrichini (Palma *et al.* 2010; Cañón *et al.* 2014; Teta *et al.* 2016). Diante disso, a única sequência de akodontíneo disponível no *genbank* encontrada foi de *Akodon azarae* (Cañón *et al.* 2014). A árvore obtida com as sequências geradas pelo presente estudo não funcionou como ferramenta eficiente a nível específico, somente a nível genérico. Apesar do gene apresentar taxas de mutação menores, este resultado foi diferente daqueles encontrados em outras tribos de Sigmodontíneos em que foi ferramenta importante na determinação de espécies (Carroll & Bradley 2005; Machado *et al.* 2013; Weksler *et al.* 2017). Dessa maneira, o íntron *fgb* pode não funcionar como ferramenta filogenética eficiente a nível específico para a tribo Akodontini.

Não foi possível verificar a estrutura geográfica de *Castoria* com base no éxon *rag1*, visto que somente sequências do PESB foram obtidas nesse trabalho. O único estudo anterior utilizando *rag1* em akodontíneos sequenciou, dentre outros sigmodontíneos, oito gêneros akodontíneos, dos quais três pertencem a Divisão *Akodon*: *Akodon*, *Necromys* e *Thaptomys* (Schenk *et al.* 2013). Estudos semelhantes utilizaram esse éxon em uma abordagem macroevolutiva focando na sistemática da tribo Phyllotini (Steppan *et al.* 2005, 2007; Carrizo & Catalano 2015; Lanzone *et al.* 2016). Apesar da baixa frequência de sequências da tribo Akodontini, o *rag1* apresentou maior estruturação genética quando comparado ao *fgb*. Entretanto, um maior número amostral das sequências dessa espécie nas análises, caracterizaria melhor a funcionalidade desses

genes na estruturação geográfica. Esse número foi limitado devido a problemas metodológicos no PCR. Portanto, é necessário a criação de protocolos de amplificação mais eficientes desse éxon para os akodontíneos, buscando melhorar a qualidade das sequências obtidas e aumentar a amostragem da tribo, permitindo assim, ampliação das contribuições na história evolutiva a partir desse gene.

Similaridades morfológicas alocavam *Castoria angustidens* como uma espécie do gênero *Akodon* (Reig 1987), e nas análises moleculares, a espécie era alocada como o grupo mais basal do gênero *Akodon* (Geise *et al.* 2001; Smith & Patton 2007; Hass *et al.* 2008; Coyner *et al.* 2013; Vilela *et al.* 2013). Com o trabalho de D'Elia (2003), o posicionamento filogenético do gênero *Castoria* passou a ser discutido visto que análises moleculares de parcimônia indicaram a saída da espécie do ramo monofilético de *Akodon*, posicionando-a como grupo irmão de *Thaptomys nigrita*. Os resultados desta análise de parcimônia indicaram o ramo *Thaptomys* + *Castoria* como válido, porém este não foi estatisticamente suportado, apresentando baixo valor de *jackknife* (< 50%) e bremer suporte (b = 1). Abreu e colaboradores (2014) apontaram *Castoria* como grupo irmão do clado *Akodon* + *Deltamys*. Apesar de nenhum trabalho visando o posicionamento filogenético dessa espécie ter sido realizado, vários estudos incluíram sequências de *Castoria* apontando-o como grupo irmão de *Deltamys* (Silva *et al.* 2006; Gonçalves *et al.* 2007; Alvarado-Serrano & D'Elia 2013; Ventura *et al.* 2013; Leite *et al.* 2015). O presente estudo confirmou essa relação com bom suporte estatístico para o gene *cytb*.

O estudo morfológico e molecular das populações de *Castoria angustidens* apesar de robusto, necessita de ampliação amostral no extremo sul e no oeste de sua distribuição para melhor caracterizar o comportamento e o nível de interação morfológica entre essas áreas de ocorrência da espécie.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao considerar os parâmetros morfológicos utilizados nesse trabalho, o estudo intrapopulacional de *Castoria angustidens* delimitou classes etárias caracterizando presença de variação etária qualitativa (6 idades) e quantitativa (5 idades), e ausência de dimorfismo sexual. Não ocorreu dimorfismo sexual dentro das classes etárias. Ao longo da distribuição geográfica da espécie foram detectadas variações morfológicas capazes de delimitar três grupos distintos, sendo eles formados por populações dos complexos serranos da Serra da Mantiqueira, da Serra do Mar e da Serra Geral. Dentre as espécies da Divisão *Akodon* pertencentes à Mata Atlântica, os caracteres morfológicos utilizados não permitiram diferenciar os complexos populacionais de *C. angustidens* a nível específico. *Thaptomys nigrata* pode ser distinguido de *C. angustidens* a partir do menor tamanho; enquanto *Necromys lasiurus* foi diferenciado de ambos a partir do tamanho e formato das estruturas cranianas relacionadas ao viscerocrânio. As análises moleculares do gene *cytb* indicaram a existência de fluxo gênico entre as populações do PARNA Caparaó e PESB, e do Paraná e Santa Catarina. A formação de grupos distintos, tanto morfológicos quanto moleculares, pode indicar processos de isolamento geográfico entre as populações. Entretanto, as evidências continuam apontando para a manutenção de *Castoria* como um gênero uniespecífico. Além disso, o *cytb* alocou *Castoria angustidens* como grupo irmão do gênero *Deltamys*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. S., Christoff, A. U., Valiati, V. H., & de Oliveira, L. R. 2014. New distribution records of Serra do Mar Grass Mouse *Akodon serrensis* Thomas, 1902 (Mammalia: Rodentia: Sigmodontinae) in the southernmost Brazil. *Check List* 10:655-659.
- Abreu, M. S., & Oliveira, L. R. 2014. Patterns of arboreal and terrestrial space use by non-volant small mammals in an Araucaria forest of southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86:807-819.
- Agrellos, R., Bonvicino, C. R., Rosa, E. S. T., Marques, A., D'Andrea, P. S. & Weksler, M. 2012. The taxonomic status of the Castelo dos Sonhos hantavirus reservoir, *Oligoryzomys utiaritensis* Allen 1916 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae). *Zootaxa*, 3220(1):1-28.
- Alvarado-Serrano, D. F., & D'Elía, G. 2013. A new genus for the Andean mice *Akodon latebricola* and *A. bogotensis* (Rodentia: Sigmodontinae). *Journal of Mammalogy* 94:995-1015.
- Anderson, S. 1994. Area and endemism. *The quarterly review of biology*, 69(4):451-471.
- Atkinson, A.C. 1985. Plots, transformations and regression: an introduction to graphical methods of diagnostic regression. Oxford, Oxford Science Publications.
- Baker, R. J. & Bradley, R. D. 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of mammalogy*, 87(4):643-662.
- Barros-Battesti, D. M., Arzua, M., Linardi, P. M., Botelho, J. R., & Sbalqueiro, I. J. 1998. Interrelationship between ectoparasites and wild rodents from Tijucas do Sul, State of Paraná, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93:719-725.
- Barrett, M. J., Donoghue, M. J., & Sober, E. 1991. Against consensus. *Systematic Zoology* 40:486-493.
- Bezerra, A. M., & Filho, J. M. 2010. Variabilidade intrapopulacional em caracteres cranianos de *Galea spixii* (Wagler, 1831) (Rodentia, Caviidae, Caviinae) no nordeste do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional* 68:111-124.
- Bonvicino, C. R., Lindbergh, S. M., & Maroja, L. S. 2002. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic Forest and Cerrado: comments on their potencial use for monitoring environment. *Brazilian Journal of Biology* 62:765-774.
- Bonvicino, C. R., Oliveira, J. D., & D'Andrea, P. S. 2008. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS.
- Bonvicino, C. R., Gonçalves, P. R., de Oliveira, J. A., de Oliveira, L. F. B., & Mattevi, M. S. 2009. Divergence in *Zygodontomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and distribution of Amazonian savannas. *Journal of Heredity* 100:322-328.

- Burda, H., Nevo, E. & Bruns, V. 1990. Adaptive differentiation of ear structures in subterranean mole-rats of the *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere*, 117(3):369-382.
- Camardella, A. R., Pessôa, L. M. & Oliveira, J. A. 1998. Sexual dimorphism and age variability in cranial characters of *Oryzomys subflavus* (Wagner, 1842) (Rodentia: Sigmodontinae) from northeastern Brazil. *Bonner Zoologische Beiträge*, 48:9-18.
- Cañón, C., Mir, D., Pardiñas, U. F., Lessa, E. P. & D'Elía, G. 2014. A multilocus perspective on the phylogenetic relationships and diversification of rodents of the tribe Abrotrichini (Cricetidae: Sigmodontinae). *Zoologica Scripta*, 43(5):443-454.
- Carlucci, M. B., Jarenkow, J. A., Duarte, L. D. S. & Pillar, V. D. 2011. Conservação da Floresta com Araucária no extremo sul do Brasil. *Natureza & Conservação*, 9, 111-114.
- Carroll, D. S. & Bradley, R. D. 2005. Systematics of the genus *Sigmodon*: DNA sequences from beta-fibrinogen and cytochrome b. *The Southwestern Naturalist*, 50(3):342-349.
- Carrizo, L. V. & Catalano, S. A. 2015. First phylogenetic analysis of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae) combining morphological and molecular data. *Cladistics*, 31(6):593-620.
- Cheverud, J. M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution*, 958-968.
- Clavel, J., Merceron, G., & Escarguel, G. 2013. Missing data estimation in morphometrics: how much is too much?. *Systematic biology* 63:203-218.
- Clement, M., Posada, D. C. K. A., & Crandall, K. A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9:1657-1659.
- Coutinho, L. C., de Oliveira, J. A., & Pessoa, L. M. 2013. Morphological variation in the appendicular skeleton of atlantic forest sigmodontine rodents. *Journal of morphology* 274:779-792.
- Cox, P. G., Rayfield, E. J., Fagan, M. J., Herrel, A., Pataky, T. C. & Jeffery, N. 2012. Functional evolution of the feeding system in rodents. *PLoS One*, 7(4):e36299.
- Coyner, B. S., Braun, J. K., Mares, M. A. & Bussche, R. A. 2013. Taxonomic validity of species groups in the genus *Akodon* (Rodentia, Cricetidae). *Zoologica Scripta*, 42(4):335-350.
- 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* 81:838-851.
- Da Silva, M. N. F., & Patton, J. L. 1998. Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. *Molecular Ecology* 7:475-486.

Dempster, A. P., Laird, N. M., Rubin, D. B. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 39:1- 38.

D'Elía, 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'Elía, G., González, E. M., & Pardiñas, U. F. J. 2003. Phylogenetic analysis of sigmodontine rodents (Muroidea), with special reference to the akodont genus *Deltamys*. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* 68:351-364.

D'Elía, G., Pardiñas, U. F., Teta, P., & Patton, J. L. 2007. Definition and diagnosis of a new tribe of sigmodontine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae), and a revised classification of the subfamily. *Gayana* 71:187-194.

D'Elía, G., & Pardiñas, U. F. J. 2015. Subfamily Sigmodontinae Wagner, 1843. Pp. 229-249 in *Mammals of South America, Volume 2: Rodents*. University of Chicago Press.

D'Elía, G., & Pardiñas, U. F. J. 2015. Tribe Akodontini Vorontsov 1959. Pp. 462-883 in *Mammals of South America, Volume 2: Rodents*. University of Chicago Press.

Diório, D. G. 2014. Análise da espécie *Bibimys labiosus* (Winge 1887) (Rodentia, Sigmodontinae) ao longo da sua distribuição geográfica no Brasil. M.S. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Donoghue, M. J., & Sanderson, M. J. 1992. The suitability of molecular and morphological evidence in reconstructing plant phylogeny. Pp. 340-368 in *Molecular systematics of plants*. Springer US.

Fabre, P. H., Hautier, L., Dimitrov, D., & Douzery, E. J. 2012. A glimpse on the pattern of rodent diversification: a phylogenetic approach. *BMC Evolutionary Biology* 12:1-19.

Fairbairn, D. J., Blanckenhorn, W. U. & Székely, T. (eds.). 2007. Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. Oxford University Press.

Fox, J., Bouchet-Valat, M. 2017. Rcmdr: R Commander. R package version 2.3-2.

Frunk, D. J., Futuyma, D. J., Orti, G., & Meyer, A. 1995. Mitochondrial DNA sequences and multiple data sets: a phylogenetic study of phytophagous beetles (Chrysomelidae: Ophraella). *Molecular Biology and Evolution* 12:627-640.

Garcia, G., Hingst-Zaher, E., Cerqueira, R. & Marroig, G. 2014. Quantitative genetics and modularity in cranial and mandibular morphology of *Calomys expulsus*. *Evolutionary Biology*, 41(4):619-636.

Geise, L., Canavez, F. C. & Seuánez, H. N. 1998. Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from Southeastern Brazil. *Journal of Heredity*, 89(2):158-163.

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* 82:92-101.

Geise, L., Pereira, L. G., Bossi, D. E. P., & Bergallo, H. G. 2004. Pattern of elevational distribution and richness of non volant mammals in Itatiaia National Park and its surroundings, in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 64:599-612.

Geise, L., De Moraes, D. A., & Da 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* 63:63-74.

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. *Museum of Zoology, University of Michigan* 197:1-24.

Goncalves, P. R., & De Oliveira, J. A. 2014. An integrative appraisal of the diversification in the Atlantic forest genus *Delomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) with the description of a new species. *Zootaxa* 3760:1-38.

Hallgrímsson, B., Jamniczky, H., Young, N. M., Rolian, C., Parsons, T. E., Boughner, J. C. & Marcucio, R. S. 2009. Deciphering the palimpsest: studying the relationship between morphological integration and phenotypic covariation. *Evolutionary biology*, 36(4):355-376.

Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4:1-9.

Hass, I., Sbalqueiro, I. J., & Müller, S. 2008. Chromosomal phylogeny of four Akodontini species (Rodentia, Cricetidae) from Southern Brazil established by Zoo-FISH using *Mus musculus* (Muridae) painting probes. *Chromosome Research* 16:75-88.

Hershkovitz, P. 1990. The Brazilian rodent genus *Thalpomys* (Sigmodontinae, Cricetidae) with a description of a new species. *Journal of Natural History*, 24(3):763-783.

Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual review of Ecology and Systematics* 18:23-42.

Honaker, J., King, G., & Blackwell, M. 2011. Amelia II: A program for missing data. *Journal of Statistical Software* 45:1-47.

Instituto Estadual de Florestas. 2007. Plano de Manejo do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. 2007. Disponível em 17/01/2017: <http://www.ief.mg.gov.br/areas-protegidas/gestao/1712-plano-de-manejo-parque-estadual-serra-do-brigadeiro>.

Iob, G. & Vieira, E. M. 2008. Seed predation of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) in the Brazilian Araucaria Forest: influence of deposition site and comparative role of small and 'large' mammals. *Plant Ecology*, 198(2):185-196.

Jayat, J. P., Ortiz, P. E., Salazar-Bravo, J., Pardiñas, U. F. J. & D'Elía, G. 2010. The

Akodon boliviensis species group (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) in Argentina: species limits and distribution, with the description of a new entity. *Zootaxa*, 2409:1-61.

Köppen, W. & Geiger, R. 1939. *Handuch der Klimatologie*, Berlin: G. Borntraeger. 6v.

Koyabu, D., Maier, W. & Sánchez-Villagra, M. R. 2012. Paleontological and developmental evidence resolve the homology and dual embryonic origin of a mammalian skull bone, the interparietal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(35):14075-14080.

Lanzone, C., Cardozo, D., Sánchez, D. M., Martí, D. A. & Ojeda, R. A. 2016. Chromosomal variability and evolution in the tribe Phyllotini (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). *Mammal Research*, 61(4):373-382.

Leite, Y. L., Kok, P. J., & Weksler, M. 2015. Evolutionary affinities of the ‘Lost World’ mouse suggest a late Pliocene connection between the Guiana and Brazilian shields. *Journal of Biogeography* 42:706-715.

Lessa, E. P., Cook, J. A., D'Elia, G., & Opazo, J. C. 2014. Rodent diversity in South America: transitioning into the genomics era. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2:1-39.

Lessels, C. M., & Boag, P. T. 1987. Unrepeatable repeatabilities: a common mistake. *The Auk* 104:116-121.

Liascovich, R. C., & Reig, O. A. 1989. Low chromosomal number in *Akodon cursor montensis* Thomas, and karyologic confirmation of *Akodon serrensis* Thomas in Misiones, Argentina. *Journal of Mammalogy* 70:391-395.

Libardi, G. S. 2013. Variação não-geográfica em *Necomys lasiurus* (Lund, 1840) (Cricetidae: Sigmodontinae) no Brasil. M.S. Dissertação, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Machado, L. F., Leite, Y. L., Christoff, A. U. & Giugliano, L. G. 2014. Phylogeny and biogeography of tetralophodont rodents of the tribe Oryzomyini (Cricetidae: Sigmodontinae). *Zoologica Scripta*, 43(2):119-130.

Manduca, E. G. 2008. Estudo das variações morfológica craniana e citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia: Sigmodontinae) no Estado de Minas Gerais. M.S. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Martínez, J. J., Ferro, L. I., Mollerach, M. I. & Barquez, R. M. 2012. The phylogenetic relationships of the Andean swamp rat genus *Neotomys* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae) based on mitochondrial and nuclear markers. *Acta Theriologica*, 57(3):277-287.

Mason, M. J. 2001. Middle ear structures in fossorial mammals: a comparison with non-fossorial species. *Journal of Zoology*, 255(4):467-486.

Massoia, E. 1964. Sistemática, distribución geográfica y rasgos etoecológicos de *Akodon (Deltamys) kempii* (Rodentia: Cricetidae). *Physis*, 24:299-305.

- Mayr, E. 1969. Principles of systematic zoology. McGraw-Hill Inc., New York.
- Myers, P. 1989. A preliminary revision of the varius group of *Akodon* (*A. dayi*, *dolores*, *molinae*, *neocen*, *simulator*, *toba* and *varius*). Advances in Neotropical Mammalogy, 5-54.
- McKenna, M. C., & S. K. Bell. 1997. Classification of Mammals above the species level. New York: Columbia University Press.
- Miller, L. M., & S. Anderson. 1977. Bodily proportions of Uruguayan Myomorph Rodents. American Museum Novitates 2615:1–10.
- Minitab, I. 2013. MINITAB Statistical software. Minitab Release 17.1.0.
- Miranda-Ribeiro, A. 1905. Vertebrados de Itatiaia. Archivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro, 13:165-190.
- Moraes, L. B. D., Bossi, D. E. P., & Linhares, A. X. 2003. Siphonaptera parasites of wild rodents and marsupials trapped in three mountain ranges of the Atlantic Forest in Southeastern Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 98:1071-1076.
- Moreira, J. C., Manduca, E. G., Gonçalves, P. R., Morais Jr, M. D., Pereira, R. F., Lessa, G., & Dergam, J. A. 2009. Small mammals from Serra do Brigadeiro State Park, Minas Gerais, southeastern Brazil: species composition and elevational distribution. Arquivos Museu Nacional 67:103-118.
- Moreira, J. C. & de Oliveira, J. A. 2011. Evaluating diversification hypotheses in the South American cricetid *Thaptomys nigrita* (Lichtenstein, 1829) (Rodentia: Sigmodontinae): an appraisal of geographical variation based on different character systems. Journal of Mammalian Evolution, 18(3):201-214.
- Musser, G. G. 1979. The species of *Chiropodomys*, arboreal mice of Indochina and the Malay Archipelago. Bulletin of the American Museum of Natural History 162:381-445.
- Musser, G. G., & Carleton, M. D. 1993. Mammal species of the world, 2d ed. Washington and London: Smithsonian Institution Press.
- Myers, P., J. L. Patton, and M. F. Smith. 1990. A review of the boliviensis group of *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae), with emphasis on Peru and Bolivia. Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan 177:1–104.
- Olifiers, N., Cunha, A. A., Grelle, C. E. V., Bonvicino, C. R., Geise, L., Pereira, L. G., Vieira, M. V., D'Andrea, P. S. & Cerqueira, R. 2007. Lista de espécies de pequenos mamíferos não-voadores do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. Pp. 183-192 in Ciência e Conservação na Serra dos Órgãos (C. Cronemberger and E. B. V. de Castro, eds.). IBAMA Press, Brasília, Distrito Federal, Brasil.
- Palma, R. E., Cancino, R. A., & Rodríguez-Serrano, E. 2010. Molecular systematics of *Abrothrix longipilis* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) in Chile. Journal of Mammalogy, 91(5):1102-1111.

Paglia, A. P., Fonseca, G. D., Rylands, A. B., Herrmann, G., Aguiar, L. M. S., Chiarello, A. G., & Patton, J. L. 2012. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. Occasional Papers in Conservation Biology 6:1-76.

Pardiñas, U. F., Lessa, G., Teta, P., Salazar-Bravo, J., & Câmara, E. M. 2014b. A new genus of sigmodontine rodent from eastern Brazil and the origin of the tribe Phyllotini. Journal of Mammalogy 95:201-215.

Pardiñas, U. F., Teta, P., & Salazar-Bravo, J. 2015. A new tribe of sigmodontinae rodents (Cricetidae). Mastozoología Neotropical 22:171-186.

Pardiñas, U. F. J., Teta, P., Alvarado-Serrano, D., Geise, L., Jayat, J. P., Ortiz, P. E., Gonçalves, P. R., & D'Elia, G. 2015. Genus *Akodon* Meyen, 1833. Pp. 475-654 in Mammals of South America, Volume 2: Rodents. University of Chicago Press.

Pardiñas, U. F., Geise, L., Ventura, K., & Lessa, G. 2016. A new genus for *Habrothrix angustidens* and *Akodon serrensis* (Rodentia, Cricetidae): again paleontology meets neontology in the legacy of Lund. Mastozoología Neotropical 23:93-115.

Patterson, B. D. 1992. A new genus and species of long-clawed mouse (Rodentia: Muridae) from temperate rainforests of Chile. Zoological Journal of the Linnean Society 106:127-145.

Patton, J. L., Pardiñas, U. F., & D'Elia, G. (Eds.). 2015. *Mammals of South America, Volume 2: Rodents*. University of Chicago Press.

Percequillo, A. R., Hingst-Zaher, E., & Bonvicino, C. R. 2008. Systematic review of genus *Cerradomys* Weksler, Percequillo and Voss, 2006 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae: Oryzomyini), with description of two new species from eastern Brazil. American Museum Novitates 3622:1-46.

Percequillo, A. R., Braga, C. A. D. C., Brandão, M. V., Abreu-Júnior, E. F. D., Gualda-Barros, J., Lessa, G. M., Pires, M. R. S. & Hingst-Zaher, E. 2017. The genus *Abrawayomys* Cunha and Cruz, 1979 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae): geographic variation and species definition. Journal of Mammalogy, 98(2):438-455.

Pérez-Zapata, A., Lew, D., Aguilera, M. & Reig, O. A. 1992. New data on the systematics and karyology of *Podoxymys roraimae* (Rodentia, Cricetidae). Zeitschrift für Säugetierkunde, 57(4):216-224.

Prado, J. R. & Percequillo, A. R. 2011. Ontogenetic and sexual variation in cranial characters of *Aegialomys xantheolus* (Thomas, 1894) (Cricetidae: Sigmodontinae) from Ecuador and Peru. Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo), 51(9):155-177.

Prado, J. R. & Percequillo, A. R. 2017. Systematic studies of the genus *Aegialomys* Weksler et al., 2006 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae): geographic variation, species delimitation, and biogeography. Journal of Mammalian Evolution, 1-48.

Prychitko, T. M., & Moore, W. S. 1997. The utility of DNA sequences of an intron from the β -fibrinogen gene in phylogenetic analysis of woodpeckers (Aves:

Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8:193-204.

Raboni, S. M., Delfraro, A., de Borba, L., Teixeira, B. R., Stella, V., de Araujo, M. R., Carstensen, S., Rubio, G., Maron, A., Lemos, E. R. S., D'Andrea, P. S. & dos Santos, C. N. D. 2012. Hantavirus infection prevalence in wild rodents and human anti-hantavirus serological profiles from different geographic areas of South Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 87:371-378.

Reig, O. A. 1977. A proposed unified nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). *Journal of Zoology* 181:227-241.

Reig, O. A. 1980. A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *Journal of Zoology* 192:257-281.

Reig, O. A. 1987. An assessment of the systematics and evolution of the Akodontini, with the description of new fossil species of *Akodon* (Cricetidae: Sigmodontinae). Pp. 346-399 in *Studies in Neotropical mammalogy: essay in honor of Philip Hershkovitz* (B. D. Patterson & R. M. Timm, eds.). Fieldiana: Zoology (New Series) 39:346-399.

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.

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*, 83:333-344.

Reis, N. R., Peracchi, A. L., Pedro, W. A. & Lima, I. P. 2011. *Mamíferos do Brasil*. 2ª Edição. Nélío R. dos Reis, Londrina.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542.

Safford, H. D. 1999. Brazilian Páramos I. An introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. *Journal of Biogeography*, 26(4):693-712.

Salazar-Bravo, J., Pardiñas, U. F. J., Zeballos, H., & Teta, P. 2016. Description of a new tribe of Sigmodontine Rodents (Cricetidae: Sigmodontinae) with an updated summary of valid tribes and their generic contents. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University* 338:1-23.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning*. New York: Cold spring harbor laboratory press.

Schenk, J. J., Rowe, K. C., & Steppan, S. J. 2013. Ecological opportunity and incumbency in the diversification of repeated continental colonizations by muroid rodents. *Systematic Biology* 62:837-864.

Schoener, T. W. (1974). Resource partitioning in ecological communities. *Science*, 185(4145):27-39.

Silva, M. J. D. J., Patton, J. L. & Yonenaga-Yassuda, Y. 2006. Phylogenetic relationships and karyotype evolution in the sigmodontine rodent *Akodon* (2n= 10 and 2n= 16) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 29(3):469-474.

Silveira, F., Sbalqueiro, I.J. & Monteiro-Filho, E.L.A. 2013. Identification of the brazilian species of *Akodon* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) through the microstructure of the hair. *Biota Neotropica* 13:339-345.

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* 50:149-177.

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

Smith, M. F., & Patton, J. L. 2007. Molecular phylogenetics and diversification of South American grass mice, genus *Akodon*. Pp. 827-858 in *The quintessential naturalist: honoring the life and legacy of Oliver P. Pearson (DA Kelt, EP Lessa, JA Salazar-Bravo y JL Patton, eds.)*. University of California Publications in Zoology.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30:1312-1313.

Steadman, D. W., & Ray, C. E. 1982. The Relationships of *Megaoryzomys curioi*, an Extinct Cricetine Rodent (Muroidea: Muridae) from the Galapagos Islands, Ecuador. *Smithsonian Contributions to Paleobiology* 51:1-23.

Steppan, S. J., Adkins, R. M., Spinks, P. Q. & Hale, C. 2005. Multigene phylogeny of the Old World mice, Murinae, reveals distinct geographic lineages and the declining utility of mitochondrial genes compared to nuclear genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 37(2):370-388.

Steppan, S. J., Ramirez, O., Banburry J., Huchon, D., Pacheco, V., Walker, L. & Spotorno, A. E. 2007. A molecular reappraisal of the systematics of the leaf-eared mice *Phyllotis* and their relatives. *University of California Publications in Zoology*, 134:799-826.

Straney, D. O. 1978. Variance partitioning and nongeographic variation. *Journal of Mammalogy*, 59(1):1-11.

Strauss, R. 2010. Discriminating groups of organisms. Pp. 73-93 in Elewa, A. M. T. (Ed) *Morphometrics for Nonmorphometricians*, Springer, New York.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725-2729.

Team, R. 2016. RStudio: integrated development for R. *RStudio, Inc., Boston, MA*. URL <http://www.RStudio.com/ide>.

Teixeira, B. R., Loureiro, N., Strecht, L., Gentile, R., Oliveira, R. C., Guterres, A., Fernandes, J., Mattos, L. H. B. V., Raboni, S. M., Rubio, G., Bonvicino, C. R., dos Santos, C. N. D., Lemos, E. R. S., & D'Andrea, P. S. 2014. Population Ecology of Hantavirus Rodent Hosts in Southern Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91:249-257.

Testoni, A. F., Fumis, J., Althoff, S. L., Tortato, F. R., & Cherem, J. J. 2012. *Akodon serrensis* Thomas, 1902 (Mammalia: Rodentia: Sigmodontinae): Records in Santa Catarina state, southern Brazil. *Check List* 8:1344-1346.

Teta, P., Pardiñas, U. F. J., & D'Elia, G. 2015. Genus *Thaptomys* Thomas 1916. Pp. 875-883 in *Mammals of South America, Volume 2: Rodents*. University of Chicago Press.

Teta, P., Cañón, C., Patterson, B. D. & Pardiñas, U. F. 2017. Phylogeny of the tribe Abrotrichini (Cricetidae, Sigmodontinae): integrating morphological and molecular evidence into a new classification. *Cladistics*, 33(2):153-182.

Thomas, O. 1902. On mammals from the Serra do Mar of Paraná, collected by Mr. Alphonse Robert. *Annals and Magazine of Natural History* 7:59–64.

Thomas, O. 1916. XL.—The grouping of the South-American Muridae commonly referred to *Akodon*. *Journal of Natural History*, 18(106):336-340.

Turnbull, W. D. 1970. Mammalian masticatory apparatus. *Fieldiana Geol.*, 18:149-356.

Ventura, K., Yonenaga-Yassuda, Y., & Ferguson-Smith, M. A. 2012. Variable patterns of Y chromosome homology in Akodontini rodents (Sigmodontinae): a phylogenetic signal revealed by chromosome painting. *Chromosome Research* 20:427-433.

Ventura, K., Silva, M. J. J., Geise, L., Leite, Y. L., Pardiñas, U. F., Yonenaga-Yassuda, Y., & D'Elia, G. 2013. The phylogenetic position of the enigmatic Atlantic forest-endemic spiny mouse *Abrawayaomys* (Rodentia: Sigmodontinae). *Zoological Studies* 52:1-10.

Vieira, E. M., Pizo, M. & Izar, P. 2003. Fruit and seed exploitation by small rodents of the Brazilian Atlantic forest. *Mammalia* 67:533-539.

Vieira, E. M., Iob, G., Briani, D. C. & Palma, A. R. T. 2005. Microhabitat selection and daily movements of two rodents (*Necomys lasiurus* and *Oryzomys scotti*) in Brazilian Cerrado, as revealed by a spool-and-line device. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 70(6):359-365.

Vilela, J. F., Mello, B., Voloch, C. M. & Schrago, C. G. 2013. Sigmodontine rodents diversified in South America prior to the complete rise of the Panamanian Isthmus. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 52(3):249-256.

Vorontzov, N. N. 1959. The system of the hamster (Cricetinae) in the sphere of the world fauna and their phylogenetic relations. *Biuletin Moskovskogo Obshtchestva Ispitatelnykh*

Prirody, Otdel Biologia 64:134-137.

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 188:262-493.

Voss, R. S. 1991. On the identity of "*Zygodontomys punctulatus* (Rodentia, Muroidea). American Museum Novitates 3026:1-113.

Wagner, J. A. 1843. Die Säugethiere in Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen von Dr. Johann Christian Daniel von Schreber. Suppl. 3:1-614.

Weckerly, F. W. 1998. Sexual-size dimorphism: influence of mass and mating systems in the most dimorphic mammals. Journal of Mammalogy, 79(1):33-52.

Weksler, M. 2003. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. Molecular Phylogenetics and Evolution 29:331-349.

Weksler, M., Lemos, E. M., D'Andrea, P. S. & Bonvicino, C. R. 2017. The taxonomic status of *Oligoryzomys matogrossae* (Allen 1916) (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae), reservoir of Anajatuba Hantavirus. American Museum Novitates, (3880):1-32.

Wickliffe, J. K. 2003. Intron 7 (Fgb-I7) of the fibrinogen, B beta polypeptide (Fgb): a nuclear DNA phylogenetic marker for mammals. Museum of Texas Tech University.

Winge, H. 1887. Jordfundne og nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa Santa, Minas Geraes, Brasilien. E Museo Lundii 1(3):1-178 + 18 plates.

Zelditch, M. L. & Carmichael, C. 1989. Ontogenetic variation in patterns of developmental and functional integration in skulls of *Sigmodon fulviventer*. Evolution, 43(4):814-824.

APÊNDICE I

Espécimes utilizados nas análises morfológicas

<i>Castoria angustidens</i>			
Espécimes	Sexo	Classe Etária	Localidade
MZUFV 510	♂	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 520	♂	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 541	♂	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 551	♂	4	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 616	♂	4	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 638	♂	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 704	♀	4	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1148	♀	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1150*	♂	4	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1151	♀	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1153	♂	6	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1154	♀	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1155	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1172	♂	6	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1213	♂	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1215	♀	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1218	♂	3	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1231*	♂	6	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1249*	♀	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1251	♀	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1252	♂	6	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1254*	♀	5	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1266	♂	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1267	♂	6	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1278	?	3	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1279	♂	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1280	♂	6	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1281	♂	3	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1286*	♂	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1287	♂	5	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1293	?	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1294*	♂	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1295	♂	5	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1296	♀	4	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1297*	♀	3	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1298	♂	5	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1299	♂	3	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1300	♀	5	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1626*	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1627	♂	5	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1628	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1631	?	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil

MZUFV 1633*	♂	5	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1634	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1637	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1639*	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1640	♀	6	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1641	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1642	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1643	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1644	♂	6	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1645	♀	5	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1646	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1648	♂	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1650	♂	5	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1651	♀	4	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1654	♂	5	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1656	♀	6	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1984	?	6	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1985	♂	6	PESB, MG, Brasil
MZUFV 1986	♂	5	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1987	♂	4	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1988	♂	4	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2043	♂	5	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2055	♂	3	PESB, MG, Brasil
MZUFV 2057	♂	6	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2058	♀	2	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2059	♀	4	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2060	♀	5	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2062	♂	2	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2063	♂	4	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2064	♂	4	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2070	♂	2	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2082	♀	2	Pico do Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2375	♂	6	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2409	♀	5	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2451	♂	6	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2454	♀	6	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2461	♀	6	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2462	♀	5	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2463	♂	2	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2552	♂	2	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2553	♀	2	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2554	♂	6	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2556	♂	1	Laje do Ouro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2565	♂	5	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2567	♂	3	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2568	♀	2	Soares, PESB, MG, Brasil
MZUFV 2570	?	6	Soares, PESB, MG, Brasil

MZUFV 2571	♀	2	Soares, PESB, MG, Brasil
MN 2513	♂		Retiro de Ramos, PARNA Itatiaia, RJ, Brasil
MN 32631	♀		Cachoeiro do Itapemirim, ES, Brasil
MN 32637	♀		Cachoeiro do Itapemirim, ES, Brasil
MN 35910	♂		Mata do Sossego, Simonésia, MG, Brasil
MN 35912	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35919	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35921	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35922	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35923	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35924	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35926	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 35927	?		Sítio Xitaca, Debossan, RJ-116 Km 685, RJ, Brasil
MN 42002	?		Sede do PARNA Itatiaia, Casqueiro, RJ, Brasil
MN 42007	♂		Rio Taquaral, PARNA Itatiaia, RJ, Brasil
MN 48027	♂		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 48028	♂		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 48030	♂		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 48065	♂		PARNA Serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 51664	♀		Petrópolis, RJ, Brasil
MN 54491	♂		PARNA Caparaó, Alto Caparaó, MG, Brasil
MN 55734	♀		Nova Friburgo, RJ, Brasil
MN 55735	♂		Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, RJ, Brasil
MN 55736	♀		Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, RJ, Brasil
MN 55737	♂		Sítio Xitaca, Debossan, Nova Friburgo, RJ, Brasil
MN 62819	?		Sem localidade
MN 63113	♂		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 63114	♀		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 63115	♀		Brejo da Lapa, Itamonte, PARNA Itatiaia, MG, Brasil
MN 69584	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69597	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69621	♂		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69640	♂		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69654	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69655	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69657	♂		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69666	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69667	♂		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69669	♀		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69673	♂		Terreirão, PARNA Caparaó, MG, Brasil
MN 69680	?		Itatiaia, RJ, Brasil
MN 69711	?		Itatiaia, RJ, Brasil
MN 71903	?		PE Desengano, Santa Maria Madalena, RJ, Brasil

MN 71942	?	PE dos Três Picos, Cachoeiras de Macacau, RJ, Brasil
MN 74059	?	Roça Nova, Piraquara, PR, Brasil
MN 74065	?	Roça Nova, Piraquara, PR, Brasil
MN 75783	?	PARNA Caparaó, Brasil
MN 77078	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77079	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77081	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77082	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77084	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77085	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77086	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77087	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77088	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77090	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77091	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77096	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77097	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77099	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77100	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77101	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77102	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77104	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77105	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77108	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77111	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77112	?	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77113	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas,

Teresópolis, RJ, Brasil		
MN 77116	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77117	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77119	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77121	♀	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77122	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77123	♂	PARNA Serra dos Órgãos, Vale das Antas, Teresópolis, RJ, Brasil
MN 77791	♀	PARNA Serra da Bocaina, Paraty, RJ, Brasil
MN 78571	♀	Fazenda Caiambora, PARNA São Joaquim, Urubici, SC, Brasil
MN 78611	?	Fazenda Caiambora, PARNA São Joaquim, Urubici, SC, Brasil
MN 78685	?	Primeiro Abrigo, Campo de Chusquea, PE Pico da Paraná, PR, Brasil
MN 78693	?	Primeiro Abrigo, Campo de Chusquea, PE Pico da Paraná, PR, Brasil
MN 78694	?	Primeiro Abrigo, Campo de Chusquea, PE Pico da Paraná, PR, Brasil
MN 78697	?	Primeiro Abrigo, Campo de Chusquea, PE Pico da Paraná, PR, Brasil
MN 78702	?	Primeiro Abrigo, Campo de Chusquea, PE Pico da Paraná, PR, Brasil
UFES-MAM 1039	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1040	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1041	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1042	♀	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1067	♀	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1069	♂	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1070	♀	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1071	?	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1080	?	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1085	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1090	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1092	♀	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1095	♂	Posto Pedra Roxa, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1116	♂	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1117	♀	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1118	♀	Casa Queimada, PARNA Caparaó, ES, Brasil
UFES-MAM 1123	♂	Posto Macieira, PARNA Caparaó, ES, Brasil

* Espécimes cariotipados na monografia de Manduca, E. (2004) e publicados no artigo de Moreira e colaboradores (2009). Os espécimes em negrito foram utilizados na análise geográfica.

<i>Necromys lasiurus</i>		
Espécimes	Sexo	Localidade
MZUFV 642	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 845	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 847	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 851	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 852	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 862	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 863	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 866	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 867	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 876	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 879	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 903	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 974	?	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 975	?	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 1353	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 1371	?	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 1825	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2200	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2333	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2475	?	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2477	?	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2624	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2834	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2871	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 2974	♂	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais
MZUFV 4248	♀	EPTEA Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais

<i>Thaptomys nigrita</i>		
Espécimes	Sexo	Localidade
MZUFV 621	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1111	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1113	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1114	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1115	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1116	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1117	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1118	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1123	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1127	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1128	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1129	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1130	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1143	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1144	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1145	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1146	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1147	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1189	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1190	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1191	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1192	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1193	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1208	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1209	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1210	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1211	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1212	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1222	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1223	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1224	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1225	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1239	♀	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1240	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1255	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1260	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1261	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1270	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1271	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1272	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1273	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1274	♂	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1275	♀	Serra das Cabeças, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1276	♂	Fazenda da Neblina, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1283	♀	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil

MZUFV 1582	♀	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1584	♀	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1585	♀	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1586	♂	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1587	♂	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1588	♂	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1589	?	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1590	♂	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1591	♂	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1839	♀	Fazenda Brigadeiro, PESB, MG, Brasil
MZUFV 1920	?	PESB, MG, Brasil
MZUFV 1921	♂	PESB, MG, Brasil
MZUFV 2047	?	Serra do Careço, PESB, MG, Brasil

APÊNDICE II

Número de indivíduos por espécie e por localidade utilizados em cada uma das análises

Espécies	Localidades	Espécimes por Localidade	Análises Morfológicas					Análises Moleculares		
			Qualitativ a	Quantitativa				cytb	fgb	rag1
				Preliminares	Intrapopulacional	Geográfica	Interespecífica			
<i>Akodon mystax</i>	PARNA Caparaó	1	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Castoria angustidens</i>	PARNA Caparaó ES/MG	13	-	4	-	4	4	10	3	-
	PARNA Itatiaia RJ	3	-	3	-	3	3	-	-	-
	PARNA São Joaquim SC	1	-	1	-	1	1	-	-	-
	PARNASO RJ	8	-	8	-	8	8	-	-	-
	PE Pico Paraná PR	5	-	1	-	1	1	4	3	-
	PESB MG	90	90	90	90	29	29	4	3	3
	PE Três Picos RJ	1	-	1	-	1	1	-	-	-
	Sítio Xitaca, Debossan RJ	3	-	3	-	3	3	-	-	-
<i>Deltamys</i> sp.	LMT 389	1	-	-	-	-	-	1	1	-
<i>Necromys lasiurus</i>	EPTEA MP	26	-	-	-	-	26	-	-	-
	JAO1692	1	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>Thaptomys nigrita</i>	PESB	58	-	-	-	-	58	-	-	-

APÊNDICE III

Descrição das medidas crânio-mandibulares utilizadas nas análises quantitativas

Medidas Crânio-Mandibulares		Descrição das Medidas
Crânio Vista Dorsal		
CN	Comprimento do Nasal ¹	Medida da porção mais anterior do nasal até sua porção mais posterior (sutura naso-frontal), seguindo a linha sagital do crânio.
CF	Comprimento do Frontal ⁴	Medida da porção mais anterior do frontal (sutura naso-frontal) até sua porção mais posterior (sutura fronto-parietal), seguindo a linha sagital do crânio.
CP	Comprimento do Parietal ⁴	Medida da porção mais anterior do parietal (sutura fronto-parietal) até sua porção mais posterior (sutura parietal-interparietal), seguindo a linha sagital do crânio.
CI	Comprimento do Interparietal ⁴	Medida da porção mais anterior do interparietal (sutura parietal-interparietal) até sua porção mais posterior (sutura interparietal-supraoccipital), seguindo a linha sagital do crânio.
CTC	Comprimento Total do Crânio ⁴	Medida da porção mais anterior do nasal até a porção mais posterior do supraoccipital, seguindo a linha sagital do crânio.
LR	Largura Rostral ¹	Largura máxima do rostro medida entre os maxilares excluindo o osso da cápsula nasolacrimonial.
LCI	Largura da Constricção Interorbital ¹	Menor largura dos ossos frontais medida entre as fossas orbitais.
LAZ	Largura do Arco Zigomático ¹	Maior distância entre os arcos zigomáticos.
LMC	Largura Máxima do Crânio ¹	Maior largura da caixa craniana medida imediatamente posterior à raiz escamosal do arco zigomático.
LI	Largura do Interparietal ⁴	Medida da maior largura do interparietal localizada entre as suturas parietal-supraoccipital.
Crânio Vista Ventral		
CFI	Comprimento do Foramen Incisivo ¹	Medida da borda anterior de um dos forâmens até sua borda posterior.
CPP	Comprimento da Ponte Palatal ¹	Medida da borda posterior do foramen incisivo até a borda anterior da fossa mesopterigoide.
CMB	Comprimento Máximo da Bula Timpânica ⁶	Medida do foramen estilomastoideo até a borda anterior do tubo do ectotimpânico (diagonal ao plano sagital).
SMS	Comprimento da Série Molar Superior ¹	Medida da porção anterior do alvéolo do primeiro molar superior até a porção posterior do alvéolo do terceiro molar superior.
DIA	Comprimento do Diástema ¹	Medida da porção posterior interna do alvéolo do

		incisivo até a porção anterior do alvéolo do primeiro molar (diagonal ao plano longitudinal).
LAE	Largura Alveolar Externa ⁵	Medida entre os alvéolos externos do primeiro molar na altura do paracone.
LFI	Largura do Foramen Incisivo ¹	Largura máxima entre as porções internas de ambos forâmens incisivos, localizada na altura da sutura prémaxila-maxila.
Crânio Vista Lateral		
AMC	Altura Máxima do Crânio ¹	Medida da porção mais alta da caixa craniana até a superfície ventral do basisfenoide, perpendicular ao plano longitudinal do crânio.
CR	Comprimento Rostral ³	Medida da porção posterior do lacrimal (porção anterior da órbita) até a porção mais anterior do osso nasal no eixo sagital (diagonal ao longitudinal).
CCI	Comprimento Côndilo-Incisivo ¹	Medida da porção posterior do côndilo occipital até a porção anterior do alvéolo do incisivo.
LPZ	Largura da Placa Zigomática ¹	Menor distância entre a borda anterior e posterior da placa zigomática.
Mandíbula Vista Lateral		
AMM	Altura Máxima da Mandíbula ⁵	Medida da porção superior do processo condilar até a porção inferior do processo angular.
CMM	Comprimento Máximo da Mandíbula ⁵	Medida da porção antero-inferior do alvéolo do incisivo até a porção mais posterior do processo condilar.
Mandíbula Vista Dorsal		
SMI	Comprimento da Série Molar Inferior ²	Medida da porção anterior do alvéolo do primeiro molar inferior até a porção posterior do alvéolo do terceiro molar inferior.

Os números sobrescritos após os nomes das medidas correspondem as referências das medidas: 1) Musser 1979; 2) Carleton 1980; 3) Myers *et al.* 1990; 4) Patterson 1992; 5) Geise *et al.* 2005; 6) Bezerra & Filho 2010.

APÊNDICE IV

Morfologia Craniana e Mandibular das Classes Etárias de *Castoria angustidens* do PESB

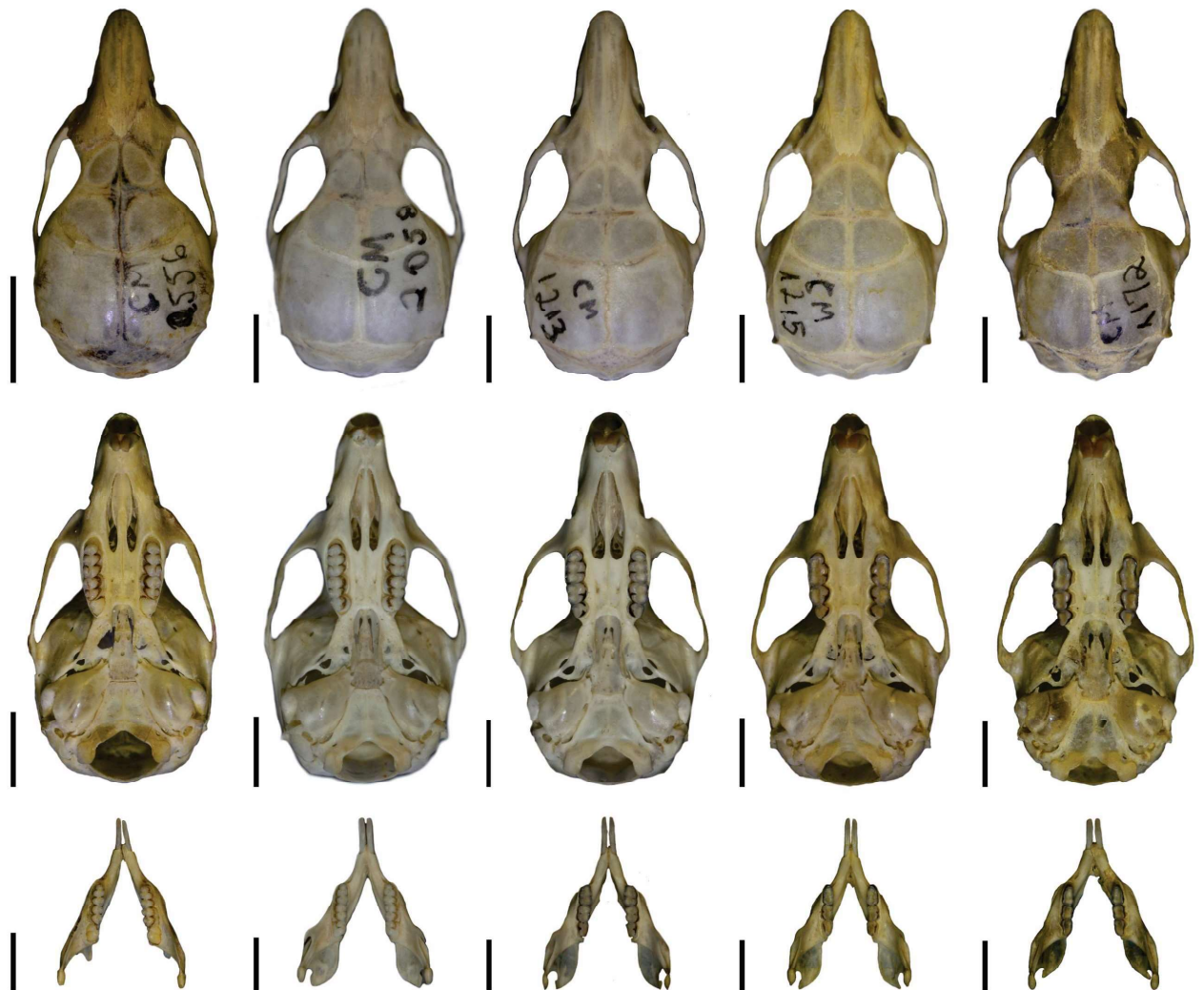


Figura 1: Morfologia craniana e mandibular das cinco classes etárias de *Castoria angustidens* da população do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. Vista dorsal e ventral do crânio, e vista dorsal da mandíbula nas cinco classes etárias (1, 2/3, 4, 5 e 6) da esquerda para a direita. Da esquerda para a direita: MZUFV 2556, MZUFV 2058, MZUFV 1213, MZUFV 1215 e MZUFV 1172. Escala = 5 mm.



Figura 2: Morfologia craniana e mandibular das cinco classes etárias de *Castoria angustidens* da população do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. Vista lateral do crânio e da mandíbula nas cinco classes etárias (1, 2/3, 4, 5 e 6), de cima para baixo. De cima para baixo: MZUFV 2556, MZUFV 2058, MZUFV 1213, MZUFV 1215 e MZUFV 1172. Escala = 5 mm.

APÊNDICE V

Análises Preliminares

Todos os resultados obtidos no teste de repetibilidade apontaram valores maiores que 0,97 demonstrando que as medidas obtidas foram precisas e aferidas corretamente pelo medidor. Dentre as 24 medidas, seis apresentaram um *outlier* cada, AMM, CCI, LAZ, SMS, LCI e SMI. O indivíduo MN 74065 apresentou *outliers* em duas medidas (SMS e SMI). Como a reavaliação desse exemplar não foi possível, optou-se por excluí-lo das análises subsequentes. O valor da medida LCI do indivíduo MN 77117 foi deletado da tabela pois não estava acessível para ser mensurado novamente. Os *outliers* de CCI e AMM pertencentes ao indivíduo CM 2556 foram checados e mantidos. O teste possivelmente apontou esses valores como *outliers* pois esse indivíduo é o mais jovem da população, além de ser o único representante da primeira classe etária estabelecida nesse trabalho. Apesar de apontado como *outlier*, a medida LAZ do indivíduo MN 77104 apresentou-se dentro dos limites aceitáveis para essa população, portanto, seu valor foi mantido embora o exemplar não tenha sido reavaliado devido inacessibilidade. Os valores de r resultantes do teste de correlação linear de Pearson apontaram CTC com correlações muito altos ($r > 0,85$) em relação às medidas CCI, CR e DIA. Dessa maneira, CTC foi excluída das análises subsequentes. Outras medidas apresentaram correlações fortes ($0,80 < r < 0,85$) entre si: CTC e CN, CN e CR, CR e DIA, DIA e CCI, CCI e CR, e SMS e SMI. Apesar disso, não foram excluídas das análises (Tabela 1). De acordo com o QQ plot confirma-se a hipótese de distribuição normal dos dados diante da proximidade dos pontos à reta que corresponde ao modelo de distribuição normal (Figura 1). Dentre as 23 medidas avaliadas, 16 delas apresentaram pelo menos uma medida ausente: SMI com 45 medidas ausentes, CN com 14, CR com 14, AMM com 9, LAZ com 8, CMB com 7, LR e CCI com 5, AMM e CMM com 4, e CPP, LAE, LCI, LI, LMC e LPZ com apenas 1

Tabela 1: Valores dos coeficientes de correlação (r) entre as medidas crânio-mandibulares.

	CN	CF	CP	CI	CTC	LR	LCI	LAZ	LMC	LI	CFI	CPP	CMB	SMS	DIA	LAE	LFI	AMC	CR	CCI	LPZ	AMM	CMM	SMI
CN	1.000																							
CF	0.033	1.000																						
CP	0.317	-0.219	1.000																					
CI	0.034	-0.018	-0.037	1.000																				
CTC	0.842	0.330	0.339	0.153	1.000																			
LR	0.290	0.068	0.169	0.116	0.395	1.000																		
LCI	0.451	0.297	0.221	-0.018	0.511	0.483	1.000																	
LAZ	0.631	0.294	0.234	0.039	0.773	0.383	0.556	1.000																
LMC	0.337	0.174	0.350	0.105	0.457	0.358	0.499	0.653	1.000															
LI	-0.051	0.124	-0.061	0.319	0.084	0.012	-0.024	0.165	0.243	1.000														
CFI	0.629	0.170	0.215	0.070	0.723	0.220	0.243	0.549	0.231	0.036	1.000													
CPP	0.345	0.157	0.006	0.082	0.378	0.004	0.325	0.375	0.192	0.119	0.023	1.000												
CMB	0.436	0.101	0.382	0.109	0.463	0.345	0.285	0.398	0.387	0.082	0.256	0.136	1.000											
SMS	0.296	0.026	0.227	0.014	0.322	0.152	0.371	0.322	0.330	-0.034	0.086	0.602	0.322	1.000										
DIA	0.767	0.318	0.138	0.081	0.855	0.306	0.395	0.669	0.216	0.053	0.752	0.288	0.254	0.116	1.000									
LAE	0.686	0.350	0.122	0.107	0.728	0.434	0.483	0.739	0.446	0.071	0.493	0.336	0.366	0.318	0.724	1.000								
LFI	0.452	0.118	0.223	0.194	0.506	0.495	0.379	0.408	0.508	0.010	0.295	0.155	0.615	0.372	0.312	0.462	1.000							
AMC	0.385	0.108	0.453	0.240	0.456	0.423	0.432	0.431	0.503	0.101	0.115	0.237	0.481	0.197	0.235	0.339	0.441	1.000						
CR	0.820	0.319	0.243	0.042	0.908	0.303	0.516	0.735	0.380	0.063	0.672	0.449	0.358	0.375	0.824	0.721	0.410	0.366	1.000					
CCI	0.743	0.362	0.245	0.115	0.872	0.271	0.431	0.733	0.384	0.052	0.647	0.407	0.440	0.307	0.821	0.665	0.433	0.407	0.846	1.000				
LPZ	0.631	0.188	0.212	0.043	0.649	0.248	0.408	0.639	0.391	0.156	0.569	0.331	0.372	0.342	0.640	0.592	0.347	0.186	0.644	0.600	1.000			
AMM	0.509	0.081	0.172	0.095	0.583	0.232	0.219	0.602	0.267	0.158	0.504	0.361	0.205	0.238	0.574	0.490	0.220	0.377	0.559	0.565	0.404	1.000		
CMM	0.697	0.181	0.308	0.110	0.806	0.335	0.386	0.728	0.382	0.049	0.612	0.342	0.321	0.351	0.735	0.622	0.390	0.378	0.730	0.738	0.603	0.641	1.000	
SMI	0.265	-0.006	0.229	0.013	0.282	0.202	0.316	0.329	0.368	0.081	0.121	0.482	0.354	0.839	0.140	0.330	0.409	0.127	0.333	0.261	0.381	0.198	0.284	1.000

(Figura 2). A comparação da distribuição entre dados estimados e coletados aplicou-se somente às medidas com mais de um valor ausente. Todas as outras 10 medidas apresentaram distribuições semelhantes (Figura 3). As maiores distorções foram encontradas em medidas com poucos valores ausentes, entre quatro e oito. O modelo mostrou-se acurado para cada uma das medidas estimadas visto que os valores estimados tanto de medidas coletadas quanto de medidas ausentes foram observados próximos à reta modelo, respeitando o intervalo de 95% de confiança das estimativas (Figura 4). A rápida convergência dos valores iniciais da estimativa de dados ausentes levando-se em conta o pequeno número de repetições, demonstrou a independência do modelo em relação aos valores iniciais (Figura 5). Os testes de homocedasticidade rejeitaram a hipótese nula apontando em ambos agrupamentos, sexo e classe etária, para dados heterocedásticos ($p\text{-valor}_{\text{sexo}} = 0,012$; $p\text{-valor}_{\text{classe etária}} < 0.001$).

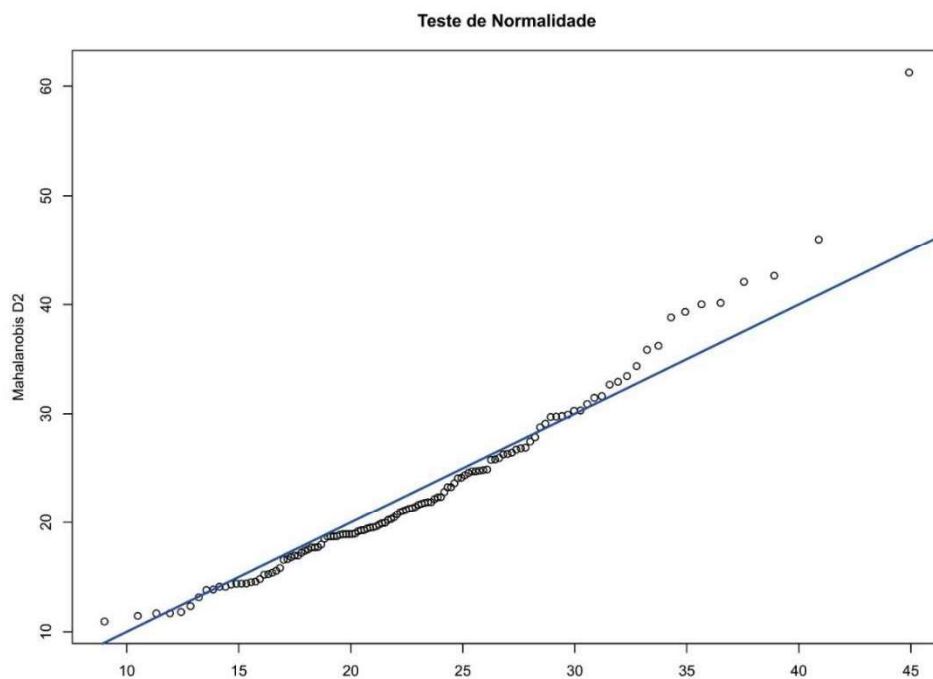


Figura 1: QQ plot demonstrando a adequação dos dados à distribuição normal.

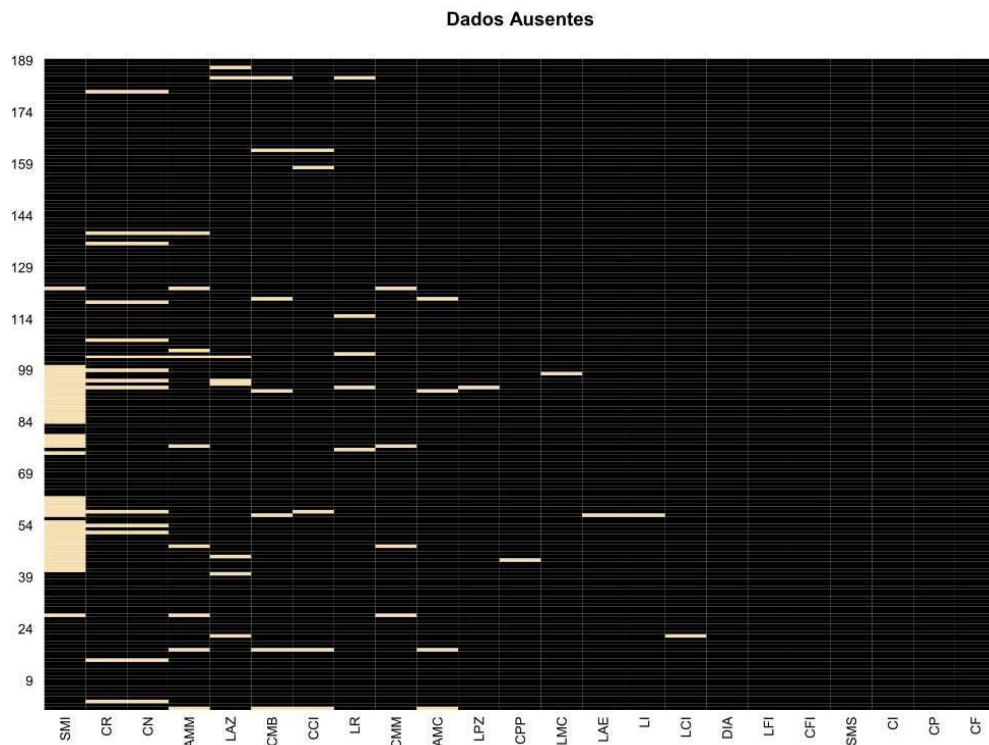


Figura 2: Mapa das medidas ausentes em *Castoria angustidens*. A cor rosa corresponde aos valores ausentes e a cor preta corresponde aos valores presentes.

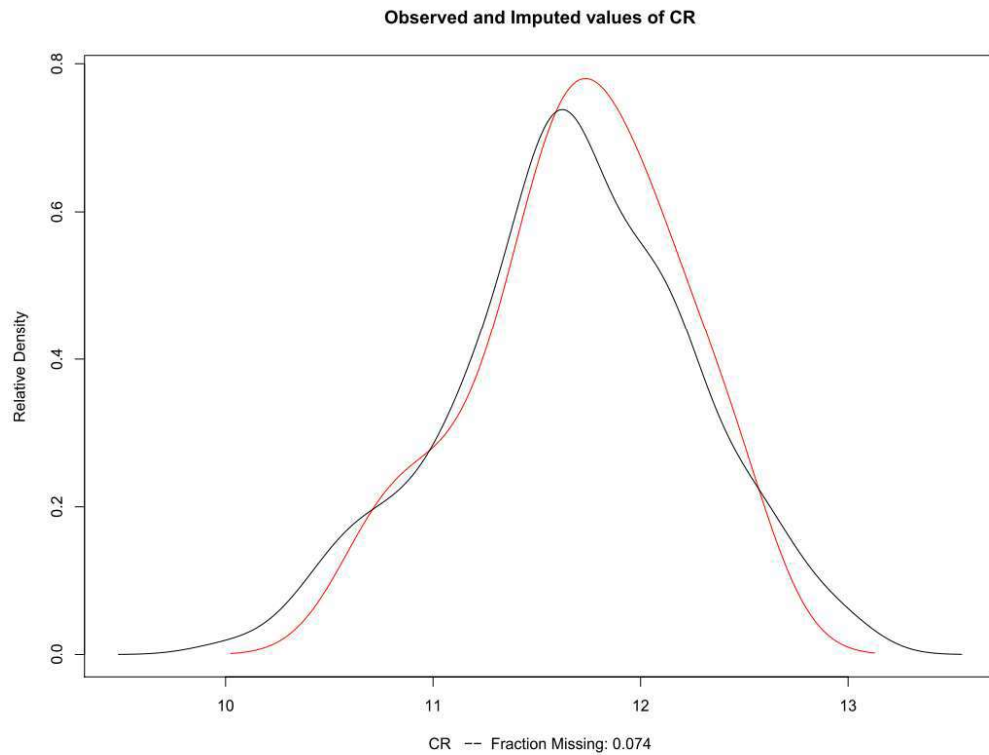


Figura 3: Distribuição dos valores estimados de CR comparados aos os valores observados. Em preto, medidas coletadas e, em vermelho, medidas ausentes estimadas.

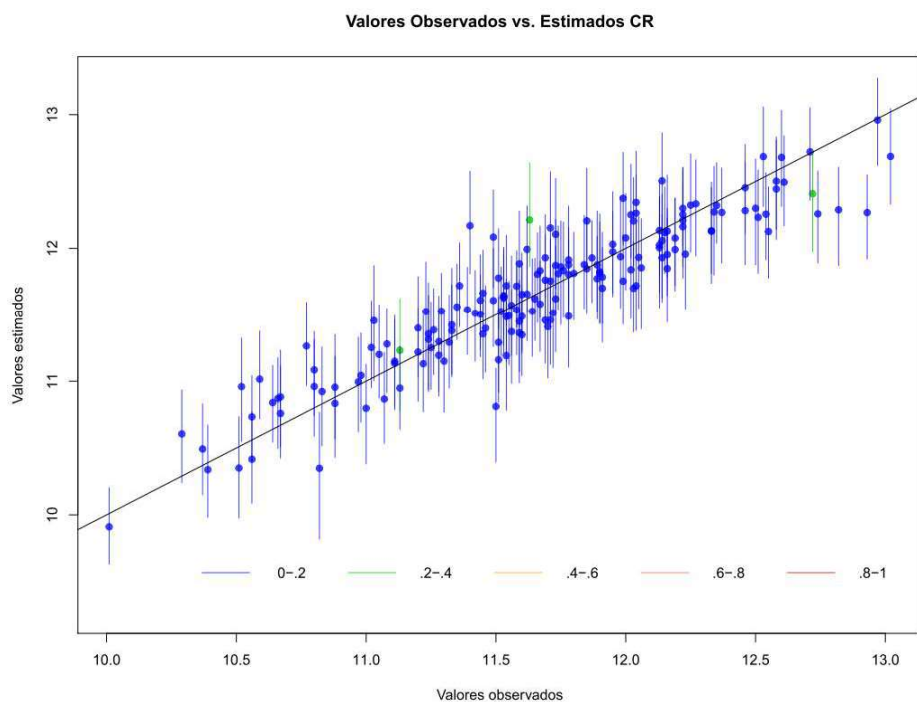


Figura 4: Acurácia do modelo de estimativa dos dados baseando-se no plot de dados ausentes e de dados coletados reestimados pelo modelo. A ponto corresponde à média das estimativas para cada valor e a barra vertical, o intervalo de confiança de 95%. A proximidade desse conjunto à reta demonstra a acurácia do modelo. As cores representam a porcentagem de covariáveis ausentes observadas (azul, de 0 a 20%; verde, de 20% a 40%).

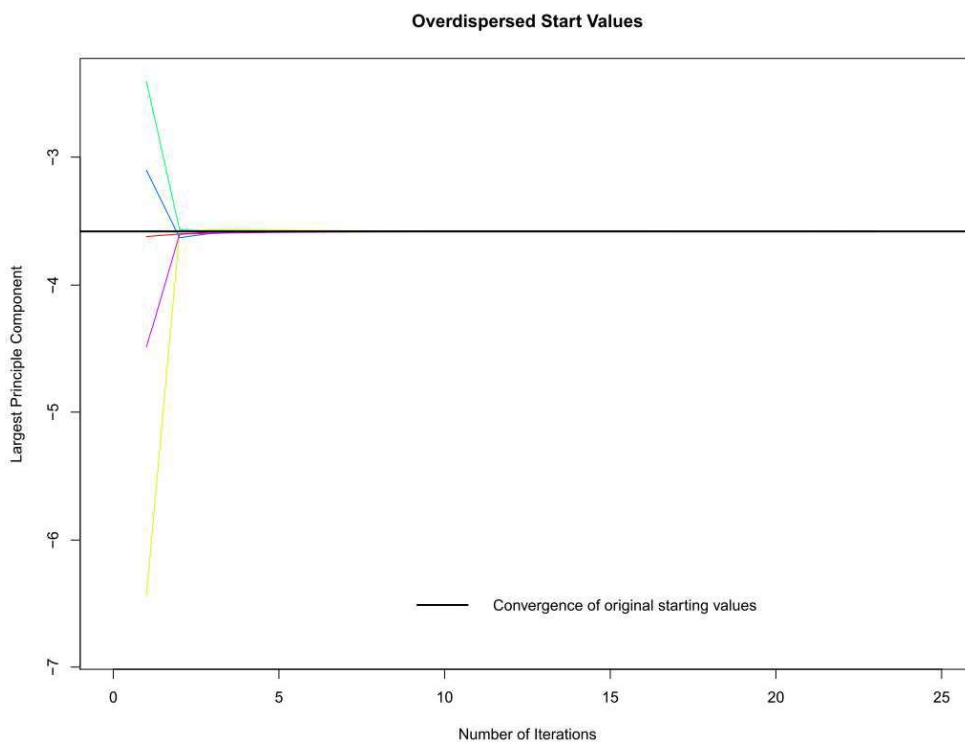


Figura 5: Plot da independência da estimativa em relação aos dados iniciais. Cada cor corresponde aos valores iniciais das cinco estimativas utilizadas no modelo. A convergência desses pontos à linha preta necessitando de poucas repetições, demonstra a convergência e independência dos dados.

APÊNDICE VI

Detalhamento das Análises Moleculares

Todos os tecidos utilizados para as análises estavam previamente conservados em etanol. A extração de DNA foi realizada a partir do protocolo de proteinase-k/fenol/clorofórmio estabelecido por Sambrook e colaboradores (1989). Após a extração, a presença e a qualidade do DNA obtido foram verificadas a partir de gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio e observado através de um computador conectado a uma câmera fotográfica acoplada a uma câmara de luz ultravioleta. O DNA foi amplificado através de reações em cadeia de polimerase (PCR). Nas reações de PCR, para cada μL de DNA foram adicionados 19,3 μL de H_2O Mili-Q, 2,5 μL de solução tampão, 1,0 μL de MgSO_4 , 0,5 μL de dNTP's, 0,5 μL de um *mix* de *primers* e 0,2 μL da enzima Taq polimerase, totalizando 25 μL . Modificações nas proporções dos componentes da reação ocorreram na tentativa de ajuste do protocolo para cada um dos genes e amostras sempre mantendo o volume final 25 μL e utilizando a H_2O Mili-Q como ajuste desse volume. Em todos os PCRs foram utilizados controle positivo e negativo. As reações foram executadas em um termociclador Mastercycler Gradient fabricado pela Eppendorf.

O primeiro marcador molecular utilizado foi o citocromo b (*cyt b*), um gene mitocondrial composto por 1140 pares de bases (pb). Os genes pertencentes a 27 espécimes de *C. angustidens* e um espécime de *Deltamys* sp. foram amplificados através da reação. Vinte e dois espécimes de *C. angustidens* e o espécime de *Deltamys* sp. tiveram o *cyt b* amplificado através da desnaturação da dupla hélice a 94°C durante 5 min, seguidos de cinco ciclos de 1 min desnaturação a 94°C, 1 min de anelamento dos *primers* a 50°C e 1,5 min de polimerização de novas moléculas de *cyt b* a 72°C; depois disso, o mesmo ciclo foi repetido dez vezes, porém com 49°C como temperatura de anelamento do *primer*; continuando o processo, o mesmo ciclo foi repetido mais vinte vezes com

48°C como temperatura de anelamento do *primer*; e por fim, as amostras foram expostas durante 7 min a 72°C, visando a finalização da polimerização do fragmento desejado e conservadas a 8°C (Ciclo CYTB 50-48). Outras quatro amostras de *C. angustidens* necessitaram de ajustes na reação de PCR e tiveram sua proporção de MgSO₄/μL de DNA aumentada de 1,0 μL para 1,5 μL/μL de DNA, visando aumentar a eficiência da Taq polimerase visto que o reagente funciona como co-fator dessa enzima. A desnaturação do DNA dessas amostras ocorreu em 15 min a 94°C, e em seguida foram submetidas a 44 ciclos de 45 s de desnaturação a 94°C, 45 s de anelamento dos primers a 45°C e 1,5 min de polimerização a 72°C; ao final de todos os ciclos, as amostras foram mantidas a 72°C durante 6 min e armazenadas a 8°C (Ciclo CYTB 45). A última amostra dessa espécie teve seu DNA amplificado alterando-se a temperatura de anelamento do *primer* do Ciclo CYTB 45 para 50°C (Ciclo CYTB 50). Os *primers* MVZ05 e MVZ14 foram utilizados na reação de amplificação, enquanto os *primers* MEU1 e MVZ05 foram empregados na reação de sequenciamento (Smith & Patton 1993; Bonvicino *et al.* 2009).

Outro marcador selecionado foi o intron 7 do gene nuclear beta fibrinogênio (*fgb*) contendo 618 pb. Foram amplificadas sequências de nove espécimes de *C. angustidens* e uma sequência de *Deltamys* sp. através de 2 min de desnaturação do DNA a 94°C, 34 ciclos de 40 s de desnaturação a 94°C, 40 s de anelamento dos *primers* a 60°C e 1,5 min de atividade da Taq polimerase a 72°C; e ao final desses ciclos as amostras foram submetidas a mais 10 min a 72°C finalizando os processos de extensão das moléculas criadas e mantidas a 8°C após término do processo (Ciclo FGB 60). O *mix* de *primers* empregados para a reação de amplificação do gene *fgb* foi composto por FGB-U e FGB-L (Prychitko & Moore 1997).

O outro gene selecionado foi um éxon, correspondente ao primeiro gene de ativação de recombinação (*rag1*) composto por 3120 pb. Amostras provenientes de nove

espécimes de *C. angustidens* e de um espécime de *Deltamys* sp. foram submetidas a reações de amplificação com 15 min de desnaturação a 94°C, 44 ciclos de 45 s de desnaturação a 94°C, 45 s de anelamento dos *primers* a 52°C e 1,5 min de amplificação a 72°C; e, no final, mais 6 min a 72°C, sendo mantidas a 8°C após término do processo (Ciclo RAG1 52). Os *primers* utilizados na reação foram S70 e S142 (Schenk *et al.* 2003). Todas as diferentes tentativas de ajuste do ciclo de PCR geraram bandas inespecíficas. Portanto, a banda desejada foi extraída e purificada do gel de agarose 1,5% através do *QIAquick Gel Extraction Kit* (QIAGEN Inc.). Ao final de cada PCR, 1µL da amostra amplificada foi submetido ao gel de agarose 1,5% buscando certificar-se da presença, do tamanho e da qualidade do DNA amplificado, através da visualização do gel pós corado com brometo de etídeo e submetido à câmara de luz ultravioleta, para o envio destas para a reação sequenciamento.

APÊNDICE VII

Espécimes utilizados nas análises moleculares

Espécie	Nº Tombo	Procedência	<i>cytb</i>	<i>fgb</i>	<i>rag1</i>
<i>Akodon azarae</i>	GD 327	Uruguai	AY702964	-	-
	CNP 3172	Entre Rios, Argentina	-	KJ614619	-
<i>Akodon baliolus</i>	MVZ 172847	Puno, Peru	-	-	KC953471
<i>Akodon boliviensis</i>	FMNH 162754	Oruro, Bolívia	-	-	AY294960
<i>Akodon cursor</i>	MZUSP 29257	Salesópolis, São Paulo	AF184051	-	-
<i>Akodon kofordi</i>	MVZ 171670	Puno Peru	-	-	KC953472
<i>Akodon lindberghi</i>	MN184057	Minas Gerais	AF184057	-	-
<i>Akodon lutescens</i>	MVZ 173248	Puno, Peru	-	-	KC953473
<i>Akodon mimus</i>	MVZ 17152	Puno, Peru	-	-	KC953474
<i>Akodon montensis</i>	MN 78725	Pouso Alto, Minas Gerais	KF815436	-	-
<i>Akodon mystax</i>	-	PRG1101	X	-	X
	MN 69660	-	EF101880	-	-
<i>Akodon paranaensis</i>	MN 69686	PARNA Itatiaias, Rio de Janeiro	EF101886	-	-
<i>Akodon reigi</i>	MNHN 3682	Uruguai	AY195865	-	-
<i>Akodon torques</i>	MVZ 171720	Cuzco, Peru	-	-	KC953475
<i>Castoria</i>		Rio de Janeiro	AF184508	-	-
<i>angustidens</i>		Rio de Janeiro	AY273908	-	-
	MZUFV 1150	Fazenda da Neblina, PESB	-	X	X
	MZUFV 1155	Fazenda da Neblina, PESB	X	-	-
	MZUFV 1231	Fazenda da Neblina, PESB	X	-	X
	MZUFV 1294	Serra das Cabeças, PESB	-	X	X
	MZUFV 1298	Fazenda da Neblina, PESB	X	-	-
	MZUFV 1645	Fazenda Brigadeiro, PESB	X	X	-
	LMT 436	Santa Catarina	EF101889	-	-
	PM 102	Rio Grande do Sul	KJ936954	-	-
	MN 69584	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69597	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69621	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69640	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69654	PARNA Caparaó	X	X	-
	MN 69655	PARNA Caparaó	X	X	-
	MN 69657	PARNA Caparaó	-	X	-
	MN 69666	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69667	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69669	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 69673	PARNA Caparaó	X	-	-
	MN 78685	PE Pico Paraná	X	X	-
	MN 78693	PE Pico Paraná	-	X	-
	MN 78694	PE Pico Paraná	X	X	-
	MN 78697	PE Pico Paraná	X	-	-
	MN 78702	PE Pico Paraná	X	-	-
<i>Deltamys kemp</i>	-	-	EF206809	-	-

<i>Deltamys</i> sp.	LMT 389	Rio Grande do Sul	X	X	-
<i>Necomys lasiurus</i>	MN 69989	Vilhena, Rondônia	KF815437	-	-
	JAO 1692	-	-	X	-
<i>Necomys amoenus</i>	MVZ 172877	Puno, Peru	-	-	KC953529
<i>Oxymycterus hiska</i>	MVZ 171518	Puno, Peru	-	-	KC953554
<i>Oxymycterus judex</i>	MVZ 183129	Fazenda Intervalles, São Paulo	AF454774	-	-
<i>Podoxymys roraimae</i>	PK 3335	Guyana	KM816650	-	-
<i>Thalpomys cerradensis</i>	MZUSP 30397	-	AY273916	-	-
<i>Thalpomys lasiotis</i>	MN 61652	Bahia	AY310348	-	-
<i>Thaptomys nigrita</i>	-	Monte Verde, Minas Gerais	EF206815	-	-
	MVZ 183040	Fazenda Intervalles, São Paulo	-	-	KC953588
	MZUFV 1921	PESB, Minas Gerais	-	-	-

Número de indivíduos por espécie em cada uma das populações avaliadas nas análises morfológicas e moleculares

Espécies	<i>Akodon mystax</i>	<i>Castoria angustidens</i>	<i>Deltamys</i> sp.	<i>Necomys lasiurus</i>	<i>Thaptomys nigrita</i>	Total
População 1	-	2	-	-	-	2
População 2	1	30	-	-	-	31
População 3	-	1	-	-	-	1
População 4	-	90	-	-	58	148
População 5	-	-	-	26	-	26
População 6	-	1	-	-	-	1
População 7	-	1	-	-	-	1
População 8	-	12	-	-	-	12
População 9	-	30	-	-	-	30
População 10	-	1	-	-	-	1
População 11	-	11	-	-	-	11
População 12	-	1	-	-	-	1
População 13	-	5	-	-	-	5
População 14	-	1	-	-	-	1
População 15	-	2	-	-	-	2
População 16	-	-	1	-	-	1
Total	1	190	1	26	58	274

APÊNDICE VIII

Estimativa da distância evolutiva entre as sequências

Aa_AY702964		0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.01	0.012	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.011	0.011	0.011	0.012
Ac_AF184051	0.122		0.011	0.01	0.009	0.01	0.01	0.01	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.012	0.012	0.012
Al_AF184057	0.12	0.111		0.004	0.009	0.004	0.009	0.009	0.013	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.011	0.011	0.013	0.013
Amy_EF101880	0.124	0.105	0.017		0.009	0.001	0.009	0.009	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.01	0.012	0.012
Amo_KF815436	0.122	0.092	0.096	0.094		0.009	0.009	0.009	0.012	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.012	0.011	0.012	0.012
Amy_PRG1101	0.126	0.107	0.017	0.002	0.094		0.009	0.009	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.011	0.012	0.012
Ap_EF101886	0.121	0.098	0.103	0.102	0.081	0.102		0.007	0.013	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.012	0.011	0.013	0.013
Ar_AY195865	0.099	0.094	0.091	0.088	0.082	0.088	0.056		0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.01	0.012	0.011
Ca_AF184058	0.158	0.163	0.17	0.163	0.16	0.163	0.163	0.144		0.002	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.005	0.004	0.004
Ca_AY273908	0.15	0.16	0.168	0.158	0.16	0.161	0.162	0.143	0.007		0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.004	0.004
Ca_MZUFV1155	0.15	0.158	0.162	0.153	0.158	0.155	0.156	0.142	0.019	0.018		0.002	0.002	0.001	0.001	0.006	0.005	0.001	0.001
Ca_MZUFV1231	0.153	0.16	0.167	0.158	0.163	0.16	0.158	0.145	0.021	0.02	0.004		0.001	0.002	0.002	0.007	0.006	0.001	0.001
Ca_MZUFV1153	0.149	0.159	0.163	0.156	0.162	0.159	0.157	0.144	0.02	0.019	0.003	0.003		0.002	0.001	0.007	0.006	0.001	0.001
Ca_MZUFV1298	0.152	0.159	0.164	0.154	0.16	0.157	0.157	0.144	0.02	0.019	0.001	0.004	0.004		0.001	0.006	0.006	0.002	0.002
Ca_MZUFV1645	0.152	0.159	0.163	0.154	0.16	0.156	0.157	0.144	0.019	0.018	0.002	0.004	0.003	0.003		0.006	0.005	0.001	0.001
As_EF101889	0.154	0.156	0.157	0.144	0.154	0.146	0.146	0.133	0.051	0.05	0.045	0.049	0.048	0.046	0.047		0.004	0.007	0.007
Ca_KJ936954	0.114	0.119	0.125	0.111	0.12	0.114	0.113	0.099	0.034	0.036	0.031	0.032	0.032	0.032	0.032	0.015		0.005	0.006
Ca_MN69584	0.152	0.161	0.166	0.156	0.16	0.159	0.16	0.146	0.02	0.019	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003	0.048	0.032		0.001
Ca_MN69597	0.152	0.159	0.163	0.154	0.16	0.156	0.157	0.144	0.02	0.019	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003	0.048	0.032	0.002	
Ca_MN69621	0.153	0.16	0.169	0.16	0.159	0.16	0.157	0.143	0.013	0.013	0.019	0.021	0.02	0.02	0.019	0.049	0.036	0.02	0.02
Ca_MN69640	0.151	0.158	0.164	0.153	0.157	0.155	0.154	0.14	0.018	0.019	0.004	0.004	0.005	0.005	0.004	0.046	0.031	0.005	0.005
Ca_MN69654	0.153	0.16	0.162	0.153	0.158	0.155	0.156	0.142	0.019	0.018	0.002	0.004	0.003	0.003	0.002	0.047	0.031	0.003	0.003
Ca_MN69655	0.15	0.16	0.165	0.155	0.161	0.158	0.158	0.145	0.019	0.018	0.002	0.002	0.001	0.003	0.002	0.047	0.031	0.001	0.001
Ca_MN69666	0.149	0.161	0.163	0.154	0.162	0.156	0.16	0.146	0.018	0.017	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003	0.048	0.031	0.002	0.002
Ca_MN69667	0.149	0.161	0.166	0.156	0.16	0.159	0.16	0.146	0.018	0.017	0.004	0.004	0.004	0.005	0.004	0.048	0.031	0.004	0.004

Ca_MN69669	0.151	0.156	0.163	0.152	0.16	0.154	0.157	0.143	0.018	0.019	0.004	0.006	0.005	0.005	0.004	0.046	0.031	0.005	0.005	0.02
Ca_MN69673	0.15	0.16	0.165	0.155	0.161	0.158	0.158	0.145	0.02	0.019	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003	0.048	0.032	0.002	0.002	0.02
Ca_MN78685	0.151	0.159	0.155	0.142	0.152	0.144	0.153	0.138	0.048	0.047	0.044	0.046	0.045	0.045	0.046	0.008	0.01	0.045	0.045	0.047
Ca_MN78694	0.149	0.154	0.154	0.14	0.153	0.143	0.148	0.133	0.049	0.046	0.043	0.047	0.046	0.044	0.045	0.009	0.014	0.046	0.046	0.049
Ca_MN78697	0.155	0.158	0.158	0.144	0.154	0.146	0.149	0.137	0.051	0.05	0.045	0.049	0.048	0.046	0.047	0.009	0.015	0.048	0.048	0.05
Ca_MN78702	0.151	0.159	0.155	0.142	0.152	0.144	0.153	0.138	0.048	0.047	0.044	0.046	0.045	0.045	0.046	0.01	0.011	0.045	0.045	0.047
Dk_EF206809	0.154	0.153	0.165	0.158	0.158	0.159	0.153	0.159	0.169	0.166	0.168	0.168	0.167	0.168	0.168	0.164	0.129	0.169	0.169	0.17
Dsp_LMT389	0.151	0.152	0.155	0.146	0.157	0.148	0.155	0.145	0.138	0.132	0.137	0.139	0.138	0.137	0.136	0.149	0.117	0.138	0.136	0.14
Nl_KF815437	0.152	0.16	0.161	0.16	0.172	0.161	0.166	0.164	0.178	0.175	0.17	0.17	0.169	0.171	0.171	0.166	0.132	0.171	0.169	0.176
Oj_AF454774	0.184	0.169	0.185	0.183	0.178	0.185	0.171	0.17	0.175	0.172	0.177	0.175	0.174	0.178	0.177	0.172	0.143	0.177	0.177	0.175
Pr_KM816650	0.155	0.14	0.162	0.157	0.162	0.157	0.142	0.146	0.169	0.168	0.17	0.168	0.168	0.172	0.17	0.168	0.174	0.172	0.172	0.172
Tc_AY273916	0.171	0.169	0.17	0.171	0.17	0.171	0.161	0.157	0.185	0.185	0.183	0.183	0.182	0.184	0.183	0.182	0.13	0.184	0.184	0.185
Tl_AY310348	0.163	0.176	0.169	0.171	0.181	0.171	0.151	0.148	0.175	0.171	0.173	0.171	0.169	0.174	0.173	0.17	0.13	0.172	0.169	0.172
Tn_EF206815	0.14	0.148	0.161	0.157	0.147	0.158	0.161	0.14	0.155	0.151	0.148	0.148	0.147	0.148	0.149	0.154	0.116	0.147	0.149	0.154

Aa_AY702964	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.013	0.013	0.016	0.013	0.013	0.012
Ac_AF184051	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.013	0.014	0.013	0.014	0.012
Al_AF184057	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.013	0.016	0.013	0.013	0.013
Amy_EF101880	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.013	0.016	0.013	0.013	0.013
Amo_KF815436	0.012	0.013	0.013	0.013	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.013	0.016	0.012	0.013	0.011
Amy_PRG1101	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.013	0.016	0.013	0.014	0.013
Ap_EF101886	0.012	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.013	0.015	0.012	0.012	0.012
Ar_AY195865	0.011	0.011	0.012	0.012	0.012	0.011	0.012	0.011	0.011	0.011	0.011	0.012	0.011	0.013	0.012	0.015	0.012	0.012	0.011
Ca_AF184058	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.011	0.013	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_AY273908	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.011	0.013	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MZUFV1155	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MZUFV1231	0.002	0.002	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.013	0.011

Ca_MZUFV1153	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MZUFV1298	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.013	0.011
Ca_MZUFV1645	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.013	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
As_EF101889	0.006	0.007	0.007	0.007	0.006	0.006	0.007	0.003	0.003	0.003	0.003	0.012	0.012	0.012	0.012	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_KJ936954	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.003	0.004	0.004	0.003	0.011	0.01	0.012	0.012	0.016	0.011	0.012	0.011
Ca_MN69584	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69597	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.013	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.013	0.011
Ca_MN69621	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.013	0.013	0.015	0.014	0.013	0.012
Ca_MN69640		0.002	0.002	0.002	0.002	0.001	0.002	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69654	0.004		0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.013	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69655	0.004	0.002		0.001	0.001	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69666	0.005	0.003	0.001		0.001	0.002	0.001	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69667	0.007	0.004	0.003	0.002		0.002	0.002	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69669	0.002	0.004	0.004	0.005	0.007		0.002	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN69673	0.005	0.003	0.001	0.002	0.004	0.005		0.006	0.007	0.007	0.006	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.013	0.013	0.011
Ca_MN78685	0.045	0.046	0.044	0.043	0.041	0.045	0.045		0.003	0.002	0.001	0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.013	0.011
Ca_MN78694	0.044	0.045	0.045	0.046	0.046	0.044	0.046	0.008		0.003	0.003	0.012	0.012	0.012	0.013	0.016	0.013	0.013	0.011
Ca_MN78697	0.046	0.047	0.047	0.048	0.048	0.046	0.048	0.008	0.009		0.003	0.012	0.012	0.012	0.013	0.016	0.014	0.013	0.011
Ca_MN78702	0.045	0.046	0.044	0.043	0.041	0.045	0.045	0.002	0.01	0.008		0.012	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.013	0.011
Dk_EF206809	0.161	0.168	0.168	0.168	0.168	0.162	0.168	0.164	0.164	0.164	0.162		0.01	0.014	0.012	0.016	0.012	0.013	0.012
Dsp_LMT389	0.137	0.135	0.137	0.138	0.138	0.137	0.137	0.149	0.146	0.148	0.148	0.129		0.013	0.012	0.016	0.013	0.013	0.012
Nl_KF815437	0.17	0.172	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.167	0.165	0.169	0.169	0.183	0.17		0.013	0.016	0.012	0.013	0.012
Oj_AF454774	0.174	0.177	0.175	0.175	0.174	0.173	0.175	0.17	0.169	0.169	0.172	0.175	0.173	0.175		0.015	0.012	0.013	0.013
Pr_KM816650	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.168	0.168	0.174	0.168	0.189	0.176	0.164	0.169		0.016	0.016	0.015
Tc_AY273916	0.184	0.18	0.183	0.183	0.183	0.183	0.183	0.185	0.183	0.188	0.186	0.175	0.182	0.168	0.179	0.17		0.011	0.011
Tl_AY310348	0.176	0.171	0.171	0.171	0.169	0.173	0.171	0.169	0.173	0.173	0.168	0.175	0.181	0.165	0.184	0.173	0.114		0.013
Tn_EF206815	0.151	0.148	0.148	0.148	0.148	0.15	0.147	0.152	0.154	0.154	0.152	0.169	0.158	0.15	0.175	0.159	0.156	0.169	