

CAMILO ARIAS GONZÁLEZ

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA E DIMORFISMO SEXUAL DE *PHILANDER FRENATUS* (OLFERS, 1818), (MAMMALIA, DIDELPHIMORPHIA: DIDELPHIDAE) ATRAVÉS DE MORFOMETRIA GEOMÉTRICA CRANIANA**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2014

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

T

A696v  
2014  
Arias González, Camilo, 1986-  
Variação geográfica e dimorfismo sexual de *Philander  
frenatus* (Olfers, 1818), (Mammalia, Didelphimorphia:  
Didelphidae) através de morfometria geométrica craniana /  
Camilo Arias González. – Viçosa, MG, 2014.  
159f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Pedro Seyferth Ribeiro Romano.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Didelphimorphia. 2. Marsupial. 3. Morfologia craniana.  
4. Variação geográfica. 5. Dimorfismo sexual. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Mestrado  
em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 599.276

CAMILO ARIAS GONZÁLEZ

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA E DIMORFISMO SEXUAL DE *PHILANDER FRENATUS* (OLFERS, 1818), (MAMMALIA, DIDELPHIMORPHIA: DIDELPHIDAE) ATRAVÉS DE MORFOMETRIA GEOMÉTRICA CRANIANA**

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 abril de 2014

---

Erika Hingst-Zaher

---

Gisele Mendes Lessa del Giúdice

(Coorientadora)

---

Pedro Seyferth Ribeiro

Romano

(Orientador)

## **DEDICATORIA**

A mi madre Claudia y a mi hermana Alexandra

## AGRADECIMENTOS

Com 27 anos de vida, três deles em Viçosa, tenho muito e muitas pessoas que agradecer...

Agradeço em primeiro lugar a VIDA, em todas suas formas e tamanhos, em todas suas cores e sabores, a todos os organismos que se confabularam no tempo e espaço para criar tantas complexas e perfeitas formas de vida que se converteram na minha paixão, interagindo no planeta em um ciclo constante de trocas de energia no fluxo da vida, para dar um passo muito importante na minha vida.

Agradeço a Universidade de Caldas e professores que ajudaram na minha formação como Biólogo, pelo convenio de mobilidade acadêmica que permitiu minha vinculação no último ano da graduação e o ingresso ao mestrado em Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa. A professora Gisele Lessa, que abriu as portas para mim, no museu, na UFV e no Brasil, e me permitiu desenvolver minha monografia de graduação e dissertação de mestrado em Viçosa. Muito obrigado principalmente pela confiança, carinho e disposição constante de me ajudar, essa vontade de ajudar a todos sair na frente e essa alegria e paixão pela vida, essa fascinação pelos animais que contagia nas aulas, esse carinho com cada aluno como o carinho pelo próprio filho, esse carinho de mãe.

Agradeço ao Programa de pos-graduação em Biologia Animal, todos os professores, técnicos e servidores que fazem parte, e a UFV pela estrutura e organização para o desenvolvimento do ensino, por sua filosofia de pesquisa e apoio aos alunos. A CAPES e REUNI pela bolsa concedida durante dois anos.

Agradeço ao Pedro, obrigado pela orientação, pela confiança, pelo apoio e ajuda no desenvolvimento do trabalho, pelas aulas de morfometria geométrica e pela parceria. Agradeço ao professor Diego Astúa pela disposição para me ajudar quando precisei.

Agradeço as coleções científicas e curadores dos museus que responderam os e-mails de consulta, e as pessoas que me receberam nas coleções. Agradeço a Joao Alves do MNRJ, Mario de Vivo da USP, Juliana Paulo da Silva e a Hélio Queiroz do MBML- ES, Yuri Leite da UFES, Guilherme Siniciato e Fernando Perini da UFMG, Tudy Camara da PUC, Gabriel Messias e Marcelo Passamani da UFLA. Agradeço a todos os pesquisadores da mastofauna brasileira,

que em algum momento coletaram *P. frenatus* e permitiram desenvolver este estudo utilizando exemplares depositados nas coleções. Agradeço aos encargados de ter em pé o Museu João Moojem da UFV, Renatao, Gisele, Cebras, e a toda família do museu. A os colegas e amigos que me ajudaram com a hospedagem para visitar as coleções, Drieli, Thiago, Tonton, Maria Clara, Guilherme.

Agradeço aos professores da UFV, a professora Maria Augusta com quem fiz trabalho de monitor, e foi sempre muito amável comigo, aos colegas, amigos do museu da masto, ornito e herpeto. O Leo fóssil, o Zizo, Bisó, a Marcela, o Thiago, a Polly, o Rodolfo, a Nati, Maria Clara, Carol, Larizzinha, Carlinha, Marquitos, Chibungo, Larissa, Jonhy, todos com o cumprimento do dia a dia, disciplinas, churrascos, trabalhos e brincadeiras que mantem a alegria constante de viver a Biologia, fazem parte da minha história, muito obrigado. A Larissa pela ajuda na elaboração dos mapas, muito muito obrigado. Ao Daniel hermano, pela ajuda com as fotos. As ternurinhas Kyky, Ana, Cris, Aninha, Xaracita, pela amizade de coração. Agradeço a Flavia, por me receber nos primeiros dias em viciosa, me ajudar sempre que precisei, e ser sempre honesta e sempre disposta a ajudar quem precisa, obrigado pela amizade sincera.

Agradeço a mi família de Viçosa, os tetas, Fabiano, Leo. Obrigado por ser meus amigos, meus colegas, meus irmãos, meus Brothers. Sem vocês o caminho andado não teria sido o mesmo, e boa parte deste caminho andei ao lado de vocês, ainda bem que pessoas como vocês se cruzaram no meu caminho para andar para frente junto, sempre ajudando um ao outro com boa energia, alegria, compromisso e confiança. Ao Fabiano pela irmandade, pelos esporros de abuelito, as viagens, aventuras e risadas nas coletas, por mostrarme lugares maravilhosos deste Brasil, e por trazer pra casa a Valentina, nossa fiel e linda cachorrinha. Ao Leo pela irmandade, as aventuras e viagens, a ajuda sempre que precisei, por me ter em conta para os campos, por confiar em mim desde o começo, por abrir as portas da sua casa e sua família para mim e me tratar como parte da familia. A Lucas pela amizade, a parceria, e por emprestar-me o notebook para terminar a dissertação. Ao meus amigos da Capoeira alternativa da UFV, obrigado pelos treinos, as rodas, e a alegria que a Capoeira transmite. A meus amigos do Ultimate Frisbee no Brasil, no Rio, em São Paulo e aqui em Viçosa, pelos campeonatos, pela amizade, e por jogar comigo o melhor esporte do mundo.

Agradeço a Carol, pelo carinho, a confiança, a honestidade, a alegria que me transmite com sua companhia e seu lindo sorriso. Agradeço por fazer de cada momento uma nova aventura, e ser uma pessoa muito especial na minha vida. Todo neste mundo acontece por algum motivo, obrigado por estar do meu lado durante este tempo e me fazer muito feliz. Agradeço também a Lidyé pela amizade sincera e o carinho, e a Maroquita e Luis Antonio pelo carinho e por abrir sempre as portas do seu lar para mim e me receber como em família.

Agradeço a minha família na Colômbia, meus tios, tias, primos e primas. A meus avos, Gabriel e Beatriz pelo amor incondicional. Todos ajudaram para ser quem sou, do jeito que sou.

A minha irmã Alexandra, Andreas, minha mãe Claudia, meu sobrinho Oliver, vocês são minha inspiração, minha alegria e meu orgulho.

A mi hermana, Alexandra, porque has sido una hermana ejemplar, un apoyo incondicional, una mujer feliz que realiza sus sueños y vence ante las dificultades, por el amor infinito que nos une como hermanos, por estar siempre ahí para apoyarme y ayudarme siempre que lo necesité, y por apoyar siempre mis sueños y compartir mis alegrías. Por confiar en mi para estar a tu lado y al lado de Oliver siempre que pueda y cuando lo necesites, por permitirme compartir momentos especiales y inolvidables juntos en familia.

A mi madre, Claudia, por ser esa mujer tan especial en este mundo, creadora de las casas de la cultura, graduada en economía del hogar, ordenamiento territorial, poeta, bióloga de corazón, amante de la vida, linda y de corazón transparente. Gracias por darme la vida, por tu apoyo y amor constante, incondicional e infinito, por enseñarme desde niño a amar y disfrutar la naturaleza, darme la ilusión para crecer en contacto con el río, los árboles, animales y la alegría y paz que la naturaleza nos ofrece, por darme una casa en el árbol como lo soñaba, una cancha de fútbol solo para mí, un perro cuando te lo pedí, acompañarme y apoyarme en mis sueños, mis aventuras, mi fútbol, mi ultimate frisbee, mi Biología, por enseñarme a ser un hombre de bien, libre y feliz, por enseñarme a soñar en grande y darme alas para volar en busca de mi felicidad, por darme sabiduría para tomar decisiones, por darme los medios para terminar de escribir la tesis, y estas palabras de agradecimiento desde el corazón.

*“E enquanto este planeta continua a girar na sua orbita, obedecendo à inmutável lei da gravidade, as formas mais belas e admiráveis, originarias de um início tão simples, continuam a seguir esse desenvolvimento”* Charles Darwin, 1859.

## SUMARIO

1 - INTRODUÇÃO .....	1
1.1 - Variação morfológica e morfometria.....	1
1.2 - O crânio e a variação morfológica .....	4
1.3 - Os Marsupiais do novo mundo .....	5
1.4 - Dimorfismo sexual em Didelphidae .....	8
1.5 - O gênero <i>Philander</i> , Brisson, 1762.....	9
1.6 - A espécie <i>Philander frenatus</i> (Olfers, 1818).....	11
1.7 - A Mata Atlântica.....	14
1.8 - Objetivos .....	17
2 - MATERIAIS E MÉTODOS .....	18
2.1 - Materiais .....	18
2.1.1 - Espécimes e obtenção dos dados morfológicos. ....	18
2.1.2 - Definição dos marcos anatômicos. ....	19
2.1.3 - Definição dos blocos geográficos.....	25
2.2 – Métodos e Análises estatísticas .....	32
2.2.1 - Sobreposição dos marcos anatômicos:.....	32
2.2.2 - Procrustes ANOVA: .....	33
2.2.3 - Análises de Componentes Principais (PCA):.....	34
2.2.4 - Análise Discriminante (AD): .....	35
2.2.5 - Análise de Variáveis Canônicas (CVA):.....	35
2.2.6 - Visualização das mudanças da forma: .....	37
2.3 – Implementação dos métodos.....	40
2.3.1 - Avaliação do erro de digitação dos marcos anatômicos.....	40
2.3.2 - Dimorfismo sexual no crânio de <i>Philander frenatus</i> .....	43
2.3.3 - Dimorfismo sexual no tamanho do crânio.....	43
2.3.4 - Dimorfismo sexual na forma do crânio.....	43
2.3.5 - Variação geográfica do crânio de <i>Philander frenatus</i> . ....	44
Análises de Variáveis Canônicas (CVA):.....	44
3 - RESULTADOS .....	45
3.1 –Avaliação do erro de digitação.....	45
3.2 - Dimorfismo sexual no crânio de <i>Philander frenatus</i> . ....	50
3.2.1 - Dimorfismo sexual no tamanho do crânio.....	50
3.2.2 - Dimorfismo sexual na forma do crânio.....	51
3.2.2.1 - Dimorfismo sexual intrapopulacional. ....	51

3.2.2.1.1 - Análises de Componentes Principais (PCA): .....	51
3.2.2.1.2 - Análise Discriminante: .....	55
3.2.2.2- Dimorfismo sexual intraespecífico.....	61
3.2.2.2.1 - Análises de componentes principais (PCA):.....	61
3.2.2.2.2 - Análise Discriminante (AD) .....	66
3.3 - Variação geográfica na forma do crânio de <i>Philander frenatus</i> . .....	72
3.3.1 - Variação geográfica nos machos agrupados em Macrolocalidades1 .....	72
3.3.1.1 – Análises de componentes principais (PCA). .....	72
3.3.1.2 - Análises de Variáveis Canônicas (CVA) .....	73
3.3.2 - Variação geográfica nos machos agrupados em Macrolocalidades2 .....	82
3.3.2.1 - Análises de componentes principais (PCA) .....	82
3.3.2.2 - Análises de Variáveis Canônicas (CVA) dos machos agrupados em macrolocalidades2. ...	83
3.3.3 - Variação geográfica nas fêmeas agrupadas em Macrolocalidades1. ....	95
3.3.3.1 – Análises de componentes principais (PCA) .....	95
3.3.3.2 - Análise de Variáveis canônicas (CVA). ....	96
3.3.4 - Variação geográfica nas fêmeas agrupadas em macrolocalidades2. ....	99
3.3.4.1 – Análises de componentes principais (PCA) .....	99
3.3.4.2 - Análises de variáveis canônicas (CVA) .....	101
3.3.5 - Análises de Componentes Principais da matriz das três vistas do crânio dos machos.....	107
3.3.6 - Análises de Componentes Principais da matriz das três vistas do crânio das fêmeas. ....	107
4 - DISCUSSÃO .....	110
4.1 - Dimorfismo sexual no crânio de <i>Philander frenatus</i> . ....	110
4.2 - Variação geográfica na forma do crânio de <i>Philander frenatus</i> . ....	115
5 - CONCLUSÕES.....	126
6 - Bibliografia .....	128
7 - ANEXOS .....	146
Anexo 1.....	146
Anexo 2.....	158
Anexo 3.....	159

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Mapa do Brasil com localidades extremas da distribuição de <i>P. Opossum</i> e <i>P. frenatus</i> de Gardner (2007) .....	12
Figura 1.2 - Mapa da distribuição de <i>P. frenatus</i> segundo dados da IUCN.....	13
Figura 1.3 - Mapa das fitofisionomias da Mata Atlântica brasileira.....	16
Figura 2.1 - Vista dorsal, ventral e lateral do crânio de <i>Philander frenatus</i> , indicando os marcos anatômicos utilizados nas análises.....	24
Figura 2.2 - Mapa indicando os locais dos indivíduos analisados, quadrantes e blocos geográficos, Macrolocalidades1.....	27
Figura 2.3 - Mapa indicando as localidades dos machos de <i>P. frenatus</i> por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades1.....	28
Figura 2.4 - Mapa indicando as localidades dos machos de <i>P. frenatus</i> por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades2.....	29
Figura 2.5 - Mapa indicando as localidades de fêmeas de <i>P. frenatus</i> por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades1. ....	30
Figura 2.6 - Mapa indicando as localidades de fêmeas de <i>P. frenatus</i> por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades2.....	31
Figura 2.7 - Crânios e “wireframes” do crânio de <i>P. frenatus</i> nas vistas (a) dorsal, (b) ventral, e (c) lateral, com os respectivos marcos anatômicos. ....	39
Figura 3.1 - Gráficos do PC1 (21,39%) VS PC2 (16,29%) (a) e do PC3 (14,32%) VS PC4 (12,25%) (b), dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos marcos anatômicos na vista dorsal.....	46
Figura 3.2 - Gráfico do PC1 (56,4%) VS PC2 (11,9%) dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos marcos anatômicos na vista ventral. ....	48
Figura 3.3 - Gráfico do PC1 (37,17%) VS PC2 (23,6%) dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos .....	49
Figura 3.4 - Gráficos com as distribuições do tamanho do centroide do crânio de <i>P. frenatus</i> para machos e fêmeas nas vistas dorsal, ventral e lateral. ....	50
Figura 3.5 - a) Gráfico com os escores do PC1 e PC2 de machos e fêmeas de <i>P. frenatus</i> da população de Restinga barra de Maricá, RJ, na vista dorsal do crânio; “wireframe” representando a forma media sobreposta a forma do indivíduo MNRJ26781 e do indivíduo MNRJ28807, com respectivas fotografias. ....	52

Figura 3.6. Gráfico com os escores do PC1 e PC2 da vista ventral do crânio com elipses do 90% de confiança de machos e fêmeas de <i>P. frenatus</i> da população de Restinga barra de Maricá, RJ. ....	53
Figura 3.7 - Gráfico com os escores do PC1 e PC2 de machos e fêmeas do quadrante X17 na vista lateral do crânio de <i>P. frenatus</i> ; “Wireframe” mostrando as mudanças da forma média sobreposta a forma do indivíduo MNRJ 28612 e do indivíduo MNRJ 28899 com respectivas fotografias. ....	54
Figura 3.8 - Histograma de frequências dos escores discriminantes da vista dorsal do crânio para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga Barra de Maricá através do teste Jacknife (leave-one-out) “cross-validation”. ....	56
Figura 3.9 - “Wireframe” do crânio de <i>P. frenatus</i> em vista dorsal, da população de restinga Barra de Maricá, mostrando as configurações médias de marcos anatômicos de machos (azul escuro) e fêmeas (azul claro), evidenciando as diferenças da forma encontradas na Análise Discriminante.....	56
Figura 3.10 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga barra de Maricá na vista ventral, através do teste Jacknife (leave-one-out) “cross-validation”. ....	58
Figura 3.11 - “Wireframe” do crânio de <i>P. frenatus</i> em vista ventral, mostrando as diferenças encontradas na Análise Discriminante, da forma do crânio entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da população de restinga Barra de Maricá. ....	58
Figura 3.12 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga barra de Maricá na vista lateral do crânio através do teste Jacknife (leave-one-out) “cross-validation”. ....	60
Figura 3.13 - “Wireframe” do crânio de <i>P. frenatus</i> em vista lateral, mostrando as diferenças da forma do crânio encontradas na Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da população de restinga Barra de Maricá.....	60
Figura 3.14 - Gráfico com os escores dos dois primeiros componentes principais para machos e fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista dorsal e grade de deformação representando as mudanças da forma explicadas pelos valores positivos e negativos do PC1. ....	63
Figura 3.15 - Gráfico com os escores dos dois primeiros componentes principais para machos e fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista dorsal e grade de deformação representando as mudanças da forma explicadas pelos valores positivos do PC1 utilizando os marcos anatômicos de Astúa (2010).....	63
Figura 3.16 – Gráfico com os escores dos dois primeiros componentes principais de machos (azul) e fêmeas (vermelho) de <i>P. frenatus</i> na vista ventral do crânio e grade de deformação da vista ventral representando as mudanças da forma explicadas pelos valores positivos e negativos do PC1.....	63
Figura 3.17– Gráfico com os escores do PC1 e PC2 de machos (azul) e fêmeas (vermelho) de <i>P. frenatus</i> na vista ventral do crânio, e grade de deformação da vista ventral representando as mudanças da	

forma explicadas pelos valores positivos do PC1 utilizando os marcos anatômicos de Astúa (2010).....	64
Figura 3.18 - Gráfico com os escores do PC1 e PC2 de machos e fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista lateral do crânio e grade de deformação representando as mudanças da forma explicadas pelos valores positivos do PC1.....	65
Figura 3.19 - a) Gráfico com os escores do PC1 e PC2 de machos (azul) e fêmeas (vermelho) de <i>P. frenatus</i> na vista lateral do crânio, com elipses do 90% de confiança e grade de deformação da vista lateral representando as mudanças da forma média (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos do PC1 (linhas azuis) .....	65
Figura 3.20 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas da amostra total na vista dorsal através do teste Jackknife (leave-one-out) “cross-validation” .....	67
Figura 3.21 - a) Grade de deformação da vista dorsal representando as mudanças da forma média das fêmeas (pontos azuis) para atingir a forma média dos machos (vetores). “Wireframe” do crânio de <i>P. frenatus</i> em vista dorsal, mostrando as diferenças na forma do crânio através da Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (azul claro) e machos (azul escuro) da amostra total.....	67
Figura 3.22 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas na vista ventral através do teste Jackknife (leave-one-out) “cross-validation” .....	69
Figura 3.23 – (a) Grade de deformação e “wireframe” da vista ventral do crânio representando as mudanças da forma média entre machos e fêmeas.....	69
Figura 3.24 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas da amostra total na vista lateral através do teste Jackknife (leave-one-out) “cross-validation”. Fêmeas em barras vermelhas, machos em barras azuis.....	71
Figura 3.25 - (a) Grade de deformação com vetores de deslocamento dos marcos anatômicos na vista lateral do crânio. Os vetores indicam o deslocamento dos marcos anatômicos até a forma média dos machos. “Wireframe” do crânio de <i>P. frenatus</i> em vista lateral, mostrando as diferenças na forma do crânio através da Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (azul claro) e machos (azul escuro) da amostra total.....	71
Figura 3.26 - Gráfico como os escores individuais do PC1 e PC2 das vistas dorsal, ventral e lateral do crânio de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos por Macrolocalidades1.....	72
Figura 3.27 - Gráfico com os escores individuais da CV1 e CV2 (acima) e CV2 e CV3 (abaixo), mostrando a variação entre os machos de <i>P. frenatus</i> na vista dorsal do crânio dos blocos geográficos em Macrolocalidades1. Gráfico do “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista dorsal (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores positivos e negativos da CV2 (azul escuro, acima), e positivos e negativos da CV3 (azul escuro; abaixo).....	75
Figura 3.28 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista dorsal (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades1.....	76

Figura 3.29 - Gráfico com os escores da CV1 e CV2 (esquerda) e CV1 e CV3 (direita), mostrando a variação dos machos de <i>P. frenatus</i> na vista ventral do crânio entre Macrolocalidades1.....	78
Figura 3.30 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista ventral (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores).....	78
Figura 3.31 - Gráfico com os escores da CV1 e CV2, e CV1 e CV3 mostrando a variação entre os machos de <i>P. frenatus</i> na vista lateral do crânio e o “wireframe” da configuração média sobreposta a forma explicada pelos valores positivos e negativos das CV1 e CV3.....	80
Figura 3.32 - Gráfico representando as mudanças da forma média do crânio na vista lateral, para atingir a forma média do crânio do bloco D, através da grade de deformação e sobreposição do “wireframe” das configurações médias.....	81
Figura 3.33 - Gráfico dos escores, para os dois primeiros componentes principais das vistas dorsal, ventral e lateral do crânio de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos (macrolocalidades2).....	82
Figura 3.34 - Gráfico dos escores da CV1 e CV2 e da CV1 e CV3 na vista dorsal do crânio de machos de <i>P. frenatus</i> . Variação entre macrolocalidades2: “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista dorsal (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores negativos da CV1 e positivos da CV1.....	84
Figura 3.35 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista dorsal (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades2.....	85
Figura 3.36 - Gráfico com os escores da CV1 e CV2 e da CV1 e CV5 da vista ventral do crânio de machos de <i>P. frenatus</i> . Variação entre blocos geográficos Macrolocalidades2. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista ventral do crânio dos machos (azul claro), sobreposta as deformações explicadas pelos valores negativos e positivos da CV1, e valores negativos e positivos da CV5.....	87
Figura 3.37 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista ventral (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades2.....	88
Figura 3.38 - Gráfico com os escores da CV1 e CV2 da vista lateral do crânio de machos de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades2. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista lateral do crânio dos machos (azul claro), sobreposta as deformações explicadas pelos valores negativos e positivos da CV1, e pelos valores negativos e positivos da CV2.....	90
Figura 3.39 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista lateral (pontos azuis), para atingir a forma média do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades2.....	91

Figura 3.40 - Gráfico com os escores individuais do PC1 e PC2 da vista dorsal, ventral e lateral do crânio de fêmeas de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades1. ....	95
Figura 3.41 - Gráfico com os escores da CV1 e CV2, mostrando a variação entre as fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista lateral do crânio. “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista lateral (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores positivos da CV2 (azul escuro; acima), negativos da CV2 (azul escuro; embaixo), positivos da CV3 (azul escuro; acima) e negativos da CV3 (azul escuro; embaixo). Gráfico com os escores das variáveis canônicas CV2 e CV3, mostrando a variação entre as fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista lateral do crânio. ....	97
Figura 3.42 - Gráfico representando as mudanças da forma média do crânio das fêmeas na vista lateral das Macrolocalidades1, para atingir a forma média do crânio do bloco D, com grade de deformação e “wireframe” indicando as mudanças da forma media da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores).....	98
Figura 3.43 - Gráfico dos escores individuais do PC1 e PC2 do crânio das fêmeas de <i>P. frenatus</i> na vista dorsal; Variação entre blocos geográficos em macrolocalidades2.....	99
Figura 3.44 - Gráfico dos escores individuais do PC1 e PC2 do crânio das fêmeas de <i>P. frenatus</i> nas vistas ventral e lateral; Variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades2.....	100
Figura 3.45 - Gráfico com os escores individuais da CV1 e CV2 da vista lateral do crânio das fêmeas de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades2. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista lateral do crânio (azul claro), sobreposta as deformações explicadas pela CV1 e CV2 nos valores positivos e negativos.....	103
Figura 3.46 - Gráfico com os escores individuais da CV5 e CV6 da vista lateral do crânio das fêmeas de <i>P. frenatus</i> , mostrando a variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades2. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista lateral do crânio (azul claro), sobreposta as deformações explicadas pelo CV5 e CV6 nos valores positivos e negativos.....	104
Figura 3.47 - Gráfico representando as mudanças da forma media (Macrolocalidades2) do crânio das fêmeas na vista lateral, para atingir a forma média do crânio do bloco D. Grade de deformação e “wireframe” indicando as mudanças da forma media da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores).....	105
Figura 3.48 - Gráfico dos escores individuais do PC1 e PC2 da matriz de resíduos de Procrustes das três vistas do crânio dos machos de <i>P. frenatus</i> . Variação entre blocos geográficos macrolocalidades1 e Macrolocalidades2.....	108
Figura 3.49 - Gráfico dos escores individuais do PC1 e PC2 da matriz de resíduos de Procrustes das três vistas do crânio das fêmeas de <i>P. frenatus</i> . Variação entre blocos geográficos em Macrolocalidades1 e Macrolocalidades2.....	109

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Marcos anatômicos utilizados na vista dorsal do crânio.....	21
Tabela 2 - Marcos anatômicos utilizados na vista ventral do crânio. ....	22
Tabela 3 - Marcos anatômicos utilizados na vista lateral do crânio. ....	23
Tabela 4 - Exemplos de <i>P. frenatus</i> utilizados no teste do erro de digitação dos marcos anatômicos nas três vistas do crânio.....	41
Tabela 5 - Procrustes ANOVA: tamanho do centroide, vista dorsal.....	46
Tabela 6 - Procrustes ANOVA: forma, vista dorsal.....	46
Tabela 7 - Procrustes ANOVA: tamanho do centroide, vista ventral. ....	47
Tabela 8 - Procrustes ANOVA: forma, vista ventral. ....	47
Tabela 9 - Procrustes ANOVA: Tamanho do centroide, vista lateral.....	49
Tabela 10 - Procrustes ANOVA: Forma, vista lateral. ....	49
Tabela 11 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista dorsal do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá.....	55
Tabela 12 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista ventral do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá, RJ.....	57
Tabela 13 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista lateral do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá, RJ.....	59
Tabela 14 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista dorsal.....	66
Tabela 15 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista ventral.....	68
Tabela 16 - Classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista lateral.....	70
Tabela 17 - Distâncias de Procrustes entre os blocos geográficos Macropopulações1. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.....	74
Tabela 18 - Distâncias de Mahalanobis entre os blocos geográficos Macropopulações1. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.....	74
Tabela 19 - Distâncias de Procrustes entre blocos geográficos (Macropopulações1). Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.....	77
Tabela 20 - Distâncias de Mahalanobis entre os blocos geográficos (Macrolocalidades1). Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.....	77
Tabela 21 - Distâncias de Procrustes entre os blocos geográficos (Macrolocalidades1). Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.....	81

Tabela 22- Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos. ....	81
Tabela 23 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos das Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.....	91
Tabela 24 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos Macro localidades 2. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos .....	92
Tabela 25 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos em Macro localidades 2. Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.....	92
Tabela 26 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos das Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.....	93
Tabela 27 - Distancias de Procrustes entre os blocos geográficos, Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.....	93
Tabela 28 - Distancias de Mahalanobis entre blocos geográficos, Macro localidades 2. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.....	94
Tabela 29 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.....	98
Tabela 30 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.....	99
Tabela 31 - Distancias de Procrustes entre os blocos geográficos (Macrolocalidades2). Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.....	105
Tabela 32 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos, (Macrolocalidades2). Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.....	106

## RESUMO

GONZÁLEZ, Arias Camilo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2014. **Varição geográfica e dimorfismo sexual de *Philander frenatus* (Olfers, 1818), (Mammalia, Didelphimorphia: Didelphidae) através de morfometria geométrica craniana.** Orientador: Pedro Romano. Coorientadora: Gisele Lessa.

Este estudo analisa a variação morfológica do crânio de *Philander frenatus*, em relação ao dimorfismo sexual no tamanho e forma do crânio, e em relação à variação geográfica de populações brasileiras, em especial aquelas provenientes da Mata Atlântica Brasileira. Através de técnicas de morfometria geométrica utilizando marcos anatômicos bidimensionais do crânio e superimposição de Procrustes, foram avaliados 290 indivíduos adultos, sendo 169 machos e 120 fêmeas. Fotografias padronizadas do crânio foram tomadas nas vistas dorsal, ventral e lateral, nas quais foram digitados 33, 34 e 29 marcos anatômicos respectivamente. O Dimorfismo sexual no tamanho foi avaliado utilizando o tamanho do centroide como medida. Os valores das três vistas do crânio foram comparados através de teste-t, todas indicando que os machos apresentam em média crânios maiores que as fêmeas. Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Discriminante (DA) foram utilizados para avaliar o dimorfismo sexual na forma na população com maior número de indivíduos da mesma localidade e na amostra total. Ambas as análises indicaram resultados similares no nível intrapopulacional e intraespecífico. Embora a forma do crânio de machos e fêmeas tenha apresentado uma ampla sobreposição nas análises das três vistas, foram encontradas divergências na variação da forma do crânio em cada sexo. De forma geral, os machos apresentaram um crânio com rosto mais curto, arco zigomático mais alto com processo frontal do jugal mais proeminente, crista sagital e processo pós-orbital mais desenvolvidos, e caixa craniana levemente mais estreita. Para as análises de variação geográfica duas análises foram feitas. Uma agrupando os indivíduos em quatro blocos geográficos (Macrolocalidades<sup>1</sup>) A: Corredor central da Mata Atlântica; B: Corredor cerrado-Zona da mata; C Corredor da serra do mar; D: Interior de SP, sul de GO e PR e outra em 8 blocos geográficos, (macrolocalidades<sup>2</sup>) subdividindo os blocos A (A1, A2), B (B1, B3), e C (C1, C2, C3). A variação na forma do crânio foi avaliada por separado em machos e fêmeas através de PCA nas três vistas, e Análises de Variáveis Canônicas (CVA) nas três vistas do crânio dos machos e na vista lateral do crânio das fêmeas. Em machos e em fêmeas o PCA não indicou nenhum padrão geográfico da variação morfológica do crânio nas três vistas avaliadas, nem na matriz das três vistas do crânio juntas. A CVA da vista ventral do crânio foi pouco informativa enquanto as vistas dorsal e lateral

evidenciaram padrões similares de separação e sobreposição dos blocos geográficos nos eixos de CV. Os dois agrupamentos por blocos biogeográficos indicaram resultados similares, e revelaram um padrão geográfico da variação morfológica do crânio. Foi observada uma sobreposição entre os blocos geográficos do Corredor da Serra do Mar (bloco C), Cerrado-Zona da Mata (bloco B) e o Corredor Central da Mata Atlântica (bloco A). O bloco do interior de SP, PR, e sul de GO (bloco D) apresentou uma sobreposição parcial com o bloco C, mas evidenciou variações morfológicas que o afastam da forma de referência e o discriminaram do bloco. A CVA da vista dorsal indicou que as principais variações da forma média do crânio dos indivíduos do bloco D, com respeito da forma de referência, foram associadas a uma constrição anteroposterior do pré-maxilar, expansão anterior do maxilar, uma leve expansão do arco zigomático, e um deslocamento posterior dos parietais, além de haver uma compressão do pré-maxilar e maxilar indicando um rosto levemente mais curto. As divergências na variação morfológica apresentada por exemplares do interior de SP, PR e sul de GO podem ser devido a um certo grau de isolamento das populações, afastadas das populações dos corredores de florestas da Serra do Mar, Zona da mata e do Corredor Central da Mata Atlântica, assim como a diferentes pressões ambientais devido a heterogeneidade ambiental presente no bioma.

## ABSTRACT

GONZÁLEZ, Arias Camilo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2014. **Geographic variation and sexual dimorphism in *Philander frenatus*, Olfers, 1818, (Mammalia, Didelphimorphia: Didelphidae) by cranial geometric morphometrics.** Adviser: Pedro Romano. Coadviser: Gisele Lessa.

This study analyzes the morphological variation in the skull in *Philander frenatus* with regard to sexual size and sexual shape dimorphism of the skull, and to the geographic variation of Brazilian Atlantic Forest populations. A total of 290 adult individuals, consisting of 169 males and 120 females, were analyzed by geometric morphometric techniques using two-dimensional skull anatomical landmarks and Procrustes superimposition. Standardized photographs of the skull were taken in dorsal, ventral and lateral view, where 33, 34 and 29 anatomical landmarks were respectively digitized. Sexual size dimorphism was assessed by using centroid size as measurement. The values from the three views of the skull were compared by the t-test and all showed males as having larger skulls than females on average. Principal Component Analysis (PCA) and Discriminant Analysis (DA) were used to evaluate sexual shape dimorphism in the population with the largest number of individuals from the same locality and in the entire sample. Both analyses indicated similar results when assessed intrapopulationally and intraspecifically. Although the skull shape in males and females showed a great overlap in analyses of the three views, different variation trends were found for each sex. In general, male skulls had a shorter rostrum, higher zygomatic arch with a more prominent frontal process of the jugal bone, more developed sagittal crest and postorbital process, and a slightly narrower braincase. Two analyses were carried out for geographic variation. In one analysis individuals were grouped into four geographic clusters (Macrolocalities1): A - Atlantic Forest Central Corridor; B - *Cerrado-Zona da Mata* Corridor; C - *Serra do Mar* Corridor; and D - Cities of São Paulo (SP) State, and south of Goiás (GO) State and Paraná (PR) State. In the other analysis, they were grouped into eight subdivided geographic clusters (Macrolocalities2): A (A1, A2), B (B1, B2) and C (C1, C2, C3). Skull shape variation was evaluated separately for males and females by PCA in the three views and by Canonical Variate Analyses (CVA) in the three views for males, and in lateral view for females. No geographic morphological variation pattern was revealed in the three views evaluated or in the matrix of the three views pooled together in males or females using PCA. The CVA of ventral view was uninformative, but dorsal and lateral views showed similar trends of separation and overlap between geographical clusters in the CV axes. Both clustering types

indicated similar results and revealed a geographic pattern of skull morphological variation. An overlap was observed among geographical clusters of *Serra do Mar* Corridor (cluster C), *Cerrado-Zona da Mata* Corridor (cluster B) and Atlantic Forest Central Corridor (cluster A). The Cluster including the cities of SP, PR and south of GO (cluster D) showed a partial overlapping with cluster C, but demonstrated morphological variations that characterized it as far from the reference shape and discriminated it from cluster A. The CVA of the dorsal view indicated that main variations in the average skull shape of individuals from cluster D, as compared with the reference shape, were associated with premaxillary anteroposterior constriction, maxillary anterior expansion, slightly expanded zygomatic arch, and a posterior displacement of the parietal bones. The lateral-view analysis indicated that variations in the average skull shape from cluster D, constant in males and females, as compared with the average shape of the sample, were maxillary and pre-maxillary compression, indicating a slightly shorter rostrum. The divergence in morphological variation displayed by samples from the cities of SP, PR and south of GO might be due to some degree of isolation of populations, with them being far from the populations of the *Serra do Mar*, *Cerrado-Zona da Mata* and Atlantic Forest Central Corridors as well as different environmental pressures to the environmental heterogeneity of the biome.

## INTRODUÇÃO

### 1.1 - Variação morfológica e morfometria

A comparação das características anatômicas e morfológicas dos organismos tem sido um elemento central na biologia durante séculos, com as primeiras tentativas de caracterizar geometricamente as diferenças entre formas biológicas feitas por Albrecht Durer (*Vier Bucher von Menschlicher Proportion*, 1524), quem fez pela primeira vez uma caracterização geométrica da forma humana sobre uma grade sobreposta, inclusive antes da noção sobre as coordenadas retangulares propostas por René Descartes (Monteiro & Reis, 1999). Grandes pensadores na história humana tem estudado as formas biológicas, como Galileu (1638) ilustrando as diferenças na forma de ossos de animais grandes e pequenos, e ao longo do tempo, grandes naturalistas como Darwin tem fundamentado suas teorias com base em observações nas diferenças das formas biológicas, tanto assim que a classificação taxonômica e o entendimento da diversidade biológica, foram baseadas inicialmente em descrições morfológicas (Dryden & Mardia, 1998; Adams, *et al.*, 2004). No início do século 20th, a biologia passou de ser um campo descritivo, a ser uma ciência quantitativa, como preconizado por D'Arcy Thompson (1917), e as análises morfológicas entraram em uma “revolução quantitativa” (Bookstein, 1998). A morfometria em uma de suas definições mais clássicas designa qualquer análise quantitativa da variação morfológica dos organismos, estudando a variação da forma e sua covariação com outros fatores e variáveis bióticas ou abióticas (Bookstein, 1991; Dryden & Mardia, 1998; Webster & Sheets, 2010). Essa quantificação apresenta um maior rigor necessário na descrição e comparação entre morfologias. Para que sistemas orgânicos mantenham sua equivalência funcional ao longo do crescimento, estes devem sofrer modificações nas proporções entre diferentes partes do sistema, e em muitos casos também na constituição do material em questão (p.ex.: modificando a densidade). A estas alterações nas proporções do tamanho e forma de um organismo denomina-se alometria (Peres-Neto *et al.*, 1995), e a integração de diversas respostas alométricas durante o crescimento de um indivíduo, determinam a forma de um organismo (Peres-Neto & Bizerril, 1994, *apud* Peres-Neto *et al.*, 1995). A aplicação das técnicas morfométricas beneficia assim, qualquer campo da pesquisa que depende da morfologia comparativa: áreas como a biologia evolutiva, sistemática, bioestratigrafia, biologia do desenvolvimento, ontogenia, modularidade, estudos de heterocronia, e de processos e padrões macro e microevolutivos (Webster & Sheets, 2010).

Estudos em diferentes organismos demonstram que a microevolução, o processo de pequenas mudanças evolutivas dentro de populações de uma determinada espécie (Avice 2000) é um fenômeno

frequente na natureza, particularmente quando as populações são expostas a condições diferentes (Pamilo, 1998). Em geral, as diferentes pressões de seleção levam a mudanças adaptativas, muitas destas com uma base genética. No entanto, a microevolução adaptativa pode ser também influenciada pela plasticidade fenotípica (Losos *et al.*, 2001; Trussell & Etter, 2001). A descrição de padrões de variação em caracteres genéticos ou morfológicos dentro e entre populações, é uma ferramenta útil para determinar limites de unidades evolutivas independentes na natureza. Um passo fundamental no reconhecimento de essas unidades é a identificação de populações que compartilham características morfológicas e continuidade no espaço geográfico (Reis *et al.*, 2002). Em relação as características morfológicas, as variações intra-específicas são o resultado da diversidade genética, seleção natural, isolamento reprodutivo, isolamento geográfico, heterogeneidade ambiental, entre outros fatores (Trussell & Etter, 2001).

As aproximações descritivas da variação morfológica podem ser acessadas através de métodos de análises de morfometria tradicional e/ou morfometria geométrica (Rohlf & Marcus 1993; Reis *et al.*, 2002; Fruciano *et al.*, 2011). A morfometria tradicional pode ser entendida como o estudo da variação e covariação de medidas de distância, entre pares de pontos anatomicamente homólogos, ou entre pontos de tangência ou extremos de estruturas (longitudes, larguras, ângulos, raios). Ou seja, é o estudo de como e quanto estas medidas variam, e de como e quanto estão relacionadas entre si (Astúa 2003). O problema destes métodos tradicionais usando distâncias lineares é que, geralmente, não capturam muita informação sobre a forma do organismo como um todo, apesar de descreverem o padrão de covariação das medidas, inclusive podendo identificar regiões com maior ou menor grau de covariação. Apesar de esses métodos evidenciarem que existem diferenças por vezes significativas, não é possível uma representação gráfica da localização destas diferenças que são deduzidas das análises das matrizes geradas pelos métodos multivariados (Astúa 2003). Outro problema é que a utilização de medidas lineares originais não remove o componente de tamanho por separado e, portanto, a variância representada pelo tamanho pode mascarar variâncias devidas à morfologia em si.

Uma metodologia alternativa ao uso de medidas lineares, conhecida como “Morfometria Geométrica” surgiu durante os anos 1980, permitindo a análise e a quantificação da variação entre formas e a clara visualização gráfica das diferenças. Neste contexto, a forma é definida como a configuração de pontos que são invariantes à translação, rotação e escalamento (Bookstein, 1989a, 1989b, 1991). No início da década dos 90’s uma “revolução” na morfometria foi proclamada por Rohlf & Marcus (1993) na publicação intitulada “*A revolution in morphometrics*”. Esta nova metodologia, integrando fundamentos

de biologia, geometria e estatística, abrange uma série de técnicas que visam descrever e representar graficamente a geometria das formas estudadas (Bookstein, 1991; Rohlf & Marcus 1993; Adams 2004; Zelditch *et al.*, 2004). Esta descrição pode ser feita através do estabelecimento de pontos ou marcos anatômicos de referência em estruturas homólogas, ou ainda através da análise do contorno de estruturas. Nas análises baseadas em marcos anatômicos, as coordenadas destes pontos, sejam em duas ou três dimensões (2D ou 3D), são as variáveis que capturam a informação sobre a geometria das estruturas estudadas e incluem informações sobre suas posições relativas, permitindo a reconstrução da forma após as diversas análises uni- e multivariadas (Rohlf & Marcus 1993; Astúa 2003; Adams *et al.*, 2004).

A morfometria geométrica apresenta outra inovação nas análises, tratando por separado tamanho e forma, através das propriedades do tamanho do centroide (Bookstein 1991) como uma medida do tamanho independente da forma (Monteiro & dos Reis 1999). As bases metodológicas e os fundamentos matemáticos e estatísticos da morfometria geométrica tem sido amplamente estudados e encontram-se descritos em detalhe na literatura (p.ex.: Bookstein 1991, 1996; Rohlf & Slice 1990; Rohlf & Marcus 1993; Adams *et al.* 2004;; Zelditch *et al.* 2004), com guias e protocolos metodológicos práticos para desenvolver estudos utilizando programas disponíveis na internet (p.ex.: Rohlf 1998; Zelditch *et al.* 2004; Webster & Sheets 2010; Viscosi & Cardini 2011; Klingenberg 2013), alguns dos quais foram desenvolvidos especificamente para análises de morfometria geométrica levando em consideração a simetria bilateral das estruturas quando presente (Klingenberg 2011, 2013) e permitem a aplicação das técnicas a uma ampla variedade de organismos e estruturas biológicas (Viscosi & Cardini 2011; Klingenberg *et al.*, 2001; Astua *et al.*, 2000; Zelditch *et al.*, 2004).

## 1.2 - O crânio e a variação morfológica

Na sistemática zoológica, a informação mais utilizada para o reconhecimento de padrões de variação morfológica entre idades, sexos, espécies, populações, e até diferentes níveis taxonômicos e diferentes clados, tem sido gerada a partir de análises de variação na forma e tamanho do crânio (Sanger *et al.*, 2013; Reis *et al.* 2002 a, b; Bornholdt *et al.*, 2006; Cardini *et al.*, 2005; Astúa 2010), uma importante estrutura que compreende o aparato trófico, cérebro e órgãos dos sentidos (Herring 1993; Voss *et al.*, 1990). O crânio tem sido particularmente útil em estudos de variação morfológica por possuir complexos padrões de crescimento e várias funções integradas exercidas pelos diferentes órgãos (Moore, 1981). Várias dessas funções como olfato, visão, respiração, mastigação e deglutição, podem ser distintas até certo grau, mas são desenvolvidas por uma série de órgãos interconectados, precisando da integração de estruturas de outra forma dissociadas (Cheverud, 1995; Porto *et al.*, 2009; Shirai & Marroig, 2010). No livro “A origem das espécies”, Darwin reconheceu que as interações entre diferentes estruturas ao longo da ontogenia poderiam influenciar a variação dentro e entre caracteres morfológicos, e que isto poderia ter implicações na evolução de organismos multicelulares complexos, mas foi muitos anos depois que os organismos vivos deixaram de ser considerados como um conjunto de caracteres discretos, e passaram a ser entendidos como sistemas complexos, com diferentes caracteres interagindo por vias genéticas e ontogenéticas compartilhadas (Olson & Miller 1958; Steppan *et al.*, 2002; Porto 2009).

Com base nas relações de desenvolvimento e/ou funções comuns, são reconhecidas duas regiões principais do crânio: o neuro crânio e a face (Cheverud, 1995, Marroig & Cheverud 2001, Marroig *et al.*, 2009, Porto *et al.*, 2009, Shirai & Marroig 2010). Este padrão de integração morfológica é observado em diferentes grupos de mamíferos apresentando diferentes magnitudes de integração (Cheverud, 1995, Marroig *et al.*, 2009, Porto *et al.*, 2009, Shirai & Marroig, 2010,). O neuro crânio é formado por células do mesodermo paraxial (Moore 1981) e é dividido na abóboda craniana ou caixa craniana, que responde pelo crescimento do cérebro; a base craniana, que responde tanto pelo crescimento do cérebro e fatores somáticos de ação tardia (células da crista neural, ver Cheverud, 1995); e pela orbita, que responde pelo crescimento dos olhos. Já a face, originada a partir de células da crista neural (Moore 1981), é dividida na região oral, correspondendo ao crescimento dos dentes e a cavidade oral, região nasal correspondendo ao crescimento da cartilagem do septo nasal, e região do zigomático, respondendo à fixação e atividade dos músculos da mastigação (Cheverud, 1995).

### 1.3 - Os Marsupiais do novo mundo

Os mamíferos Eutérios são diferenciados dos Metatérios principalmente em base a anatomia e biologia reprodutiva e a presença do trophoblasto durante o desenvolvimento (uma capa extraembrionária que recobre a massa interna de células embrionárias (Novacek, 1986 *apud* Rose 2006). No entanto, essa caracterização não pode ser aplicada no registro fóssil. Consequentemente, morfologistas e paleontólogos tem determinado várias características de tecidos duros (dentes e ossos) confiáveis no reconhecimento de cada grupo (Rose, 2006).

Nos mamíferos, o desenvolvimento diferencial das sub-regiões do crânio durante a ontogenia e as necessidades que os diferentes mecanismos reprodutivos implicam, tem demonstrado ser um dos fatores que influenciou a evolução de mamíferos placentários e metatérios (Sears 2004 *apud* Bennett & Goswami 2013). O registro fóssil e as estimativas moleculares concordam em que as linhagens que levaram aos mamíferos placentários e marsupiais, divergiram há mais de 160 milhões de anos, no Jurássico tardio (Luo *et al.*, 2011; Dos Reis *et al.*, 2012). Os marsupiais recentes e os placentários diferem amplamente em diversidade taxonômica e distribuição geográfica. Enquanto os placentários apresentam mais de 5.000 espécies e se encontram globalmente distribuídos, os marsupiais atuais são muito menos diversos, com 331 espécies, e distribuídos apenas em Australasia, América do Sul, América Central, e uma espécie na América do Norte (Wilson & Reeder, 2005), a pesar de que o registro fóssil dos marsupiais indica que este clado já apresentou distribuição global em épocas passadas (Luo *et al.*, 2003; Ladevèze *et al.*, 2012). A presença de marsupiais na Austrália aparentemente representa a dispersão desde a América do Sul, por meio da Antártica, no início da Era Cenozoica, assim, o isolamento subsequente da Austrália a América do Sul pode ter permitido a diversificação dos marsupiais sobre tal continente (Pough *et al.*, 2008).

Por muito tempo tem sido debatido se as precoces demandas funcionais tem limitado a evolução de novas morfologias nos fenótipos dos marsupiais (Lillegraven 1974; Kirsch 1977; Maier W. 1993; Bennet & Goswami, 2013), fazendo ênfase na marcada diferença em diversidade, e na ausência de espécies de marsupiais voadoras ou totalmente aquáticas.

As três infra-ordenes de mamíferos vivos (Monotremata, Eutheria e Metatheria) são claramente caracterizados pela distinção nos seus modos reprodutivos e de desenvolvimento. Nos metatérios, filhotes nascem em um estado muito altricial e tem que completar o seu desenvolvimento ligado às tetas (Tyndale-Biscoe & Renfree, 1986). Os filhotes, nascidos após uma gestação de cerca de 13-35 dias, tem que alcançar as tetas por si mesmos. Para isto, eles nascem com os membros anteriores desenvolvidos precocemente, com dígitos e garras, capazes de agarrar e puxar o corpo, enquanto os

membros posteriores são botões simples ou almofadas (Tyndale-Biscoe & Renfree, 1986; Martin & Mackay, 2003). A natureza dessa “viagem” obrigatória até as tetas da mãe, varia entre os clados de marsupiais, dependendo da localização das tetas, posição da abertura da bolsa ou marsúpio, e até mesmo a ausência da bolsa (Wilson & Reeder, 2005). A demanda mecânica não acaba com a chegada na teta, já que o neonato deve satisfazer a necessidade de sugar para sobreviver. Para essa função, na hora do nascimento o crânio dos marsupiais deve estar ossificado na região oral (porção anterior da mandíbula, pré-maxila, maxila, palatinos e pterigoides) para se alimentar, e na região exoccipital para o movimento da cabeça relativo a espinha dorsal, enquanto os restantes ossos cranianos se ossificam depois do nascimento (Clark & Smith, 1993). Em contraste, os neonatos mais altriciais dos mamíferos placentários já nascem com todos ou quase todos os ossos do crânio ossificados ou parcialmente ossificados antes de exercer a sucção (Benett & Goswami, 2013). Bennet & Goswami (2013) utilizando técnicas de morfometria geométrica encontraram evidências estatísticas de que a temprana ossificação da região oral e a sub-região do viscerocranium em marsupiais restringe a evolução das morfologias do crânio. Os estudos de Sears (2004), Cooper & Steppan (2010) Kelly & Sears (2011) encontraram evidências das restrições na morfologia da cintura escapular dos marsupiais, produzida pelos requerimentos funcionais precoces, sendo esse rastejamento precoce um fator limitante das morfologias das extremidades anteriores em marsupiais.

O mais recente trabalho compilando e acrescentando informação sobre evolução, classificação, e relações filogenéticas dos marsupiais do Novo mundo, de Voss & Jansa, 2009, indica que o registro mais antigo de mamíferos metatérios conhecido, foi encontrado em sedimentos do Cretáceo do leste da Ásia e oeste da América do Norte, com outros registros de metatérios presentes nos registros do Terciário na Europa e África, a pesar de que esse grupo, provavelmente evoluiu na América do sul e subsequentemente dispersou-se através da Antártica na Austrália e Nova Guiné (Muizon *et al.*, 1997; Springer *et al.*, 1997; Rougier *et al.*, 1998 *apud* Voss & Jansa, 2011)

Os marsupiais do Novo Mundo são atualmente classificados em três ordens. Paucituberculata inclui apenas três gêneros e seis espécies de pequeno porte, com pesos de 25 – 50 g em uma única família (Caenolestidae). Microbiotheria apresenta uma família monotípica com uma única espécie de pequeno porte, *Dromiciops gliroides*. Por último, a ordem Didelphimorphia, constitui a linhagem mais basal do grupo (Amrine-Madsen *et al.*, 2003;) e é conformada por uma única família, Didelphidae que se encontra atualmente conformada por 19 gêneros e >90 espécies (Voss & Jansa, 2011). A família Didelphidae apresenta o maior registro fóssil das famílias de mamíferos viventes (aproximadamente 75 milhões de anos), e inclui espécies com forma do crânio muito similar a representantes extintos do Cretáceo, sendo sustentada fortemente pela retenção de caracteres primitivos. Por tal motivo a forma geral do crânio das espécies viventes tem sido considerada como morfologicamente conservativa (Reig

*et al.*, 1987). A formula dentaria dos didelfídeos vivos e extintos conhecidos, composta por 50 dentes, tem persistido sem modificações significativas desde o Cretáceo (Hershkovitz 1997). A maioria dos autores reconhece a formula dentaria I1-5, C1, P1-3, e M1-4 na dentição superior e I1-4, c1, p1-3, e m1-4 na dentição inferior, e como em outros metatérios, somente o terceiro pré-molar superior e inferior apresentam precursores decíduos (Flower, 1867 *apud* Voss & Jansa 2009; Lockett, 1993; Luo *et al.*, 2004).

De acordo com Voss & Jansa (2009), membros desta família são agrupados nas subfamílias Glironiinae Voss & Jansa, 2009, Caluromyinae Reig *et al.*, 1987, Hyladelphinae Voss & Jansa, 2009 e Didelphinae Gray, 1821. As análises desses autores indicam que a maioria dos gêneros de didelfídeos são grupos monofiléticos com fortes suportes morfológicos e moleculares, e sugerem que os gêneros mais problemáticos enquanto ao monofiletismo molecular, são *Didelphis* Linnaeus, 1758, *Philander* Brisson 1762, *Gracilinanus*, Gardner & Creighton, 1989 e *Caluromys* J.A. Allen, 1900. Vários padrões de relações intergenéricas são consistentes, geralmente com forte suporte morfológico, molecular e citogenético, como por exemplo no caso do clado (*Chironectes* Illiger, 1811 (*Lutreolina* Thomas, 1910 (*Didelphis* + *Philander*))) e um grupo conformado por *Thylamys* Gray, 1843, *Gracilinanus*, e *Cryptonanus* Voss *et al.*, 2005 (ver Voss & Jansa 2009 para mais informação).

Didelfídeos apresentam uma ampla gama do uso do habitat e modos de locomoção, com formas exclusivamente terrestres (*Monodelphis* Burnett, 1830; *Metachirus* Burmeister, 1854), arborícolas (*Caluromys* J. A. Allen, 1900, *Micoureus* Lesson, 1842) e até semi-aquáticas, como o marsupial *Chironectes minimus* Zimmermann, 1780 (Vieira, 2005a, b). Esta variedade de hábitos de locomoção, juntamente com uma ampla gama de tamanhos do corpo, variando de 10 g e 68mm de cabeça-corpo no holótipo da menor espécie conhecida até hoje, *Chacodelphys formosa* (Voss *et al.*, 2004 *apud* Voss & Jansa, 2009) a mais de 3000 g e 500mm de cabeça-corpo na espécie de maior tamanho *Didelphis virginiana* (Hamilton, 1985, *apud* Voss & Jansa 2009), lhes permite ocupar todos os estratos disponíveis em habitats abertos e florestais (Astúa, 2009).

A pesar das semelhanças na forma geral do crânio, análises de morfometria geométrica de Astúa *et al.* (2000), comparando os gêneros de maior tamanho de didelfídeos, permitiram observar as diferenças morfológicas cranianas entre espécies de diferentes gêneros, sendo associadas a diferentes hábitos ecológicos, como o hábito arborícola de *Caluromys philander*, ou os hábitos alimentícios como no caso da altamente carnívora *Lutreolina crassicaudata*. Por outro lado, espécies como *Didelphis aurita* e *Philander frenatus* demonstraram similitudes na forma do crânio, associadas às afinidades filogenéticas como gêneros irmãos, apresentando poucas diferenças, provavelmente devidas às diferenças em tamanho (Astúa *et al.*, 2000). Sebastiao & Marroig (2013) combinando ferramentas de morfometria

tradicional e geométrica, estudaram as trajetórias ontogenéticas do crânio de *Didelphis virginiana* e *Philander opossum* encontrando uma alta similitude nas orientações das trajetórias, indicando que as principais diferenças entre os gêneros em espécimes adultos são mudanças isométricas no tamanho, com uma mínima porção das diferenças devida exclusivamente a variação na forma. Apesar da presença de dimorfismo sexual nestes dois gêneros (Astúa et al., 2000; Astúa, 2010), os resultados dos autores para machos e fêmeas foram similares (Sebastiao & Marroig, 2013).

#### 1.4 - Dimorfismo sexual em Didelphidae

Machos e fêmeas de muitas espécies diferem em morfologia, fisiologia e comportamento, e os padrões de dimorfismo sexual variam entre espécies e divergem tanto em padrões como magnitudes (Sanger et al., 2013). Considerando caracteres morfométricos, o dimorfismo sexual pode acontecer tanto no tamanho ou na forma, sendo que o dimorfismo sexual na forma e tamanho geralmente apresentam diferenças significativas em nível ecológico e de desenvolvimento e são consideradas separadamente em análises comparativas. Essa variabilidade no dimorfismo sexual é o resultado de modificações evolutivas de diferenças sexuais no desenvolvimento (Sanger et al., 2013). O dimorfismo sexual em caracteres qualitativos e quantitativos em Didelphidae tem sido registrado para várias espécies (Bergallo & Cerqueira 1994; Maunz & German 1996; Oliveira et al. 1992; Pine et al. 1985; Astúa 2010). Estudos morfométricos de dimorfismo sexual incluindo análises quantitativos tem sido realizados em níveis intragenericos (Cerqueira & Lemos, 2000; Lemos & Cerqueira 2002; Ventura et al., 1998), intraespecíficos (López-Fuster et al. 2000, 2002; Pine et al. 1985; Steiner & Catzeflis 2003), intergenéricos comparando uma espécie representando cada gênero (Astúa et al., 2000), e até abrangendo a maioria das espécies das três ordens de marsupiais vivos do Novo Mundo (Astúa 2010). Em diferentes espécies de didelfídeos, os diferentes sistemas de acasalamento, níveis de territorialismo, estratégias reprodutivas e a seleção sexual, parecem influenciar a ocorrência e magnitude do dimorfismo sexual no tamanho e forma do crânio (Astúa, 2010). O estudo de Astúa (2010) demonstrou, através de morfometria geométrica, que 50-60% das espécies em Didelphidae apresentam dimorfismo sexual significativo no tamanho e forma craniana, e que este dimorfismo não é homogêneo nem constante dentro dos gêneros, sendo que o dimorfismo no tamanho não implica necessariamente o dimorfismo sexual na forma.

### 1.5 - O gênero *Philander*, Brisson, 1762

Ordem Didelphimorphia, Gill, 1872;

Família Didelphidae Gray, 1821;

Subfamília Didelphinae Gray, 1821;

Tribo Didelphini Gray, 1821

Gênero *Philander* Brisson, 1762

O nome genérico é derivado de *phil—philos* (Gr), amante, e *andr—aner, andros* (Gr), homem (Palmer, 1904), com *Philander* significando amante do homem (Braun & Mares, 1995). O gênero inclui espécies comumente conhecidas como cuícas de quatro olhos (em inglês “four-eyed opossum”), devido à presença de uma mancha branca sobre cada olho. Hershkovitz (1997) relata que a cuíca cinza de quatro olhos dorme enrolada sobre se mesma em forma de bolinha, e a pesar de que os olhos não são visíveis, as manchas supraoculares dão a aparência de um animal com olhos abertos (Hershkovitz 1997).

Durante décadas o *status* nominal do gênero foi discutido por vários autores (Hershkovitz, 1976, 1981, 1997; Husson 1978; Pine 1973; Gardner 1981). Simpson (1972) e Pine (1973) sugeriram que *Philander* devia ser tratado como subgênero de *Didelphis*, mas Reig *et al.*, (1987) demonstraram que o grupo é claramente diferenciado por um conjunto de diversos caracteres anatômicos (Flores *et al.*, 2007).

As relações de *Philander* os gêneros de Didelphidae parecem estar bem resolvidas, sendo que os gêneros mais emparentados são *Didelphis*, *Lutreolina* e *Chironectes* (Voss & Jansa 2009). O monofiletismo de *Philander*, encontra-se moderadamente bem definido por caracteres não moleculares (p.ex.: morfologia e cariótipo) e fortemente suportado por análises de genes concatenados e conjuntos de dados combinados (Voss & Jansa, 2009). Com base em sequencias de genes do citocromo-b mtDNA e hibridização DNA-DNA, o gênero *Didelphis* é considerado o grupo irmão de *Philander* (Castro-Arellano *et al.*, 2000).

Este gênero encontra-se amplamente distribuído no Neotrópico, sendo registrado desde Tamaulipas, México, ao longo da maior parte de America central (Hall, 1981 *apud* Voss & Jansa, 2009) e na América do sul tropical (Patton & Da Silva, 2008) até a porção norte de Argentina nas regiões do Chaco, Formosa e Misiones (Hershkovitz 1997; Flores *et al.*, 2007; Chemisqui & Flores 2012). Encontra-se restrito a florestas de baixada e florestas úmidas de montanhas até altitudes de 1600m (Reid, 1997). As localidades de coleta mapeadas por Anderson (1997), Linares (1998) e Brown (2004) sugerem que as espécies de *Philander* estão ausentes de áreas áridas, semi áridas, ou de paisagens desmatadas (p.ex. Chaco, Cerrado, Caatinga, e Llanos), ocorrendo somente em algumas florestas de galeria. Até hoje, as

espécies incluídas dentro do gênero e suas distribuições são discutidas, e vários aspectos taxonômicos e limites geográficos das distribuições permanecem incertas (Patton & da Silva, 1997; Lew *et al.* 2006).

O gênero *Philander* era considerado tradicionalmente como monotípico com uma única espécie amplamente distribuída, *P. opossum* Linnaeus, 1758, contendo sete subespécies: *P. opossum andersoni* (Osgood), *P. o. azaricus* (Krumbiegel), *P. o. canus* (Osgood), *P. o. grisescens* (Krumbiegel), *P. o. melanurus* (Thomas), *P. o. opossum* (Linnaeus), e *P. o. quica* (Temminck); Cabrera, 1958 apud Voss & Jansa, 2009), até a descrição de *P. mcilhennyi* Gardner & Patton 1972 baseada em caracteres morfológicos do crânio, dentes e pelagem (Gardner & Patton, 1972).

Os arranjos taxonômicos de Emmons & Feer (1990), Gardner (1993) e Hershkovitz (1997) elevaram *P. opossum andersoni* ao nível de espécie e colocaram *P. mcilhennyi* como seu sinônimo júnior. Posteriores estudos filogenéticos e filogeográficos derivaram em profundas modificações na sistemática e taxonomia do grupo (e.g. Patton & da Silva 1997; Patton *et al.* 2000; Patton & Costa 2003). Estes estudos elevaram ao status de espécie a *Philander frenatus* (Olfers) (= *P. o. quica*), e consideraram *P. andersoni* e *P. mcilhennyi* como espécies plenas validas. Novas espécies de *Philander* tem sido recentemente descritas basando-se na morfologia de espécimes depositados em coleções científicas que acreditava-se subespécies de *P. opossum* (Lew *et al.* 2006; Flores *et al.*, 2008).

Apesar dos recentes estudos taxonômicos publicados sobre *Philander* (e.g. Hershkovitz 1997; Patton *et al.*, 2000; Patton & Costa 2003; Costa & Patton 2006; Lew *et al.* 2006; Nunes *et al.* 2006; Flores *et al.* 2008 apud Chemisqui & flores 2012), diferentes autores concordam em que o gênero ainda precisa de uma revisão sistemática completa. Finalmente, o mais recente trabalho de classificação e relações filogenéticas dos marsupiais do Novo mundo de Voss & Jansa (2009), considera 7 espécies no gênero *Philander*, sendo estas *P. andersoni* Osgood, 1913, *P. deltae* Lew *et al.* 2006, *P. frenatus*, Olfers, 1818, *P. mcilhennyi* Gardner & Patton, 1972, *P. mondolfii* Lew *et al.*, 2006., e *P. opossum* Linnaeus, 1758, das quais Patton & da Silva (2007) consideraram somente a última, como composta de 5 sub-espécies, sendo estas *P. o. canus* Osgood, 1913, *P. o. fuscogriseus* J. A. Allen, 1900, *P. o. melanurus* O. Thomas, 1899, *P. o. pallidus* J. A. Allen, 1900. De acordo com isto, o presente trabalho segue a classificação taxonômica e as relações filogenéticas propostas por Voss & Jansa (2009).

### 1.6 - A espécie *Philander frenatus* (Olfers, 1818)

Após uma série de estudos moleculares no gênero *Philander*, houve uma tendência para elevar várias formas anteriormente tratadas como subespécies de *Philander opossum* ao nível de espécie (Patton & da Silva, 1997; Lew *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2007). Patton & da Silva (1997) colocaram pela primeira vez *Philander frenatus* Olfers, 1818 (= *P. frenata*) no nível de espécie com base em sequências do gene cito cromo-b, encontrando altamente divergentes (14%) de todas as outras formas de *P. opossum* Linnaeus, 1758 utilizados na sua análise. Em termos das populações agora consideradas como constituindo *Philander frenatus*, Hershkovitz (1997) atribuiu o sul do Brasil, Paraguai, Bolívia e Peru para populações orientais *P. opossum quica* Temminck (1824) e confinado *P. opossum frenata* (sic) Olfers 1818 para Salvador, Bahia. Esta separação de Táxons é considerada "inexplicável" por Gardner (2007). Castro-Arellano *et al.* (2000), no entanto, utilizou *P. o. frenatus* para as subespécies dos litorais de Mata Atlântica que se estendem do sul do Estado da Bahia até Rio grande do Sul no Brasil, e até a Província de Misiones, na Argentina, e *P. o. azaricus* utilizada para a população paraguaia e animais que habitam o Pantanal e o cerrado do Brasil. Patton & da Silva (1997) consideraram que *P. frenatus* possui uma distribuição inteiramente brasileira que se estende desde pelo menos o estado do Paraná ao norte para a Bahia e interior de Minas Gerais e Goiás, mas observou que a relação de *P. frenatus* para *P. o. azarica* (sic) "permanece a ser determinada". Eles mantiveram *azarica* dentro *P. opossum* sem qualquer justificativa adicional além do fato de que é tradicionalmente colocado ali. Finalmente, Gardner (2007) sinonimizou *azarica* com *frenatus* (Smith 2009), sinonímia aceita também por Voss & Jansa (2009).

Chemisqui & Flores (2012) identificaram os limites de distribuição sul de *Philander frenatus*, indicando que essa espécie está restrita às Florestas úmidas da Mata Atlântica e Floresta Paranaense do sudeste do Brasil, leste do Paraguai e nordeste da Argentina em Misiones, indicando que os espécimes do Chaco e Formosa pertencem a *P. opossum canus*, diferenciados por sequências moleculares, e morfologicamente discriminado de *P. frenatus* por uma única medida craniana, a constrição interorbital. No Paraguai, a espécie tem sido registrada através do leste do País e no leste do departamento Alto Paraná, o Pantanal Paraguaio (Smith, 2009).

A União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) considera *P. frenatus* como de menor preocupação enquanto ao estado de ameaça global (IUCN 2014). Este marsupial apresenta tamanho médio, corpo esbelto e alongado, cauda prensil, longa, coberta de pelagem aproximadamente no primeiro 17% do comprimento total, cinza na região basal descoberta de pelos e porção final branca, rosto cônico, orelhas rosa com borda cinza escuro, grandes e arredondadas, pelagem curta e densa,

cinza no dorso e cabeça, com uma mancha branca ensima de cada olho, cor esbranquescida com manchas amareladas ou cor creme no ventre, garganta e partes laterais do rostro (Smith, 2008). De hábitos noturnos e solitários, habita florestas maduras e secundárias ao longo da região costeira da Mata Atlântica (MA) do Brasil (Emmons & Feer, 1997). No entanto, tem demonstrado ser adaptável e capaz de colonizar ampla variedade de habitats, apresentando uma preferência por áreas de floresta próximas a rios ou áreas húmidas, tipicamente com camada de folhagem densa e áreas rochosas (Moura *et al.*, 2005). No Brasil, é encontrada mais comumente em áreas de florestas húmidas, mas ocorrendo também em habitats mais secos como habitats de restinga. No Paraguai tem sido associada a florestas sempre-verdes semi húmidas, como a floresta sazonalmente inundável do Pantanal (Smith, 2009). O balanço hídrico de *Philander* sugere que é um habitante obrigatório de ambientes méxicos (Fonseca & Cerqueira, 1991 apud Smith 2009). Considerada uma espécie terrestre com capacidade de deslocamento nas árvores, frequentando comumente o estrato arbóreo (Fonseca & Kierulff, 1989; Cunha & Vieira 2002; Vieira & Monteiro-Filho, 2003). Em ambientes fragmentados utiliza pastagens para se deslocar entre fragmentos (Pires *et al.*, 2002) e forragear (Lira *et al.*, 2007). Em relação a alimentação, *P. frenatus* é usualmente classificado como insetívoro-onívoro (Charles-Dominique 1983; Santori *et al.*, 1997), registrando invertebrados como o principal item alimentício, seguido de frutas e pequenos vertebrados (Macedo *et al.*, 2009).

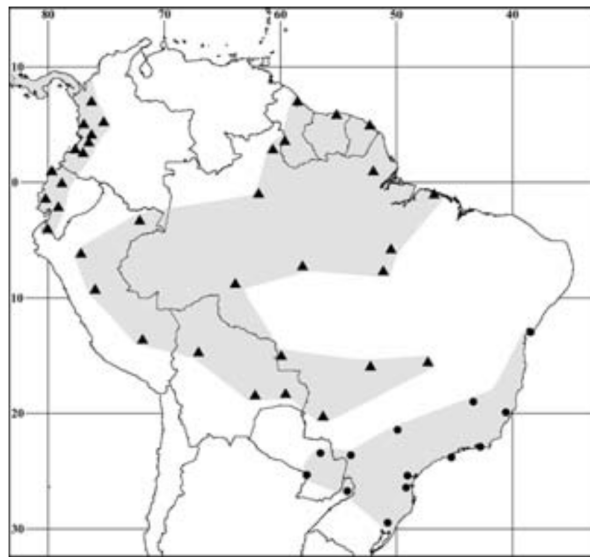


Figura 1.1 - Localidades extremas da distribuição geográfica de *Philander opossum* ▲ e *Philander frenatus* ● na América do Sul. Modificado de Gardner (2007).



Figura 1.2 - Mapa da distribuição geográfica de *Philander frenatus* na América do Sul (Costa *et al.*, 2011), acessada online fevereiro 25 de 2014.

Esta espécie é considerada como estratega-r, favorecendo rápidos incrementos nas taxas populacionais (Hershkovitz, 1997). A pesar de ser considerada de reprodução sazonal, durante as épocas húmidas, apresenta certa flexibilidade nesta condição, podendo se reproduzir em qualquer época do ano em paisagens fragmentados (Barros *et al.*, 2008). As fêmeas podem apresentar de 5 - 9 tetas (usualmente 7) localizadas dentro do marsúpio, e o tamanho da ninhada flutua entre 1 -10, com uma média de 5 filhotes por camada (Smith, 2009). Os machos atingem a madures sexual com 7 meses de idade e as fêmeas com 6-7 meses, a pesar do primeiro estro acontecer somente com 15 meses. O período de gestação usualmente dura entre 13-30 dias (Cimardi, 1996; Hingst *et al.*, 1998). Informação mais detalhada sobre a história natural, ecologia, características morfológicas externas, cranianas, post-cranianas e dentarias pode ser encontrada na literatura (Hershkovitz, 1997; Smith, 2009; Macedo, *et al.*, 2009; Voss & Jansa, 2009; Reis *et al.*, 2006).

## 1.7 - A Mata Atlântica

*Philander frenatus* é uma espécie principalmente distribuída no Brasil, associada principalmente a um bioma em particular, a Mata Atlântica (MA). A MA Brasileira é um dos biomas mais diversos e ameaçados do planeta. Seus níveis de endemismo atingem o 90% para alguns organismos, e seu endemismo geral do 50% é superado unicamente pela Amazônia (Costa *et al.*, 2000). Originalmente a floresta se estendia por 1.360.000 km<sup>2</sup>, sendo 70% de sua cobertura de formações florestais arbóreas densas e o restante, áreas abertas e campos (Rizzini, 1997; MMA, 2002). O bioma MA vem sendo devastado desde a chegada dos primeiros europeus na costa brasileira por volta dos anos 1500, e atualmente as florestas estão reduzidas a menos do 8% de sua extensão original, sendo representada por fragmentos dispersos ao longo da costa brasileira, no interior da região Sul e da Sudeste, no sul dos estados de Goiás e de Mato Grosso do Sul, no interior dos estados do Nordeste e em Misiones na Argentina (MMA, 2002; Galindo-Leal & Câmara, 2005). Atualmente a MA está entre os biomas mais ameaçados do mundo, e essa perda da biodiversidade pode trazer consequências danosas, tais como as perdas de ecossistemas, de populações, de variabilidade genética, de espécies e dos processos evolutivos que mantêm a biodiversidade (Galindo-Leal & Câmara, 2005). Estima-se que nos últimos 400 anos cerca de 250 espécies de aves, mamíferos, répteis e anfíbios foram extintas (Galindo-Leal *et al.*, 2005).

Este bioma ocupa a borda leste do escudo Brasileiro, uma área de topografia complexa sobre curtas distâncias geográficas que foram moldadas pela atividade tectônica no Terciário e as transgressões marinhas no Quaternário (Martins & Coutinho, 1981; Suguio *et al.*, 2005;). É caracterizada por forte sazonalidade, marcados gradientes ambientais e orográficos, modelados pelas chuvas como resultado dos ventos provenientes do Atlântico Tropical (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1993). Devido à complexidade dos fatores mencionados, a MA apresenta uma heterogeneidade ambiental que forma diversas paisagens que incluem florestas abertas, mistas, decíduas, semidecíduas e sempre –verdes (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1988). A MA não faz fronteira com os outros biomas florestados da América do Sul e está circundada pela diagonal seca do continente que é formada pelos biomas Caatinga, Cerrado e Chaco, tornando a MA uma ilha florestada na porção leste do continente sul americano (Ab'Saber, 1977, *apud* Martins 2011).

Das 904 espécies de mamíferos terrestres sul-americanos, 229 são encontradas na Mata Atlântica, e 73 delas ocorrem exclusivamente neste bioma (Fonseca *et al.*, 1999). Comparado com os outros biomas Brasileiros, a Mata Atlântica é o mais diversos para seu tamanho, com um grau de endemismo estimado de 32%, superado somente pela Amazônia, o bioma de maior área, com o 59% da fauna de mamíferos restritos a este bioma.

Esta impressionante diversidade não se encontra distribuída equitativamente entre as ordens, já que o alto nível de endemismos de espécies de mamíferos da Mata Atlântica é devida principalmente à influência de três ordens: marsupiais, roedores e primatas, que juntos compreendem o 84% das espécies endêmicas (Costa *et al.*, 2000). Devido ao alto grau de endemismo da Mata Atlântica, e a seu status como “Hotspot” de Biodiversidade, e alto grau de ameaça, este bioma tem sido objeto de diversas pesquisas biogeográficas procurando estabelecer padrões explicando a atual diversidade e distribuição de diferentes organismos (Carnaval *et al.*, 2009; Carnaval & Moritz 2008; Costa *et al.*, 2000; Costa, 2003; Martins 2011; Batalha-filho & Miyaki 2011). A Biogeografia é a ciência que estuda a distribuição geográfica dos seres vivos no espaço através do tempo, com o objetivo de entender os padrões de organização espacial dos organismos e os processos que resultaram em tais padrões de distribuição das espécies que observamos atualmente (Brown & Lomolino, 2006). É uma disciplina complexa e integrativa, que relaciona informações de diversas outras ciências – tais como a Geografia, Geologia, Ecologia, etc – e que passou por um processo muito longo de desenvolvimento, que se deu através do acúmulo de contribuições de diversos pesquisadores, notadamente nos séculos XVIII e XIX (Crisci, *et al.*, 2003; Posadas *et al.*, 2006). Uma abordagem para a inferência dos resultados de processos evolutivos passados sobre padrões atuais envolve a análise espacial de correlação entre caracteres observados nos organismos, como variáveis fenotípicas contínuas, com variáveis abióticas explanatórias (Perez *et al.*, 2010).

Neste contexto, este estudo entra em uma abordagem biogeográfica da variação morfológica do crânio do marsupial, *P. frenatus*, associada ao bioma Mata Atlântica, através de técnicas de morfométrica geométrica, avaliando a variação geográfica entre populações desta espécie.

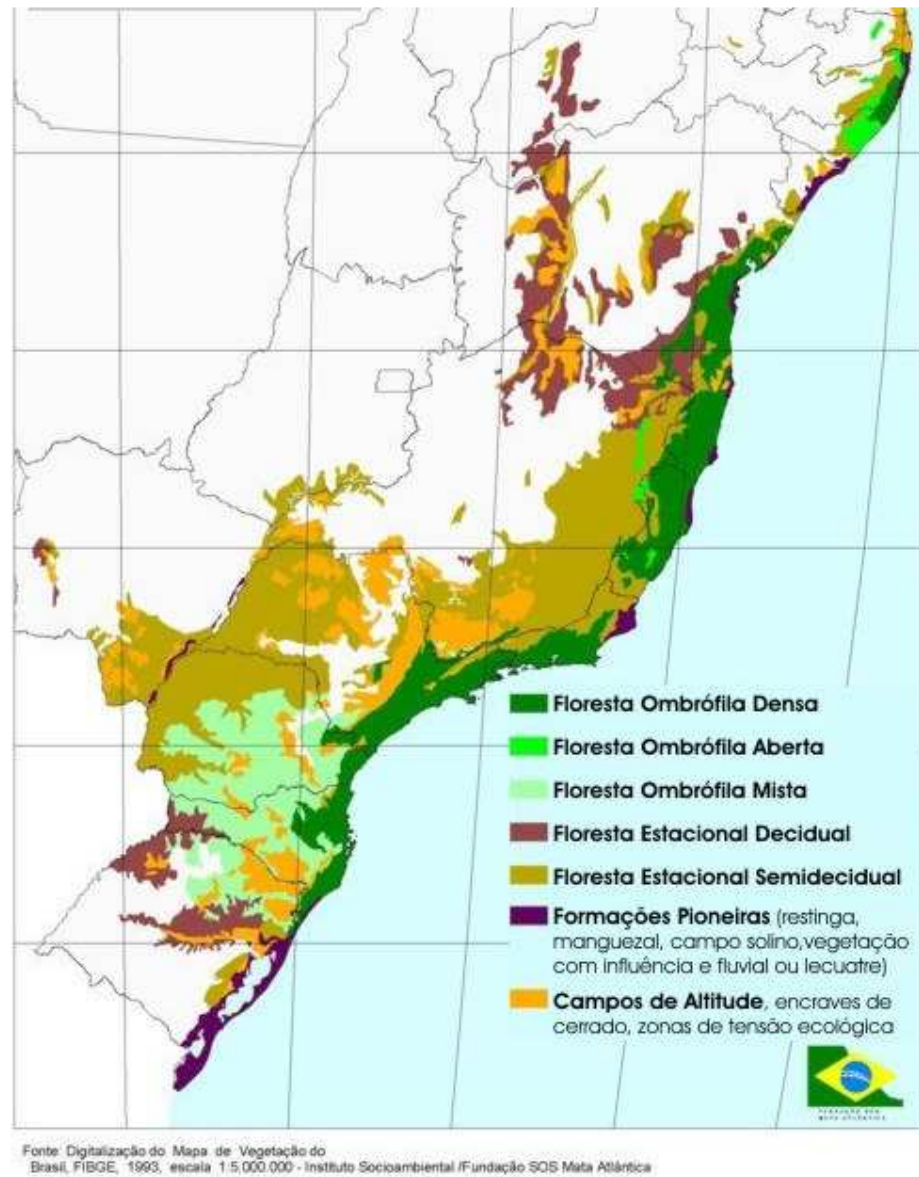


Figura 1.3 - Mapa das fitofisionomias da Mata Atlântica Brasileira (FIBGE, 1993).

## 1.8 - Objetivos

### Objetivo geral:

- Avaliar o dimorfismo sexual e a variação geográfica na forma do crânio de *Philander frenatus* em populações brasileiras através de técnicas de morfometria geométrica.

### Objetivos específicos:

- Avaliar o dimorfismo sexual no tamanho do crânio de *P. frenatus*.
- Avaliar o dimorfismo sexual na forma do crânio de *P. frenatus*
- Avaliar a variação geográfica na forma do crânio entre blocos geográficos de populações de *P. frenatus*.

## 2 - MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 - Materiais

#### 2.1.1 - Espécimes e obtenção dos dados morfológicos.

Foi consultada a base de dados online <http://www.splink.org.br/> na qual consta registro de 326 coleções científicas, onde foram encontrados 144 registros de espécimes de *Philander frenatus*, depositados nas coleções do Banco de dados de Mamíferos do ES Universidade Federal do Espírito Santo, UFES (39), Coleção de Mamíferos, Museu de Biologia Professor Mello Leitão, MBML (28), Museum of Vertebrate Zoology – Brazilian records University of California, Berkeley (16), Sistema de Informação do Programa Biota/Fapesp Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (1), Coleção de Tecidos Animais do Departamento de Ciências Biológicas da UFES, Universidade Federal do Espírito Santo, UFES (18), Coleção de Mamíferos da Universidade Federal do Espírito Santo Universidade Federal do Espírito Santo, UFES (40), Coleção de Mamíferos do Museu de Zoologia da UNICAMP Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP (2).

Através do correio eletrônico foram consultados 26 curadores de coleções zoológicas do Brasil, sendo constatado que 12 coleções possuem exemplares de *Philander frenatus* depositados. Foram visitadas as coleções com número mais representativo de espécimes, tentando abarcar a maior área geográfica possível. Os espécimes analisados neste trabalho encontram-se depositados nas coleções de mamíferos do Museu Nacional, Universidade Federal de Rio de Janeiro (UFRJ), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Museu de Biologia Professor Mello Leitão no Espírito Santo (MBML), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Coleção de mamíferos da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES), Museu de Zoologia da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC) e no Museu de Zoologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Fotografias dos crânios foram obtidas com uma câmera digital NIKON COOLPIX L810, com zoom óptico 26X, resolução de 16.0 mega-pixels, (resolução máx. 4608 x 3456 Pixels), utilizando uma plataforma fotográfica, posicionando cada crânio no centro da imagem, em paralelo ao plano focal da câmera, sempre na mesma orientação e distância da lente, minimizando assim os efeitos de distorção gerados pela lente nas bordas da imagem, e mantendo a mesma escala em todas as imagens (Zelditch *et al.*, 2004). Cada crânio foi fotografado nas vistas dorsal, ventral e lateral incluindo informações sobre o número de tombo, localidade e sexo do indivíduo. As imagens foram salvas no formato JPEG (*Joint Photographic Experts Group*).

Ao todo, foram fotografados 529 crânios, dos quais foram incluídos nas análises apenas crânios completos, que permitissem uma identificação precisa dos marcos anatômicos nas três vistas (dorsal, ventral e lateral). Concomitante à digitalização de imagens dos crânios, foi feita a identificação dos indivíduos considerados adultos, isto é, aqueles apresentando dentição completa, com o terceiro pré-molar eclodido e o quarto molar funcional (Astúa & Leiner, 2008; Luckett & Hong, 2000; Tribe 1990; Tyndale-Biscoe & Mackenzie 1976) para evitar a variação devida à ontogenia, para um total de 307 indivíduos analisados (Anexo 1).

Após a digitalização das imagens, foram criados três arquivos do tipo TPS para as imagens de cada vista do crânio (dorsal, lateral e ventral) utilizando o programa tpsUtil versão 1,58 (Rohlf, 2013). Em seguida, os marcos anatômicos foram digitalizados em cada imagem com o programa tps Dig version 2.16 (Rohlf, 2010). Os programas da série TPS estão disponíveis em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>.

#### 2.1.2 - Definição dos marcos anatômicos.

Marcos anatômicos em duas dimensões (2D) foram definidos utilizando como referência Astúa *et al.*, (2000), e Astúa (2010). Foram acrescentados marcos anatômicos nas três vistas do crânio, procurando uma maior cobertura das estruturas cranianas, e regiões de interesse morfofuncional ou sensorial (Astua *et al.*, 2000). Por ser um estudo que envolve uma única espécie, mudanças localizadas são mais factíveis de observar com uma melhor cobertura da forma do crânio e suas estruturas, sendo possível e recomendável a inclusão de um número maior de marcos anatômicos do que em estudos que envolvem espécimes de diferentes espécies, gêneros, ou níveis taxonômicos superiores.

O crânio é uma estrutura biológica que apresenta simetria bilateral. A simetria bilateral pode se manifestar de duas formas que Mardia *et al.*, (2000) definiram como “simetria correspondente” (“matching symmetry”) e “auto-simetria” (“object symmetry”). Sob o conceito de simetria correspondente, a estrutura de interesse encontra se presente como duas copias separadas como imagens espelhadas uma da outra, com cada uma delas localizada em um dos lado do corpo. O conceito de auto-simetria faz referência a estruturas simétricas por elas mesmas, apresentando uma linha ou plano de simetria, com todas as estruturas de uma metade espelhadas no lado oposto da linha media transversal da própria estrutura. Métodos para a análise de formas com simetria bilateral podem separar um componente de variação simétrica entre indivíduos, isto é, a variação na média esquerda-direita de um caráter, das assimetrias esquerda-direita dentro do indivíduo (Klingenberg *et al.*, 2002). Dessa maneira, a variação na forma pode ser dividida em componentes simétricos e

assimétricos (Klingenberg *et al.*, 2002). O componente assimétrico é utilizado em análises mais específicas, como medidas de instabilidade de desenvolvimento em contextos como hibridização (Mikula & Macholán, 2008) ou em estudos sobre assimetria de partes e tem sido utilizado em um número crescente de estudos, na caracterização das bases do desenvolvimento da integração morfológica (Klingenberg, 2008). Entretanto, o componente simétrico da forma, representa a variação na forma entre indivíduos (Klingenberg *et al.*, 2000), por tanto foi o componente utilizado nas análises deste estudo, removendo assim a variação correspondente à assimetrias intrínsecas a cada indivíduo da amostra.

Na vista dorsal, foram definidos 33 marcos anatômicos. Cinco na linha media do crânio e 14 pareados. De acordo com os tipos de homologia definida por Bookstein (1991), nove são do tipo (I), quinze do tipo (II) e nove do tipo (III) (Tabela1, Figura2.a). Na vista ventral, foram definidos 34 marcos anatômicos. Seis na linha media do crânio e 14 pareados, dos quais três apresentam homologia tipo (I), 20 tipo (II) e 11 tipo (III) (Tabela 2, Figura 2.b). Para essas duas vistas do crânio, o componente simétrico da forma (Klingenberg, 2000) foi utilizado nas análises no programa MorphoJ (Klingenberg, 2011), versão 1,05f disponível em: <http://www.flywings.org.uk>. Na vista lateral do crânio, foi fotografado o lado esquerdo de cada indivíduo e definidos 29 marcos anatômicos, dos quais cinco apresentam homologia tipo (I), 15 tipo (II) e 9 tipo (III) (Tabela 3, Figura 2.c).

Os marcos anatômicos foram digitalizados sempre na mesma ordem, utilizando o programa tpsDig version 2.17 (Rohlf, 2013; disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Durante a digitação dos marcos anatômicos de cada espécime, um código de nomenclatura foi utilizado como identificador (ID) no programa tpsDig, para posteriormente extrair os classificadores para as análises no programa MorphoJ (Viscosi & Cardini, 2011). Desta forma, é mais fácil identificar todos os classificadores pré-definidos, isto é, os agrupamentos testados. Cada identificador está separado por subtraço (“\_”). Por exemplo, um exemplar identificado como ID: “UFV1979\_dor\_m\_X13” pertence a coleção de mastozoologia do Museu de Zoologia João Moojem, da Universidade Federal de Viçosa (acrônimo “UFV”), com número de tombo CM1979 (no caso, apenas “1979”), fotografado na vista dorsal (“dor”), macho (“m”), coletado no quadrante X13 do mapa (detalhes seguinte seção), localidade Viçosa, Mata do Paraíso, Minas Gerais (Figura 2.2). Recomenda-se a utilização de tal protocolo para nomeação dos arquivos digitais para minimizar erros nas análises subsequentes.

**Tabela 2 - Marcos anatômicos (MA) utilizados na vista dorsal do crânio. Os marcos anatômicos pareados encontrasse descritos apenas uma vez, indicando os dois números correspondentes ao marco anatômico espelhado em cada lado do crânio. O tipo de homologia é indicado entre parêntesis.**

MA	Tipo	Descrição
1	(II)	Ponto mais anterior da sutura entre os nasais.
2-20	(II)	Ponto mais anterior de contato entre nasal e pré-maxilar na borda do forâmen nasal.
3-21	(I)	Ponto da sutura entre o nasal, maxila e pré-maxilar.
4-22	(II)	Ponto mais externo de contato entre pré-maxilar e maxilar
5-23	(II)	Ponto mais externo da sutura entre maxilar e lacrimal.
6-24	(I)	Sutura entre maxilar, lacrimal, e frontal.
7-25	(I)	Sutura entre maxilar, nasal e frontal.
8-26	(II)	Ponto extremo mais posterior do nasal.
9	(I)	Sutura entre nasais e frontais.
10	(I)	Sutura entre parietais e frontais.
11	(I)	Sutura entre parietais e interparietal.
12	(III)	Ponto mais posterior da caixa craniana na linha media da cresta sagital.
13-33	(III)	Ponto de interseção entre a margem mais anterior do processo mastóideo do petrosal com a margem do crânio no plano fotográfico.
14-31	(II)	Ponto mais anterior da sutura jugal-esquamosal.
15-27	(II)	Máxima constrição anterior do arco zigomático com o lacrimal.
16-28	(II)	Ponto mais posterior da sutura entre lacrimal e frontal, na margem do forame orbital.
17-29	(III)	Ponto extremo do processo postorbital.
18-30	(III)	Máxima constrição da caixa craniana na região interorbital do frontal.
19-32	(III)	Ponto na margem interna da fossa temporal, onde se intercepta o processo glenóideo do alisfenoide com a caixa craniana no plano fotográfico.

**Tabela 3 - Marcos anatômicos (MA) utilizados na vista ventral do crânio. Os marcos anatômicos pareados encontrasse descritos apenas uma vez, indicando os dois números correspondentes ao marco anatômico espelhado em cada lado do crânio. O tipo de homologia é indicado entre parêntesis.**

MA	Tipo	Descrição
1	(II)	Ponto mais anterior da sutura entre pré-maxilares.
2	(I)	Ponto mais posterior da sutura entre pré-maxilares e mais anterior entre maxilares.
3-27	(III)	Margem mais anterior do forâmen incisivo.
4-28	(III)	Margem mais posterior do forâmen incisivo.
5-29	(II)	Sutura entre maxilar e pré-maxilar na borda do forâmen incisivo.
6	(I)	Ponto mais posterior da sutura entre maxilares e mais anterior entre palatinos.
7-30	(II)	Sutura entre o maxilar e o palatino na margem interna da fenestra maxilopalatina.
8-31	(III)	Ponto da margem mais anterior da fenestra maxilopalatina.
9-32	(III)	Ponto da margem mais posterior da fenestra maxilopalatina.
10-33	(III)	Ponto de máxima inflexão da margem do palato posterior.
11	(II)	Ponto da sutura mais posterior entre palatinos.
12	(I)	Ponto da sutura entre o basi-esfenoide e o basi-occipital na linha media do crânio.
13-34	(III)	Ponto de máxima inflexão anterior do basi-occipital.
14-35	(II)	Ponto mais posterior da sutura entre basi-occipital e o premonitorium do petrosal.
15	(III)	Ponto mais anterior da margem inferior do forâmen magno na linha media do crânio.
16-36	(III)	Extremo mais posterior do côndilo occipital.
17-37	(III)	Ponto de interseção entre a margem mais anterior do processo mastóideo do petrosal com a margem do crânio no plano fotográfico.
18-38	(III)	Ponto de máxima curvatura do processo glenoide do alisfenoide, na intersecção com a caixa craniana no plano fotográfico.
19-39	(II)	Ponto na margem interna do arco zigomático, da sutura entre o jugal e o esquamosal.
20-40	(II)	Ponto na margem externa do arco zigomático, da sutura entre o jugal e o esquamosal.
21-43	(II)	Ponto sobre a margem interna da fossa orbital, da sutura entre jugal e maxilar.
22-41	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do M4.
23-42	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do M3.
24-44	(II)	Ponto mais anterior do alvéolo do M1.
25-45	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do C1.
26-46	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo I5.

**Tabela 4 - Marcos anatômicos (MA) utilizados na vista lateral do crânio. O tipo de homologia é indicado entre parêntesis.**

MA	Tipo	Descrição
1	(II)	Ponto mais anterior do alvéolo do I1.
2	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do I5
3	(II)	Ponto mais anterior do alvéolo do C1.
4	(II)	Ponto mais anterior do alvéolo do P1.
5	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do P3.
6	(II)	Ponto mais posterior do alvéolo do M4.
7	(II)	Ponto mais inferior da sutura jugal-esquamosal.
8	(III)	Extremo de curvatura inferior do processo postglenoide.
9	(III)	Base posterior do processo postglenoide.
10	(III)	Ponto médio do forâmen subesquamosal.
11	(II)	Máxima curvatura inferio-posterior do côndilo occipital.
12	(I)	Ponto de sutura entre o parietal, esquamosal e interparietal.
13	(II)	Ponto extremo mais posterior da cresta sagital.
14	(II)	Sutura entre parietal e frontal na margem superior da cresta sagital.
15	(II)	Sutura entre parietal e frontal na raiz da cresta sagital.
16	(II)	Ponto superior da sutura entre frontal e nasal.
17	(III)	Ponto extremo mais anterior do nasal.
18	(II)	Sutura mais anterior entre o nasal e o pré-maxilar, na margem do forâmen nasal.
19	(I)	Sutura entre pré-maxilar, maxilar e nasal.
20	(I)	Sutura entre nasal, maxilar, e frontal.
21	(I)	Sutura entre lacrimal, frontal e maxilar.
22	(I)	Sutura entre lacrimal, jugal, e maxilar.
23	(I)	Ponto mais inferior da curvatura do jugal, na margem superior.
24	(III)	Ponto mais inferior da curvatura do jugal, na margem inferior.
25	(II)	Processo frontal do jugal.
26	(II)	Ponto mais superior da sutura jugal-squamosal.
27	(III)	Ponto mais anterior da sutura jugal-squamosal na vista lateral do crânio.
28	(III)	Ponto sobre a margem inferior do arco zigomático, projetando o marco anatômico 25 em perpendicular à linha formada entre os marcos anatômicos 25 e 26.
29	(III)	Ponto sobre a margem inferior do arco zigomático, projetando o marco anatômico 27 perpendicular à linha formada entre os marcos anatômicos 25 e 26.

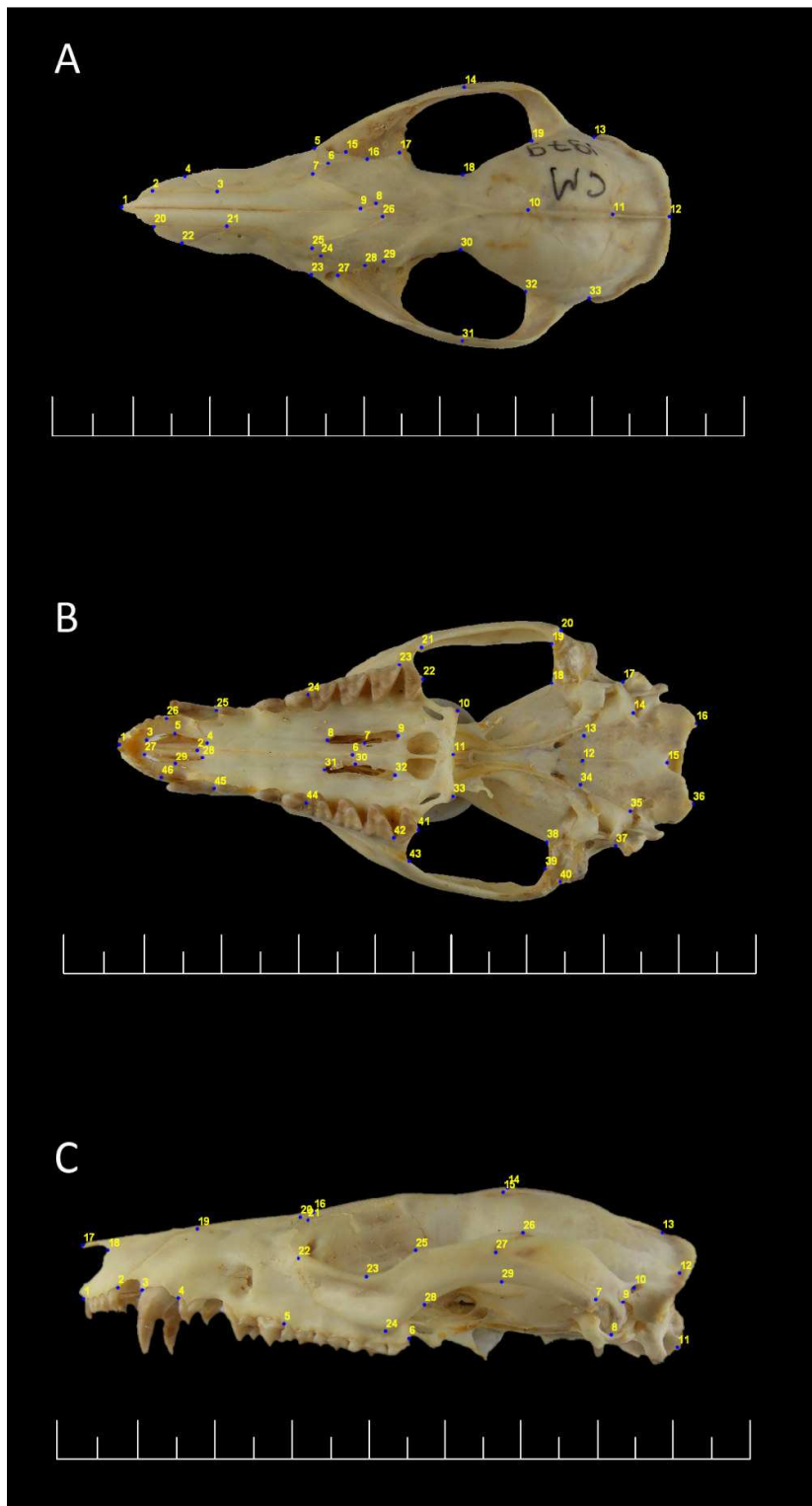


Figura 2.1 – Crânio de *Philander frenatus*, exemplar UFW1979 nas vistas **a)** dorsal, **b)** ventral, e **c)** lateral. Os pontos azuis indicam os marcos anatômicos, numerados em amarelo na ordem de digitação. A descrição de cada marco anatômico e seu tipo de homologia encontrasse na tabela 1 da vista dorsal, tabela 2 da vista ventral e tabela 3 da vista lateral. Escala: 9 cm.

### 2.1.3 - Definição dos blocos geográficos.

Devido a que espécies de *Philander* não apresentam uma estrutura social ou território definido, uma população local amostrada é de alguma forma uma amostra de uma distribuição contínua de indivíduos. Devido a isto, geralmente um reduzido número de espécimes de cada localidade encontrasse disponível nas coleções científicas, e a distância entre as localidades de coleta dos indivíduos é muito variável. Por tanto, foram criadas macrolocalidades agrupando indivíduos de áreas ecologicamente relacionadas e sem barreiras geográficas significativas entre elas, de acordo com a metodologia recomendada por Vanzolini & Williams (1970). Estes autores consideram a construção de amostras maiores sob critérios geográficos em três ordens: 1. Amostras de uma única localidade bem definida; 2. Grupo ecologicamente homogêneo de localidades próximas; 3. Grupo ecologicamente homogêneo de localidades não tão próximas.

As coordenadas geográficas ou localidades dos indivíduos analisados foram projetadas no mapa dos biomas (Fonte IBGE, 2008). Para visualizar a distribuição e analisar a variação geográfica do crânio de *P. freantus*, os indivíduos foram agrupados inicialmente por quadrantes de 0°30' de latitude e meio grau de longitude (Figura 2.2) para analisar exemplares de localidades dentro do mesmo quadrante como uma população, e assim aumentar o número de indivíduos das localidades.

Devido ao alto número de grupos resultantes através da definição destes quadrantes, e para incrementar o poder das análises estatísticas multivariadas, opto se por redefinir esses agrupamentos. Utilizando as coordenadas geográficas de cada indivíduo, foram criados blocos geográficos para avaliar o grau de diferenciação na forma do crânio entre indivíduos de populações de áreas geográficas próximas, que não apresentassem barreiras geográficas significativas de dispersão e fluxo gênico, como grandes rios, e estuários, e pertencentes a áreas geográficas de características similares, como são os corredores de biodiversidade da Mata Atlântica, definidos com base nas características ecológicas e biogeográficas dentro do bioma (<http://www.conservationinternational.com.br>). As amostras foram agrupadas inicialmente em quatro blocos denominados Macrolocalidades1: A: Corredor central da Mata Atlântica, n=40; B: Corredor cerrado zona da mata, n=53; C: corredor da Serra do mar, n=204; D: Interior da Mata Atlântica de SP e PR, n= 10. Esses quatro blocos geográficos foram utilizados na análise de variação geográfica através de CVA nos machos (Figura 2.3) e fêmeas (Figura 2.5) por separado.

Uma segunda Análise de variação geográfica do crânio foi feita utilizando novas subdivisões dos quatro blocos geográficos iniciais, denominada Macropopulações2: O bloco (A), Corredor central da Mata Atlântica foi dividido em dois grupos: A1, com indivíduos do sul da Bahia (n=2), e A2 com indivíduos do Espírito Santo (n= 37). O bloco (B), corredor Cerrado-Zona da mata foi dividido em dois agrupamentos:

B1 com indivíduos do centro-leste de MG (n=27), e B2 com indivíduos do leste de MG (n= 26). O bloco (C) foi dividido em três grupos: C1 com indivíduos da porção Sul do corredor da Serra do mar (n=38), C2 com indivíduos da porção norte do corredor da Serra do mar (n=133), e C3 com indivíduos do interior da Serra do mar (n=33). O bloco D foi mantido como agrupamento devido ao baixo número de indivíduos amostrados nesta área (n=10). As figuras 2.4 e 2.6 apresentam a distribuição dos machos e fêmeas nos blocos geográficos descritos. Os arquivos com as coordenadas dos marcos anatômicos foram importados no software MorphoJ versão 1,05f, e foram feitas análises separadas para cada vista do crânio.

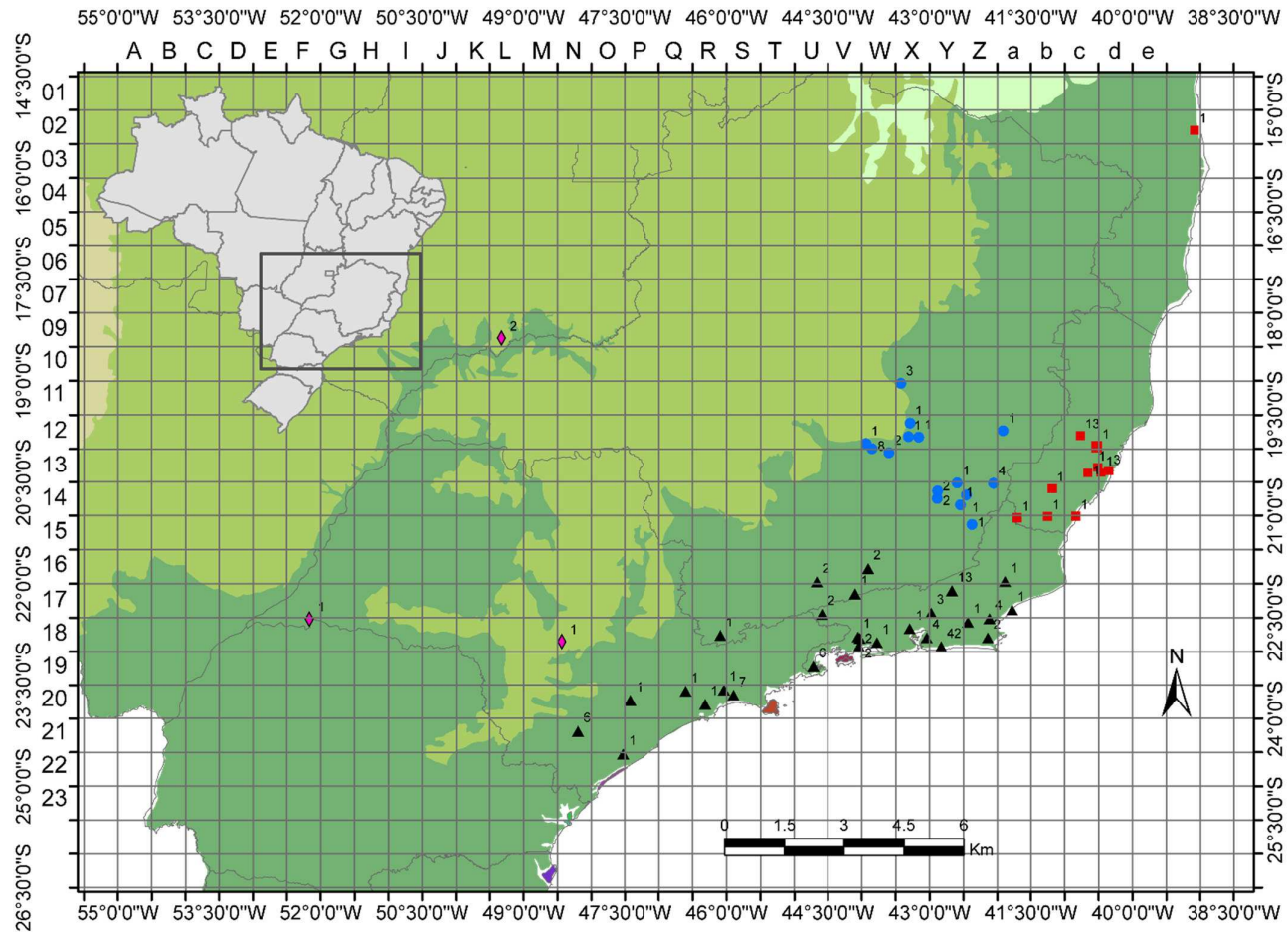


Figura 2.2 – Mapa do Brasil com a localização dos exemplares machos de *P. frenatus* avaliados, com uma grade de quadrantes de 0.5 graus de latitude por 0.5 graus de longitude utilizados para agrupar e identificar as localidades. Em verde escuro o bioma Mata Atlantica e em verde claro o bioma Cerrado. Os indivíduos representam os quatro blocos geográficos utilizados em Macrolocalidades1 descritos na figura seguinte.

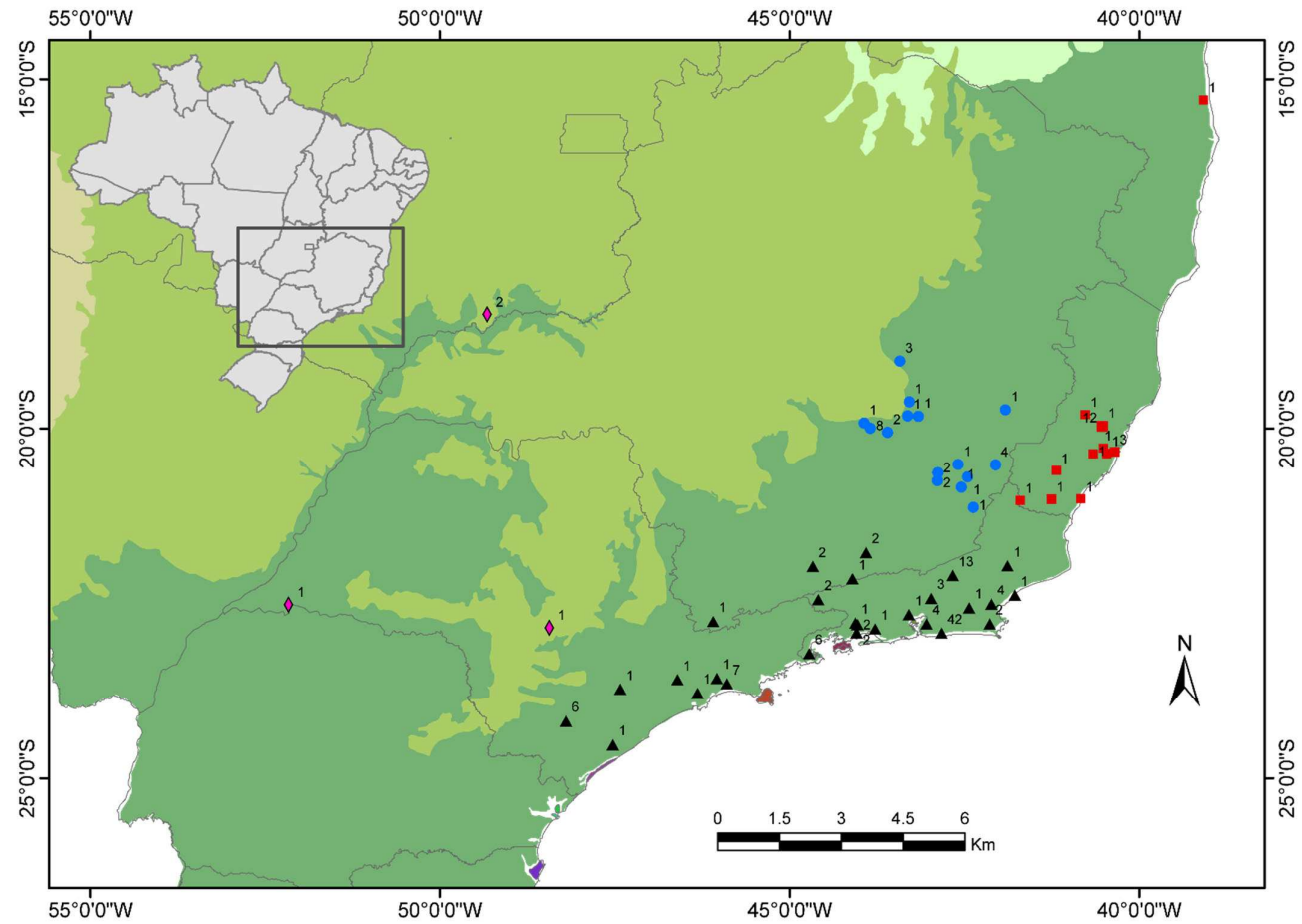


Figura 2.3 - Mapa indicando as localidades dos machos de *P. frenatus* por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades1. A: ■ Corredor central da Mata Atlântica. B: ● Corredor cerrado-zona da mata. C: ▲ Corredor da serra do mar. D: ◆ Interior da Mata Atlântica SP Paraná. Em verde escuro o bioma Mata Atlântica e em verde claro o bioma Cerrado.

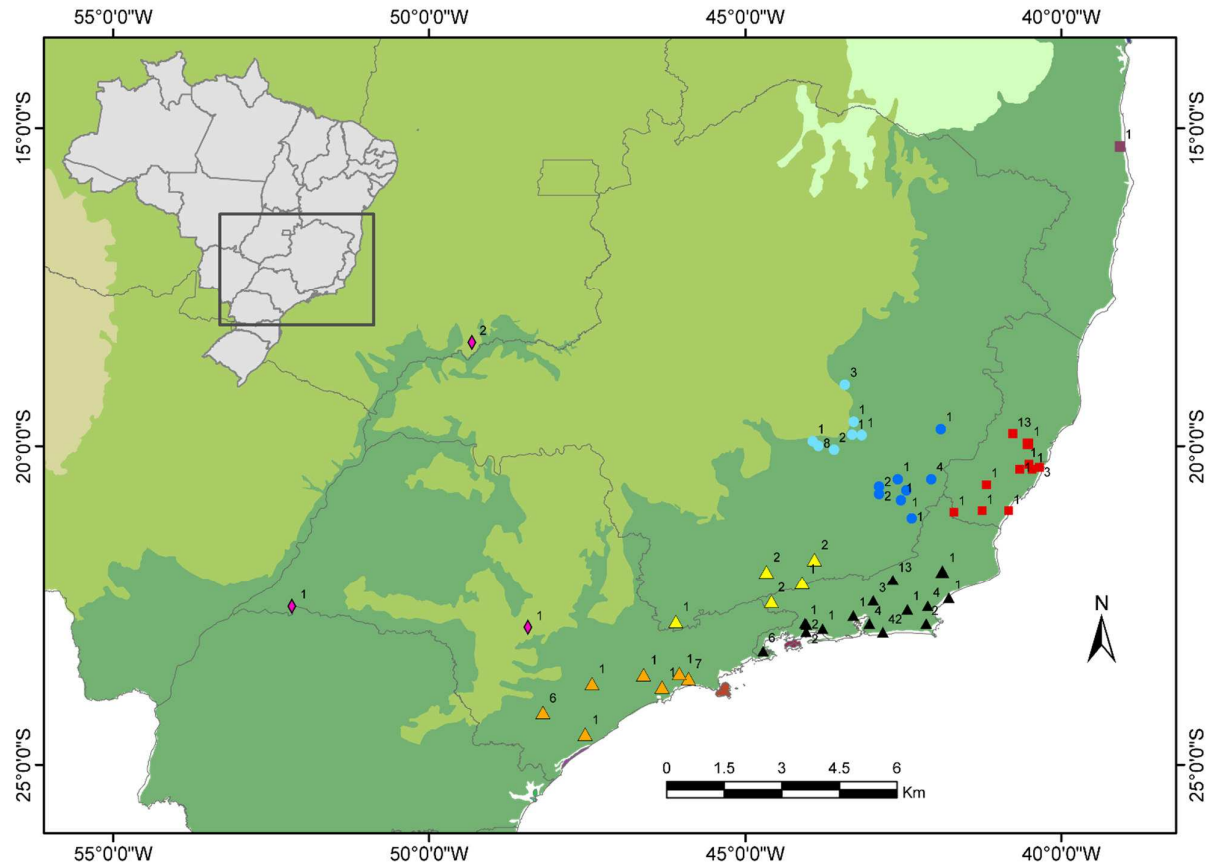


Figura 2.4 - Mapa indicando as localidades dos machos de *P. frenatus* por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades2. A1: ■ Corredor Central da Mata Atlântica da Bahia; A2: ■ Corredor central da Mata Atlântica do Espírito Santo B1: ● Corredor cerrado-zona da mata interior; B2: ● Corredor cerrado-zona da mata leste; C1: ▲ Sul do corredor da serra do mar; C2: ▲ Norte do corredor da serra do mar; C3: ▲ Interior do corredor da serra do mar; D: ◆ Corredor interior da Mata Atlântica de SP e PA. Em verde escuro o bioma Mata Atlântica e em verde claro o bioma Cerrado.

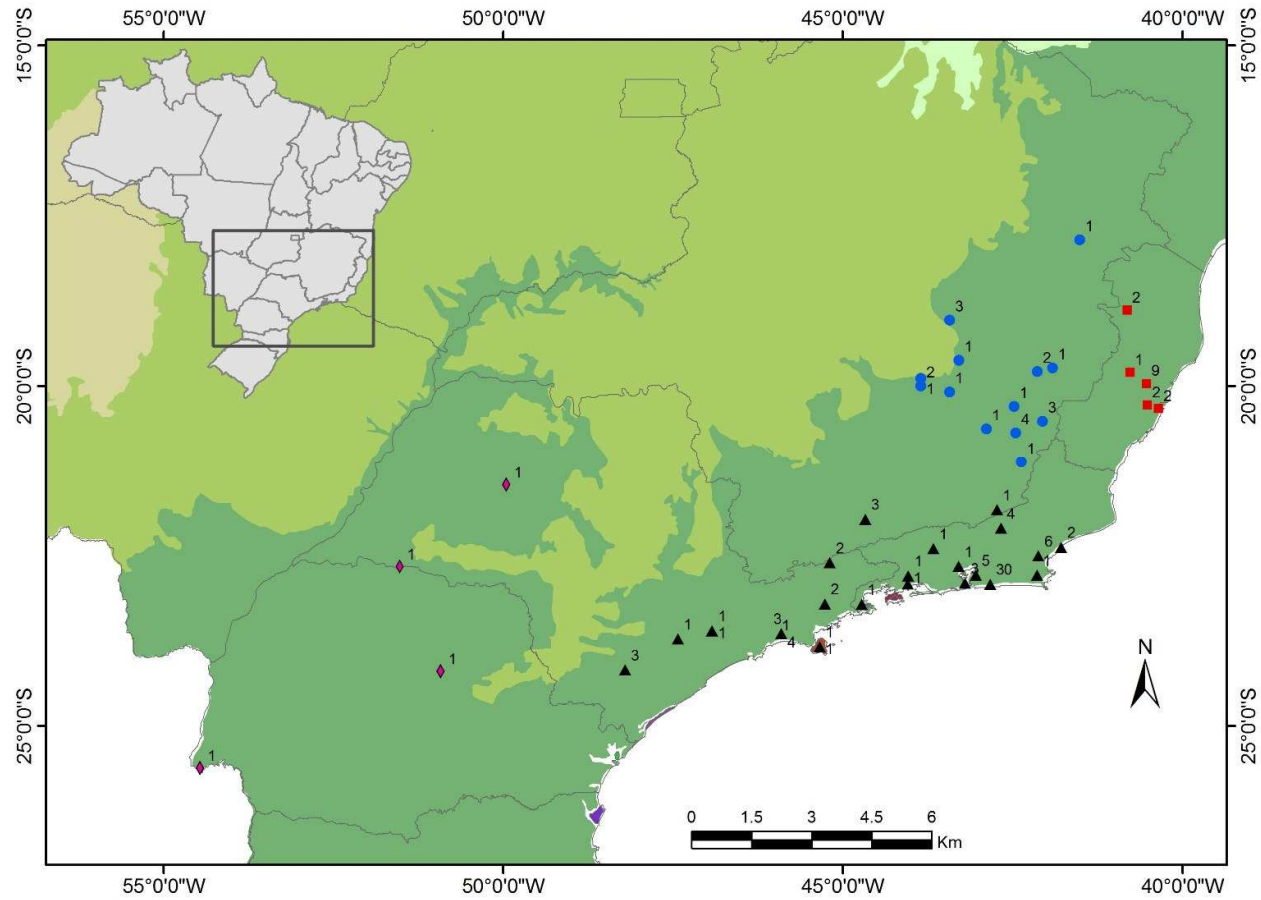


Figura 2.5 - Mapa indicando as localidades de fêmeas de *P. frenatus* por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades1. A: ■ Corredor central da Mata Atlântica. B: ● Corredor cerrado-zona da mata. C: ▲ Corredor da serra do mar. D: ◆ Interior da Mata Atlântica SP Paraná. Em verde escuro o bioma Mata Atlântica e em verde claro o bioma Cerrado.

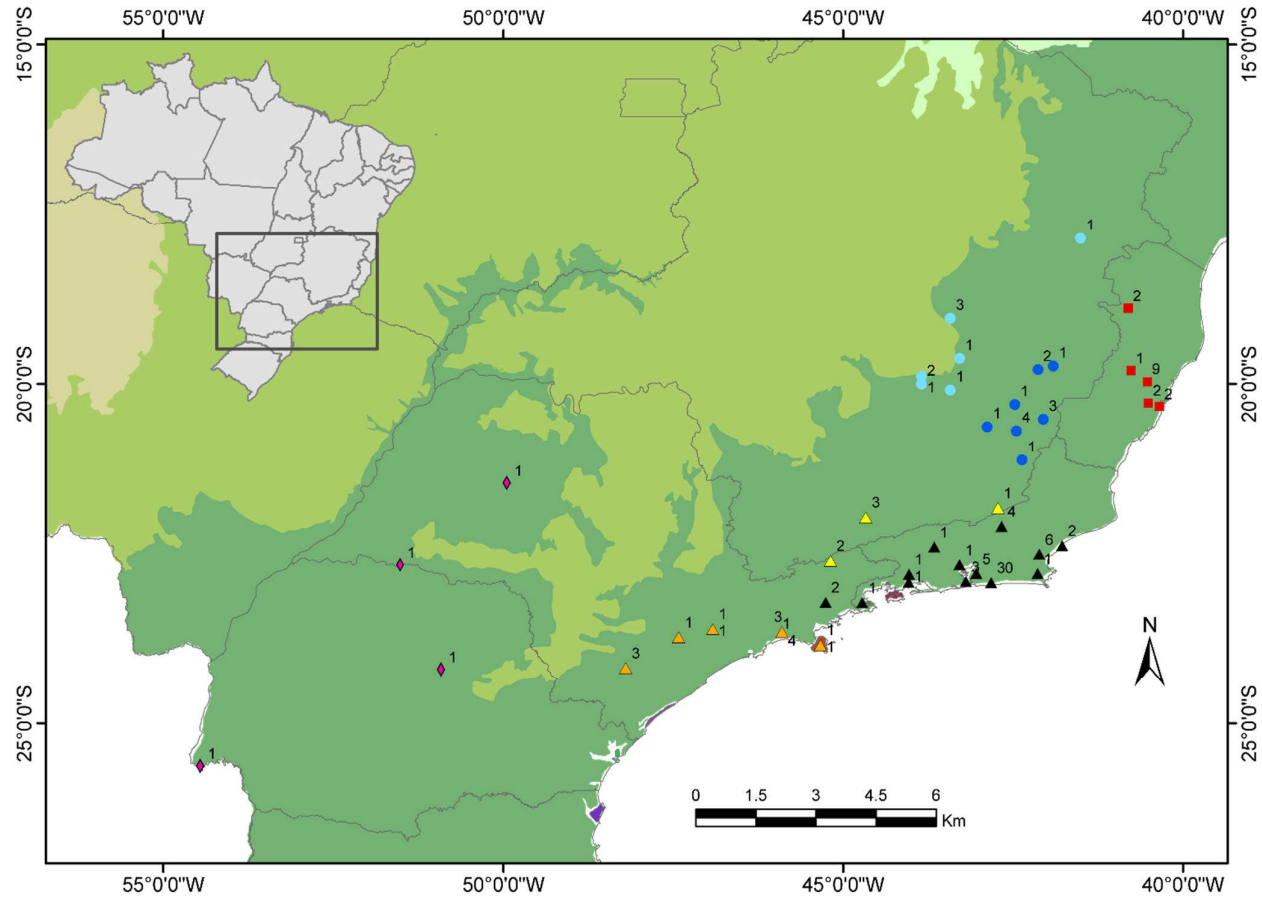


Figura 2.6 - Mapa indicando as localidades de fêmeas de *P. frenatus* por blocos geográficos, agrupados em Macrolocalidades2. A2: ■ Corredor central da Mata Atlântica Espírito Santo B1: ● Corredor cerrado-zona da mata interior; B2: ● Corredor cerrado-zona da mata leste; C1: ▲ Sul do corredor da serra do mar; C2: ▲ Norte do corredor da serra do mar; C3: ◆ Interior do corredor da serra do mar; D: ▲ Corredor interior da Mata Atlântica de SP e PA. Em verde escuro o bioma Mata Atlântica e em verde claro o bioma Cerrado.

## 2.2 – Métodos e Análises estatísticas

### 2.2.1 - Sobreposição dos marcos anatômicos:

Utilizando o Programa MorphoJ, as coordenadas em 2D dos espécimes em cada vista foram submetidas à Sobreposição de Procrustes (Gower, 1975; Rohlf & Slice, 1990) comumente referida na literatura como GPA, em inglês “General Procrustes Analysis”, ou GLS “Generalized Least squares”. Esse método consiste em três etapas: Translação das configurações de todos os marcos anatômicos ao mesmo centróide (ponto médio das coordenadas x- e y- para todos os marcos anatômicos de um conjunto de marcos), mudança da escala das configurações para o mesmo tamanho do centróide, e a rotação, ou alinhamento de todas as configurações, de modo que a soma dos quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes em todas as configurações seja a menor possível. Em outras palavras, a sobreposição de Procrustes exclui os fatores de posição, tamanho e orientação, deixando como variável a forma da configuração de marcos anatômicos avaliada. (Bookstein, 1991; Rohlf, 1999). Essa metodologia, separa formalmente o tamanho, definido como o *Tamanho do centróide* e a forma, que consiste na configuração de marcos anatômicos após a sobreposição de Procrustes, conhecidas como *coordenadas da forma de Procrustes* por apresentar somente a informação sobre a forma da configuração dos marcos anatômicos, isto é, a matriz com as coordenadas originais é transformada em uma nova matriz após as três operações de Procrustes, restando, assim, uma nova matriz chamada de matriz de resíduos de Procrustes. Destaca-se que as três operações de Procrustes removem graus de liberdade, no total, para um conjunto de marcos anatômicos 2D, 4 graus de liberdade: 1 grau de liberdade para cada dimensão na operação de translação, 1 grau de liberdade no escalonamento e 1 grau de liberdade na rotação. Conseqüentemente, os últimos quatro PCs calculados sobre uma matriz de resíduos de Procrustes possuem variância zero.

O Tamanho do centróide trata-se da raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada marco anatômico e o centróide da forma (Bookstein, 1991).

As propriedades matemáticas do espaço da forma para configurações de marcos anatômicos, usualmente referido como espaço da forma de Kendall, tem sido estudadas intensivamente, sendo um componente fundamental da morfometria geométrica (Kendall 1984; Bookstein 1991, 1996; Goodall, 1991; Small, 1996; Dryden & Mardia, 1998; Rohlf, 1999; Slice, 2001). Cada forma

possível (para um número de marcos anatômicos e dimensionalidade) corresponde a um ponto no espaço da forma, e cada ponto no espaço da forma corresponde a uma forma em particular. Para  $p$  marcos anatômicos em  $k$  dimensões, é conformado um espaço ou variedade Riemanniana não-linear de dimensão  $pk - k - \frac{k(k-1)}{2-1}$ , que pode ser aproximada localmente por um espaço Euclidiano da mesma dimensão, melhor conhecido como espaço tangente (Mitteroecker *et al.*, 2013). A sobreposição generalizada de Procrustes projeta as coordenadas da forma no espaço Euclidiano tangente ao Espaço da forma de Procrustes. Isto significa, que a distância entre duas observações é uma linha reta computada utilizando o teorema de Pitágoras (ou sua extensão multivariada). No entanto, devido a que o espaço da forma de Procrustes é curvo, deve ser aproximado pelo espaço Euclidiano tangente, usando a projeção computada como um cartógrafo faria para desenhar a superfície curva da Terra em um mapa. Assim, o ponto de tangencia entre os dois espaços representa a forma media da amostra. Para faixas limitadas de variação da forma, como é geralmente utilizado em estudos biológicos, e mesmo com escala taxonômica ampla, a aproximação euclidiana no espaço tangente para a maioria dos dados biológicos analisados até hoje, tem sido excelente (Viscosi & Cardini, 2011; Marcus *et al.*, 2000). A aproximação do espaço tangente é comumente vista como um fator puramente teórico, no entanto deve ser avaliada. O programa TPSSmall (Rohlf, 2010) foi utilizado para avaliar essa aproximação. TPSSmall regressa através do origem o conjunto de distancias Euclidianas no espaço Euclidiano sobre o conjunto de distancias da forma de Procrustes. Se a aproximação for excelente, obteremos uma regressão com inclinação e correlação virtualmente igual a 1 (Viscosi & Cardini, 2011).

Após a sobreposição de Procrustes, a amostra foi inspecionada por “outliers”. O programa MorphoJ oferece uma ferramenta que permite a visualização de marcos anatômicos digitados na ordem errada, indivíduos anormalmente afastados da forma media, e um gráfico de correspondência dos dados e das distancias de forma esperadas sob o modelo de distribuição normal multivariada.

### 2.2.2 - Procrustes ANOVA:

Esse método foi criado para quantificar as variações na forma a diferentes níveis (Klingenberg & McIntyre 1998; Klingenberg *et al.*, 2002). Tem sido implementado principalmente em estudos de assimetria esquerda-direita para avaliar e quantificar o erro de digitação em relação as fontes biológicas de variação, já que o erro de digitação tem sido considerado um importante fator em esses estudos (Klingenberg, 2011). As bases metodológicas do “Procrustes ANOVA” encontram se descritas em detalhe por Klingenberg & McIntyre (1998) e Klingenberg *et al.*, (2002). A

implementação do “Procrustes ANOVA” em MorphoJ, oferece duas aproximações para as interpretações estatísticas dos resultados do ANOVA: uma baseada nas distâncias de Procrustes e uma aproximação alternativa baseada no estatístico da MANOVA (Klingenberg *et al.*, 2002). A aproximação baseada nas distâncias de Procrustes oferece uma forma simples e intuitiva de quantificar as magnitudes relativas dos vários efeitos no modelo ANOVA. Isto utilizando a premissa de que a variação é isotrópica, ou seja, existe a mesma quantidade de variação em cada marco anatômico e em cada direção, e que a variação de diferentes marcos anatômicos é independente, o qual, para a maioria dos dados biológicos é uma premissa pouco realística (Klingenberg, 2011). Por tanto, a aproximação baseada nas distâncias de Procrustes é utilizada principalmente para avaliar as magnitudes relativas dos efeitos de variação, enquanto a aproximação baseada na MANOVA é utilizada para inferências estatísticas (Klingenberg, 2011). Como complemento a avaliação do erro de digitação, uma análise de Componentes Principais (ver secção 2.4 para detalhes) foi invocada sobre a matriz de variância-covariância das coordenadas de Procrustes para cada vista do crânio, e desta forma visualizar a distribuição dos “indivíduos” e as “replicas” sobre os principais eixos de variação.

### 2.2.3 - Análises de Componentes Principais (PCA):

A análise de componentes principais foi feita sobre a matriz de variância-covariância dos resíduos da sobreposição de Procrustes. Essa análise foi feita para caracterizar as diferenças entre machos e fêmeas, e avaliar a ordenação dos indivíduos nas populações ou macro localidades definidas. A Análise de Componentes Principais (PCA) é uma rotação do espaço multidimensional, para encontrar os eixos de maior variância da amostra, onde cada componente principal é um eixo linear das variáveis originais. O primeiro componente principal (PC1) é gerado de tal forma que capture a maior variância possível. O segundo componente principal (PC2) é ortogonal ao primeiro (PC1) e captura tanta variância restante quanto possível, e assim sucessivamente (Peres-Neto *et al.*, 1995) cada componente principal terá uma importância diferente, explicando porcentagens cada vez menores da variância dos dados, permitindo utilizar os scores como variáveis independentes em um espaço de menor dimensionalidade dos dados (Klingenberg & Monteiro, 2005; Zelditch *et al.*, 2004). Como resultado, é possível visualizar um diagrama mostrando as mudanças da forma de cada indivíduo, associadas a cada PC afastando-se ou aproximando-se da forma média na direção positiva ou negativa da configuração de referência. O fator de escala das mudanças na forma apresentadas neste tipo de gráfico é magnitude da mudança da forma em unidades das distâncias de Procrustes. A escala utilizada nos gráficos é de 0.1, que corresponde a uma mudança nos escores de PC de 0.1 unidades na direção positiva, ou negativa do eixo.

#### 2.2.4 - Análise Discriminante (AD):

Diferenças na forma entre sexos foram avaliadas através de Análise Discriminante (DA) com um teste de permutação.

A análise discriminantes (dois grupos) ou Análise de Variáveis Canônicas (três ou mais grupos) caracteriza-se basicamente pela hipótese da existência de grupos que são estabelecidos a priori. A partir da definição dos grupos, a AD procura gerar novos eixos que maximizem a variância existente entre grupos, e minimizem a variância dentro dos grupos. Esta é uma técnica de Análise Multivariada frequentemente utilizada com o objetivo de diferenciar populações e/ou classificar objetos em grupos pré-definidos quando a variável dependente é categórica (ex. sexo) e as variáveis independentes são métricas (ex. medida lineares, coordenadas da forma de Procrustes, tamanho do centroide). O objetivo principal é construir um conjunto de discriminantes que podem ser usados para descrever ou caracterizar a separação dos grupos utilizando um subconjunto de variáveis, para analisar a contribuição das variáveis originais, e avaliar o grau de separação (Timm, 2002). Utiliza-se a função discriminante com um algoritmo de validação cruzada um-a-um (“leave-one-out cross validation”) para quantificar o percentual de classificação errada dos indivíduos (Viscosi & Cardini, 2011). Isto é, a cada permutação um indivíduo é reclassificado como pertencente ao outro grupo (p.ex.: classificar um macho como uma fêmea) e, utilizando a função discriminante, há a validação ou refutação da reclassificação. Ao final das permutações, é possível verificar o percentual de classificações corretas e incorretas. (Mitteroecker & Bookstein, 2011). A função discriminante linear de Fisher é uma combinação linear das variáveis observadas que apresenta maior poder de discriminação entre os grupos e com a propriedade de minimizar as probabilidades de má classificação, quando as populações são independentes e normalmente distribuídas com parâmetros de média  $\mu$  e variância  $\Sigma$  desconhecidos (Timm, 2002).

#### 2.2.5 - Análise de Variáveis Canônicas (CVA):

A análise de variáveis canônicas é a versão da AD utilizada em análises de três ou mais grupos hipotéticos definidos a priori, e fornece uma descrição gráfica das diferenças entre os grupos em um conjunto de dados multivariados (Monteiro & Reis, 1999), ressaltando as diferenças entre os grupos, no entanto não deve ser utilizada para testar a significância estatística das diferenças entre grupos (Zelditch *et al.*, 2004). Nesta análise novos eixos são construídos,

utilizando combinações lineares das variáveis originais, ortogonais a todas as outras, que maximizam as diferenças entre grupos, e os espécimes são ordenados ao longo destes novos eixos de variância (Variáveis Canônicas). Cada Variável Canônica (CV) é orientada sob o suposto de ortogonalidade, e resume eficientemente as diferenças entre os grupos relativas às variâncias dentro dos grupos (independentemente de como isso se relaciona à variação entre todos os espécimes (Zelditch *et al.*, 2004). As similitudes e diferenças entre as médias de mais de três grupos não pode ser completamente representada somente por dois CVs, já que dois grupos podem estar sobrepostos nas duas primeiras CVs, mas podem estar separados na terceira CV. Devido a isto, todas as CVs devem ser analisadas, já que se os grupos aparecem separados em qualquer um dos eixos (qualquer CV), os grupos apresentam diferenças que os separam como agrupamentos, mas para demonstrar que os grupos não se separam, devem ficar sobrepostos em todas as CVs, sendo necessário inspecionar todos os eixos de CVs para desenhar conclusões sobre separação ou sobreposição dos grupos avaliados (Mitteroecker & Bookstein, 2011). A CVA também apresenta nos resultados as Distâncias de Procrustes e as distâncias de Mahalanobis entre todos os pares de grupos avaliados, para quantificar as distâncias na forma média entre os blocos comparados.

A CVA é um teste estatístico paramétrico, e assume que todas as variáveis apresentam distribuição multivariada normal, e que os grupos compartilham estruturas similares de matrizes de variância-covariância. Em uma CVA com “*k*” variáveis medidas sobre espécimes designados a “*G*” grupos, o tamanho total da amostra “*n*” deve ser maior do que  $[(2k - 4) + (G - 1)]$  para obter uma estimativa confiável da estrutura da matriz de variância-covariância nos dados, resultando no máximo em  $(G - 1)$  diferentes eixos ou variáveis canônicas (Webster & Sheets, 2010). Essa estimativa foi testada manualmente para cada vista do crânio em cada CVA realizada. A distribuição normal dos dados multivariados nas três vistas do crânio foi testada no programa PAST 3.0., sendo rejeitada nas três vistas do crânio como indicado pelos valores no Anexo 2. Portanto, os resultados e conclusões sobre as diferenças entre os blocos populacionais são baseadas na distribuição dos grupos nas CVs, e não na significância estatística das diferenças entre pares de blocos. De qualquer forma, a impossibilidade em fazer inferências baseadas em um valor crítico e, assim, inferir significância estatística, não é necessariamente um problema. Além disso, o uso indiscriminado de significância estatística como evidência é uma abordagem falha, embora muito comum (Nuzzo, 2013). Portanto, o objetivo da utilização de CVA explicitamente negligenciando uma das premissas deste teste paramétrico é com intuito de maximizar as diferenças para explorar padrões biogeográficos entre as diferentes populações de *P. frenatus*.

### 2.2.6 - Visualização das mudanças da forma:

A visualização das mudanças da forma é uma das vantagens que a morfometria geométrica oferece, apresentando opções de gráficos, ilustrações ou animações computarizadas das mudanças da forma descrita através da configuração de marcos anatômicos (Klingenberg, 2013). Devido a que a forma é definida como todas as características geométricas de um objeto exceto por seu tamanho, posição e orientação, uma forma de analisar a variação da forma de um conjunto de dados é remover as variações de tamanho, posição e orientação, evidenciando a variação devida a forma. Para dados baseados em coordenadas de marcos anatômicos, a variação de tamanho, posição e orientação são removidas através da sobreposição de Procrustes que atinge o melhor ajuste da configuração de marcos anatômicos de acordo ao critério de quadrados mínimos (Sneath 1967; Gower 1975; Rohlf & Slice 1990; Goodall 1991; Dryden & Mardia, 1998). A sobreposição de Procrustes é de importância fundamental na morfometria geométrica, já que fornece a ligação com a teoria do espaço da forma de Kendall (Small, 1996; Dryden & Mardia, 1998; Kendall, 1999), que oferece um suporte de fundamentos matemáticos para estudos empíricos da variação da forma (Klingenberg, 2013). Como resultado de este procedimento, cada configuração da amostra é otimamente alinhada a configuração média. Devido a que todos os marcos anatômicos foram incluídos na sobreposição de Procrustes e juntamente determinam o alinhamento de cada configuração em relação a forma média, a variação na posição de cada marco anatômico após a sobreposição é relativa as posições de todos os outros marcos anatômicos.

Em análises de morfometria geométrica, as mudanças da forma são parte dos resultados da maioria das análises multivariadas. Muitas destas análises, como Análises de Componentes Principais (PCA), Análises de Variáveis Canônicas (CVA), ou Partial-least-squared (PLS), proveem um novo sistema de eixos de coordenadas com propriedades particulares (máxima variância, máxima covariância, etc.). Devido ao fato que esses novos eixos estão no espaço da forma tangente, suas direções podem ser interpretadas como características da variação da forma, com magnitude e direção, com cada eixo representando diferentes mudança na forma (Dryden & Mardia, 1998; Klingenberg & McIntyre, 1998; Klingenberg & Zaklan, 2000; Klingenberg *et al.*, 2003).

Para visualizar as mudanças da forma, vários tipos de gráficos podem ser utilizados. Todos os meios gráficos para indicar contextos anatômicos das mudanças da forma se fundamentam na natureza relativa dos deslocamentos dos marcos anatômicos. Portanto, todas as visualizações

baseadas em sobreposição compartilham esse fundamento (Klingenberg, 2013). O mais simples de todos, indica as mudanças das posições dos marcos anatômicos com linhas e setas, onde os marcos anatômicos da forma inicial são indicados por círculos, e a forma alvo ou forma final, estão representadas por linhas. Esse tipo de gráficos foi muito utilizado desde o começo da morfometria geométrica (ex. Siegel & Benson 1982; Chapman 1990; Rohlf & Marcus 1993), mas recentemente tem sido substituída por técnicas de visualização com mais detalhes anatômicos. Para proporcionar informação adicional e fazer os gráficos mais realísticos, diferentes maneiras de indicar o contexto morfológico dos marcos anatômicos se encontram disponíveis (Klingenberg, 2013).

Visualizações baseadas nas grades de deformação de Dárcy Thompson tem sido muito utilizadas no campo da morfometria geométrica e esforços para desenvolver uma aproximação quantitativa rigorosa para criar esses diagramas contribuíram significativamente ao desenvolvimento desta área (Sneath 1967; Bookstein 1978, 1989; Rohlf & Marcus, 1993). A ideia consiste em que as mudanças de formas biológicas possam ser caracterizadas examinando as transformações que devem ser aplicadas ao espaço de coordenadas para transformar uma forma em outra (Klingenberg 2013). As grades de deformação produzidas tem sido uma das ferramentas mais familiares em estudos morfométricos, e sua teoria e fundamentos são cobertos e descritos em detalhe nos livros de texto de morfometria geométrica (p.ex.: Bookstein 1991; Monteiro & dos Reis 1999; Zelditch *et al.*, 2004). Outra das opções de visualização consiste em criar um “wireframe” de marcos anatômicos. Esta ferramenta gráfica permite criar linhas retas entre marcos anatômicos para facilitar a visualização da estrutura estudada (Klingenberg, 2013). Criar linhas retas entre os marcos anatômicos certos para visualizar a estrutura anatômica estudada, permite ter uma noção do contexto anatômico das diferenças entre as configurações, já que duas formas utilizando “wireframes” podem ser sobrepostas, representando visualmente as diferenças entre uma forma “inicial” e uma forma “final”. Assim, um “wireframe” foi criado um para cada uma das vistas do crânio, e foi utilizado para descrever as mudanças da forma (Figura 2.7). Um aspecto importante na interpretação deste tipo de gráficos, é que os espaços ocupados pelas linhas entre marcos anatômicos, não representam mudanças da forma nessas áreas, e somente oferecem um contexto anatômico para interpretação das mudanças nas posições relativas dos marcos anatômicos (Klingenberg, 2013).

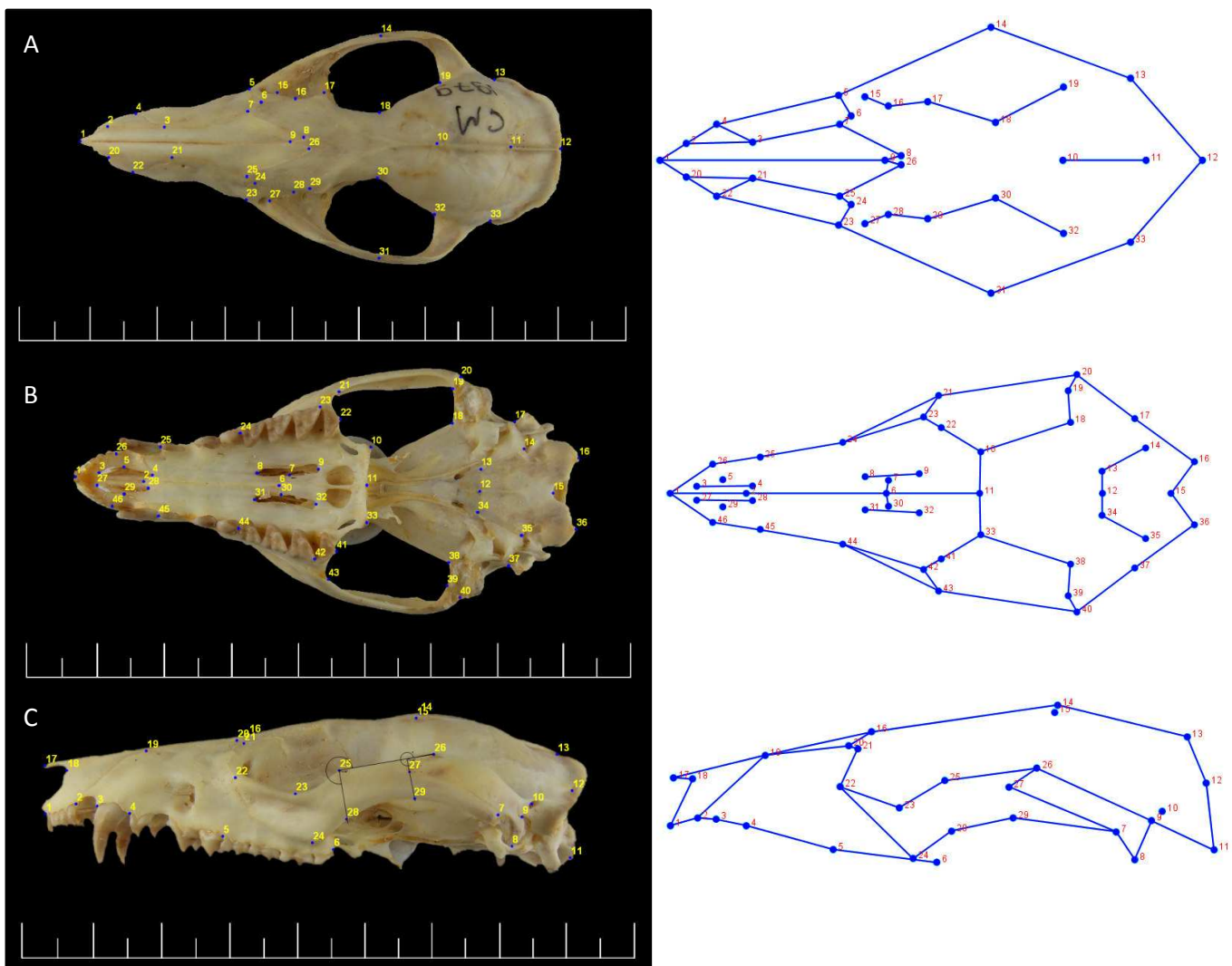


Figura 2.7 - Crânio de *P. frenatus* exemplar UFV1979 nas vistas (A) dorsal, (B) ventral, e (C) lateral, com seus respectivos marcos anatômicos e “wireframes” mostrando o contexto anatômico das configurações com linhas retas entre marcos anatômicos.

## 2.3 – Implementação dos métodos

### 2.3.1 - Avaliação do erro de digitação dos marcos anatômicos.

O erro na obtenção dos dados morfológicos foi minimizado, padronizando a obtenção das fotografias. Foi utilizada uma plataforma fotográfica com iluminação constante de duas lâmpadas de luz branca, para obter fotografias padronizadas e sem sombras. Utilizando a mesma câmera fotográfica (NIKON COOLPIX L810), e sempre no menor aumento da lente e no mesmo ponto da área fotográfica (ponto médio), foram fotografados os crânios de exemplares de *P. frenatus* nas vistas dorsal, ventral e lateral, sempre com a mesma distância entre a lente e o crânio (14.5 cm).

Para avaliar a magnitude do erro de digitação dos marcos anatômicos descritos na seção anterior foi implementado o método de “Procrustes ANOVA” no programa MorphoJ 1,05f (Klingenberg, 2011), utilizando a aproximação baseada nas distâncias de Procrustes (Viscosi & Cardini 2011). A análise “Procrustes ANOVA”, gera dados sobre a variância explicada pela soma dos quadrados para o fator “Indivíduos” e o fator “erro de digitação”, tanto para os dados do Tamanho do centróide (univariados) e os dados da forma, coordenadas de Procrustes (multivariados). A soma dos quadrados (“sum of squared deviation”) é uma medida do desvio das observações da média, desta forma, para completar a análise, foi calculada a porcentagem da soma dos quadrados explicada por cada fator. Isto foi feito dividindo a soma dos quadrados de cada fator sobre a soma dos quadrados total, multiplicado por 100 (Viscosi & Cardini, 2011). Para as análises do erro de digitação, foram escolhidos 35 indivíduos, pertencentes a 14 diferentes localidades (Tabela 4), obtendo uma amostra heterogênea, que representou possíveis variações geográficas da amostra total, incluindo uma quantidade equilibrada de machos e fêmeas. Para as fotografias de cada vista do crânio, foi criado um arquivo no programa tpsUtil ver. 1.58, com duas cópias de cada imagem, gerando um arquivo com 70 imagens. As imagens foram aleatorizadas no arquivo, e importadas no programa tpsDig2 ver 2.10 (Rohlf, 2013), no qual foram digitados os marcos anatômicos, sempre na mesma ordem em todas as imagens. Durante a digitação de cada espécime no programa tpsDig2, um “ID” foi criado para cada imagem, identificando o “Indivíduo”, e as “Replicas” de cada indivíduo, para posteriormente extrair os classificadores utilizados na “Procrustes ANOVA” no programa MorphoJ 1,05f (Klingenberg, 2011). Desta forma, os Indivíduos foram utilizados como o fator de variação devido a diferenças entre espécimes (em MorphoJ “individual”), e as “Replicas” foram utilizadas como o fator de variação devido ao erro de digitação nos marcos anatômicos (em MorphoJ “Erro 1”).

Tabela 4 - Exemplos de *P. frenatus* utilizados para testar o erro de digitação dos marcos anatômicos nas três vistas do crânio. A figura 2.2 apresenta a localização dos quadrantes no mapa.

Instituição	# de Tombo	Sexo	Localidade - Estado	Quadrante
UFV	2095	F	Espera feliz- MG	<b>Z13</b>
UFV	2096	M	Espera feliz- MG	<b>Z13</b>
UFV	2098	M	Espera feliz- MG	<b>Z13</b>
UFV	2100	F	Espera feliz- MG	<b>Z13</b>
UFV	2101	F	Espera feliz- MG	<b>Z13</b>
PUC	753	M	Nova Lima - MG	<b>V11</b>
PUC	754	F	Nova Lima - MG	<b>V11</b>
PUC	760	M	Nova Lima - MG	<b>V11</b>
PUC	863	M	Nova Lima - MG	<b>V11</b>
PUC	2360	M	Nova Lima - MG	<b>V11</b>
UFMG	769	M	Itumbiara - GO	<b>K8</b>
UFMG	854	M	Itumbiara - GO	<b>K8</b>
UFMG	2186	M	Fazenda Bolandeiral Bradesco - BA	<b>e2</b>
UFMG	2666	F	Parque Nacional do Iguaçu, PR	<b>A22</b>
MZUSP	1665		Itapura - SP	<b>F13</b>
MZUSP	6190	F	Monte Alegre - SP	<b>F17</b>
MZUSP	17623	M	Teodoro Sampaio - SP	<b>E17</b>
MZUSP	27231	F	Fazenda intervalles - SP	<b>M20</b>
MZUSP	27232	F	Fazenda intervalles - SP	<b>M20</b>
MZUSP	27235	M	Fazenda intervalles - SP	<b>M20</b>
MZUSP	27238	M	Fazenda intervalles - SP	<b>M20</b>
MZUSP	27239	M	Fazenda intervalles - SP	<b>M20</b>

---

MZUSP	31616	F	Ortegueira - PR	<b>H20</b>
MNRJ	17188	X	Ilheus - BA	<b>e1</b>
MNRJ	73510	F	Teófilo Otoni - MG	<b>Z7</b>
MNRJ	26777	M	Maricá - RJ	<b>X17</b>
MNRJ	26778	M	Maricá - RJ	<b>X17</b>
MNRJ	26781	F	Maricá - RJ	<b>X17</b>
MNRJ	26786	F	Maricá - RJ	<b>X17</b>
MBML	210	M	Santa Teresa - ES	<b>b11</b>
MBML	2031	M	Santa Teresa - ES	<b>b11</b>
MBML	2078	F	Santa Teresa - ES	<b>b11</b>
MBML	358	M	Santa Teresa - ES	<b>b11</b>
MBML	2782	F	Santa Teresa - ES	<b>b11</b>
MNRJ	51926	F	Maricá - RJ	<b>X17</b>

---

### 2.3.2 - Dimorfismo sexual no crânio de *Philander frenatus*.

Para avaliar o dimorfismo sexual do crânio de *P. frenatus*, foram utilizados apenas indivíduos de sexo conhecido, obtido das etiquetas dos exemplares tombados nas coleções referidas no Anexo 1. Os arquivos com as coordenadas dos marcos anatômicos decada vista do crânio foram importadas no software MorphoJ ver 1,05f (Klingenberg, 2011), no qual foram feitas as análises de morfometria geométrica.

### 2.3.3 - Dimorfismo sexual no tamanho do crânio

As coordenadas dos marcos anatômicos de cada vista do crânio, foram submetidas à sobreposição de Procrustes, foi extraída a matriz do tamanho do centroide dos indivíduos e os valores do tamanho de machos e fêmeas foram comparados através do teste-t no programa PAST Ver. 3.0 (Hammer *et al.*, 2001). Essa análise foi feita nas vistas dorsal, ventral e lateral do crânio, no nível intrapopulacional utilizando a população de maior tamanho amostral (n=71), e na amostra total utilizando todos os indivíduos (n=290) para corroborar o dimorfismo sexual intraespecífico.

### 2.3.4- Dimorfismo sexual na forma do crânio.

Após a sobreposição de Procrustes, o dimorfismo sexual na forma do crânio foi avaliado através de Análise de Componentes Principais (PCA), e de Análise Discriminante (DA) com um teste de permutação de 1000 iterações. A DA, através de um algoritmo de validação cruzada um-a-um (“leave-one-out cross validation”) foi utilizada para quantificar o percentual de classificação errada dos indivíduos. Essa análise fornece as porcentagens do erro de classificação dos indivíduos nos sexos através da análise de “leave-one-out cross-validation” entre os grupos (Viscosi & Cardini, 2011). Esta análise permite comparar as distâncias entre as formas médias de machos e fêmeas através das Distâncias de Procrustes que são calculadas como a soma dos quadrados das distâncias entre os marcos anatômicos correspondentes das duas configurações, e avaliam a similaridade das formas analisadas entre as configurações comparadas (Astúa, 2003), com a hipótese nula de que as médias estimadas não diferem. Se a Distância de Procrustes entre duas configurações é zero, as configurações apresentam a mesma forma, entre maior a Distância de Procrustes, maiores as diferenças de forma entre as configurações (Mitteroecker *et al.*, 2013). Os resultados da DA oferece também as distâncias de Mahalanobis entre os grupos comparados, e possibilita a comparação das diferenças entre as formas médias de machos e fêmeas, visualizadas através de grades de deformação com vetores de deslocamento dos marcos anatômicos. As análises e os gráficos foram feitos no programa MorphoJ ver 1.05f (Rohlf, 2011).

As análises descritas foram feitas nas vistas dorsal, ventral e lateral do crânio, utilizando a população de maior tamanho amostral (n=71), retirando qualquer efeito de variação geográfica, e utilizando a amostra completa (n=290) para corroborar o dimorfismo sexual intra-específico.

Para avaliar a cobertura da variação da forma através dos marcos anatômicos definidos neste estudo, uma PCA adicional foi feita para avaliar o dimorfismo sexual na amostra total utilizando somente os marcos anatômicos referidos em Astúa (2010).

### 2.3.5 - Variação geográfica do crânio de *Philander frenatus*.

Devido ao dimorfismo sexual registrado nesta espécie em estudos anteriores (Astúa *et al.*, 2000; Astúa 2010), as análises de variação geográfica da morfologia craniana foram feitas para machos e fêmeas por separado, utilizando unicamente os espécimes com sexo identificado.

**Análises de Componentes Principais (PCA):** A Análise de componentes principais foi feita sobre a matriz de variância–covariância dos resíduos de Procrustes, como uma análise exploratória, para caracterizar a estruturação da distribuição dos indivíduos nos eixos de maior variância dos dados, classificados nas macrolocalidades definidas (Klingenberg & Monteiro, 2005; Zelditch *et al.*, 2004)

**Análises de Variáveis Canônicas (CVA):**

Utilizando 169 machos nas análises de variação geográfica em Macropopulações1 (quatro blocos geográficos) e Macropopulações2 (oito blocos geográficos), para cada CVA foi avaliado um “n” maior do que  $[(2k - 4) + (G - 1)]$  em cada vista do crânio, oferecendo confiabilidade na estrutura das matrizes de variância-covariância nas vistas dorsal (k=66) e lateral (k=29). Na vista ventral (k = 46) foi necessário reduzir o número de variáveis para validar a CVA dos machos, eliminando os marcos anatômicos 3, 4, 5, 27, 28, 29 que descrevem os forames incisivos, e os marcos anatômicos 7, 8, 9, 30, 31, 32 descrevendo as fenestras maxilo-palatinas resultando em 34 marcos anatômicos avaliados na vista ventral (k=34).

Com 120 fêmeas, o parâmetro “n” maior do que  $[(2k - 4) + (G - 1)]$  validou a CVA somente para a vista lateral nas análises de variação geográfica em Macrolocalidades1 e Macrolocalidades2.

Os gráficos de “scatter-plots” da distribuição dos grupos nos eixos de CVs no programa MorphoJ é dado em unidades de Mahalanobis. Estas unidades são as mesmas utilizados para definir a escala da visualização das mudanças da forma nos eixos da CVA através do “wireframe”. Neste

estudo, a visualização das mudanças da forma foram feitas utilizando como escala do gráfico, o valor máximo de distribuição da amplitude de cada eixo de variáveis canônicas a ser representado.

### 3 – RESULTADOS

#### 3.1 – Avaliação do erro de digitação

O coeficiente angular da regressão através da origem, do conjunto de distâncias Euclidianas no espaço tangente sobre o conjunto de Distâncias de Procrustes, foi de 0.999806 na vista dorsal, 0.999688 na vista ventral e 0.999244 na vista lateral. Sendo todos os coeficientes angulares próximos de 1.00, a aproximação no espaço tangente foi considerada excelente nas três vistas. Uma análise exploratória dos “outliers” no programa MorphoJ (Anexo 3), demonstrou nas três vistas do crânio uma boa correspondência entre os dados observados e as distâncias da forma esperadas sob um modelo de distribuição multivariada normal, sem “outliers” evidentes.

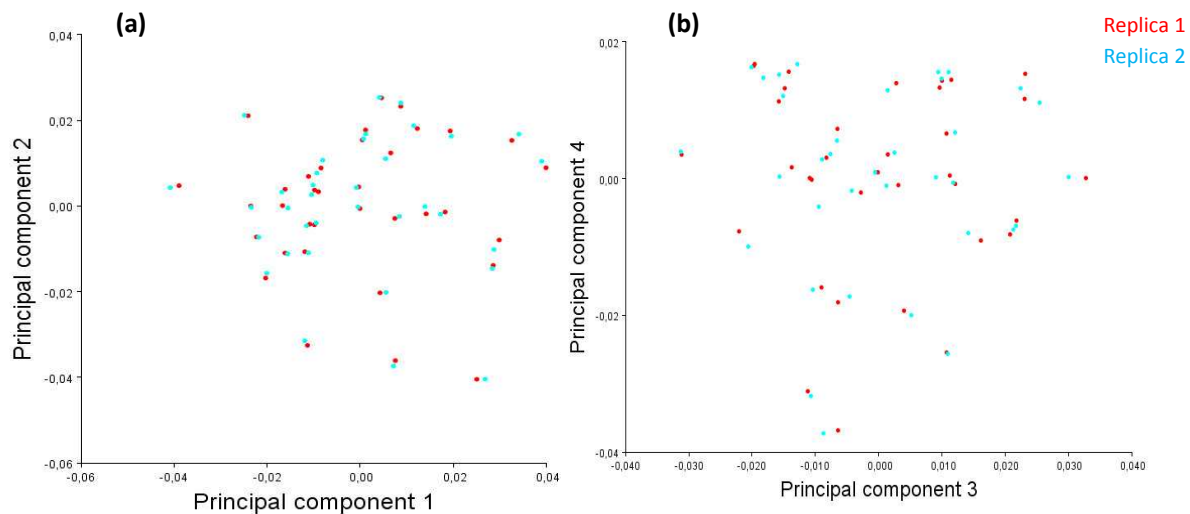
Na vista dorsal, a análise de Procrustes ANOVA indicou que para o tamanho (Tamanho do centróide), a soma dos quadrados (SS) do fator do indivíduo foi altamente significativo ( $P < 0.0001$ ) explicando o 99.99% da variância, com o fator do erro de digitação explicando o 0.01% (Tabela 5). Enquanto a forma, a soma dos quadrados do fator indivíduo foi significativo ( $P < 0.0001$ ), e explicou o 81.13% da variância, com o fator erro de digitação explicando o 1.02% (Tabela 6). O erro de digitação dos marcos anatômicos na vista dorsal foi mínimo, validando os marcos anatômicos nesta vista. A análise de Componentes Principais indicou que os primeiros quatro componentes principais explicaram o 64.26 % da variância acumulada na vista dorsal (PC1= 21.39%; PC2= 16.29%; PC3= 14.32%; PC4= 12.25%). Esta análise revelou uma sobreposição quase perfeita da maioria das réplicas de indivíduos na projeção do PC1 vs PC2 e PC3 vs PC4 (Figura 3.1).

Tabela 5 - Procrustes ANOVA: tamanho do centróide, vista dorsal. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Média das somas dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	% explicado SS	SS	MS	df	F	P
Individuo	99,99%	7574965,236	216427,5782	35	11349,42	<.0001
Error 1	0,01%	648,362395	19,069482	34		
Total	100%	7575613,598				

Tabela 6 - Procrustes ANOVA: forma, vista dorsal. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Média da soma dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	% explicado SS	SS	MS	df	F	P
Individual	81,13%	0,10780269	9,93573E-05	1085	4,88	<.0001
Side	1,22%	0,00162709	5,24869E-05	31	2,58	<.0001
Ind * Side	16,62%	0,02208408	0,000020354	1085	31,63	<.0001
Error 1	1,02%	0,00135643	6,435E-07	2108		
Total	100%	0,13287029				



**Figura 3.1** - Gráficos do PC1 (21,39%) VS PC2 (16,29%) (a) e do PC3 (14,32%) VS PC4 (12,25%) (b), dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos marcros anatômicos na vista dorsal. Os primeiros quatro componentes principais explicam o 65,13% da variância. Os 33 marcros anatômicos foram digitados em duas imagens de cada indivíduo. A primeira réplica de cada indivíduo é indicada por pontos vermelhos e a segunda por pontos azuis.

Na vista ventral, a análise de Procrustes ANOVA revelou que para o tamanho (Tamanho do centroide), a soma dos quadrados (SS) do fator do indivíduo foi altamente significativo ( $P < 0.0001$ ) explicando o 99.99% da variância, com o fator do erro de digitação explicando o 0.01% (Tabela 7). Enquanto a forma, a soma dos quadrados do fator indivíduo foi significativo ( $P < 0.0001$ ), e explicou o 86.28% da variância, com o fator erro de digitação explicando o 1.24% (Tabela 8). O erro de digitação dos marcos anatômicos na vista dorsal foi mínimo, validando os marcos anatômicos nesta vista. A análise de Componentes Principais indicou que os primeiros dois componentes principais explicaram o 68.3 % da variância acumulada na vista ventral (PC1= 56.4%; PC2= 11.9%). Esta análise revelou uma sobreposição quase perfeita de várias réplicas de indivíduos e uma localização muito próxima das réplicas de todos os indivíduos na projeção do PC1 vs PC2 (Figura 3.2).

Tabela 7 - Procrustes ANOVA: tamanho do centroide, vista ventral. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Media da soma dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	expl SS	SS	MS	df	F	P
Individual	99,99%	15448007,63	454353,1656	34	29739,92	<.0001
Error 1	<0,01%	534,714364	15,277553	35		
Total	100%	15448542,35				

Tabela 8 - Procrustes ANOVA: forma, vista ventral. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Media da soma dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	% expl SS	SS	MS	df	F	P
Individual	86,28%	0,0838588	5,6055E-05	1496	7,71	<.0001
Side	1,28%	0,001247	2,8341E-05	44	3,9	<.0001
Ind * Side	11,20%	0,0108821	7,2741E-06	1496	18,52	<.0001
Error 1	1,24%	0,0012095	3,927E-07	3080		
Total	100%	0,09719737				

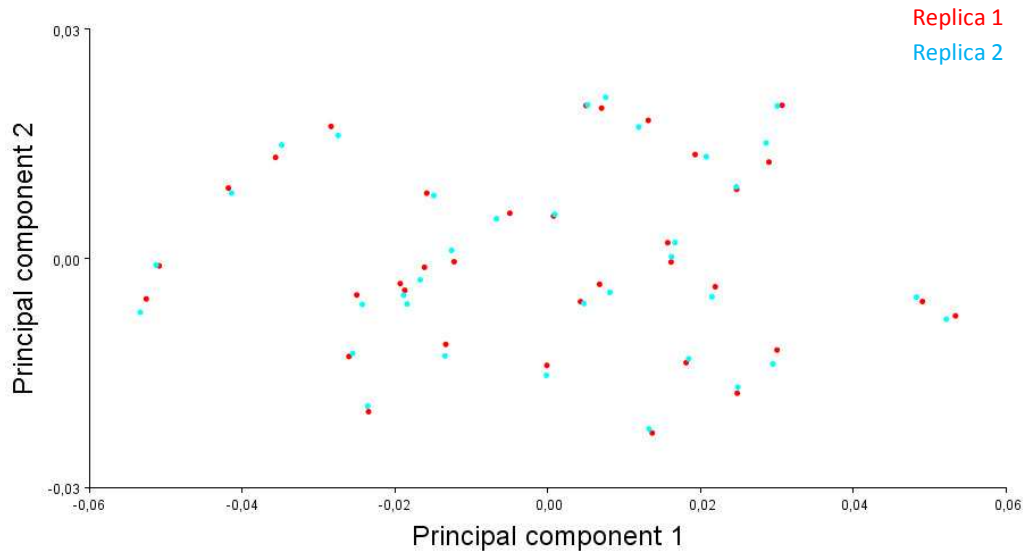


Figura 3.2 - Gráfico do PC1 (56,4%) VS PC2 (11,9%) dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos marcos anatômicos na vista ventral. Os primeiros dois componentes principais explicam o 68,3% da variância. Os 46 marcos anatômicos foram digitados em duas imagens de cada indivíduo. A primeira replica é indicada por pontos vermelhos e a segunda por pontos azuis.

Na vista lateral, a análise de Procrustes ANOVA indicou que para o tamanho (Tamanho do centroide), a soma dos quadrados (SS) do fator do indivíduo foi altamente significativo ( $P < 0.0001$ ) explicando o 99.99% da variância, com o fator do erro de digitação explicando o 0.01% (Tabela 9). Enquanto a forma, a soma dos quadrados do fator indivíduo foi significativo ( $P < 0.0001$ ), e explicou o 99.03% da variância, com o fator erro de digitação explicando o 0.97% (Tabela 10). O erro de digitação dos marcos anatômicos na vista dorsal foi mínimo, validando os marcos anatômicos nesta vista. A análise de Componentes Principais indicou que os primeiros dois componentes principais explicaram o 60.8% da variância acumulada na vista ventral (PC1= 37.17%; PC2= 23.6%). Esta análise revelou uma sobreposição quase perfeita da maioria das réplicas de indivíduos com uma localização muito próxima das réplicas de todos os indivíduos na projeção dos primeiros dois componentes principais, PC1 e PC2 (Figura 3.3).

Tabela 9 - Procrustes ANOVA: Tamanho do centroide, vista lateral. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Média da soma dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	expl SS	SS	MS	Df	F	P
Individual	99,99%	15422133,56	453592,1634	34	12615,83	<.0001
Error 1	0,01%	1258,397385	35,954211	35		
Total	100%	15423391,95				

Tabela 10 - Procrustes ANOVA: Forma, vista lateral. Individual: variação devido ao efeito do indivíduo; Error 1: variação devido ao erro de digitação. SS: Soma dos quadrados; MS: Média da soma dos quadrados (SS/df); df: graus de liberdade.

Effect	% expl SS	SS	MS	df	F	P
Individual	99,03%	0,258795	0,000140956	1836	105,52	<.0001
Error 1	0,97%	0,00252475	1,3358E-06	1890		
Total	100%	0,26131975				

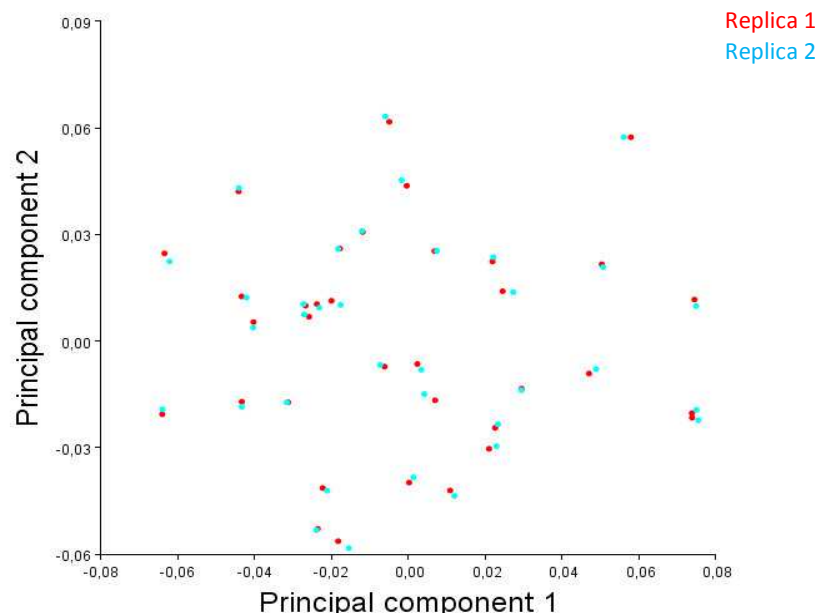


Figura 3.3 - Gráfico do PC1 (37,17%) VS PC2 (23,6%) dos indivíduos utilizados para testar o erro de digitação dos marcadores anatômicos na vista lateral. Os primeiros dois componentes principais explicam o 60,8% da variância. Os 29 marcadores anatômicos foram digitados em duas imagens de cada indivíduo. A primeira réplica é indicada por pontos vermelhos e a segunda por pontos azuis.

### 3.2 - Dimorfismo sexual no crânio de *Philander frenatus*.

#### 3.2.1 - Dimorfismo sexual no tamanho do crânio.

Os valores do tamanho do centroide das configurações de marcos anatômicos do crânio nas três vistas foram comparados entre machos e fêmeas através de teste-t (Zar, 1996). Como foram feitos três testes (vistas dorsal, ventral e lateral), foi utilizada a correção de bonferroni ( $p$ -valor significativo  $<0.016$ ).

Utilizando a amostra total, o crânio de *Philander frenatus* apresentou diferença significativa nos valores do tamanho do centroide nas vistas dorsal ( $t= 9,8262$ ;  $p= <0,0001$ ), ventral ( $t= 10,085$ ;  $p= <0,0001$ ) e lateral ( $t= 9,9022$ ;  $p= <0,0001$ ), corroborando os dados da análise intrapopulacional, com os machos apresentando crânios maiores que as fêmeas (Figura 3.4.a).

O dimorfismo sexual intrapopulacional no tamanho do crânio foi avaliado na população do quadrante X17 (Restinga Barra de Maricá - RJ), para evitar a variação geográfica da amostra. As três vistas do crânio revelaram diferenças significativas nos valores do tamanho do centroide (dorsal:  $t= 6,6845$ ;  $p= <0,0001$ ; ventral:  $t= 6,5094$ ;  $p= <0,0001$ ; lateral:  $t= 6,5077$ ;  $p= <0,0001$ ), indicando que os machos possuem em média, crânios maiores que as fêmeas (Figura 3.4.b).

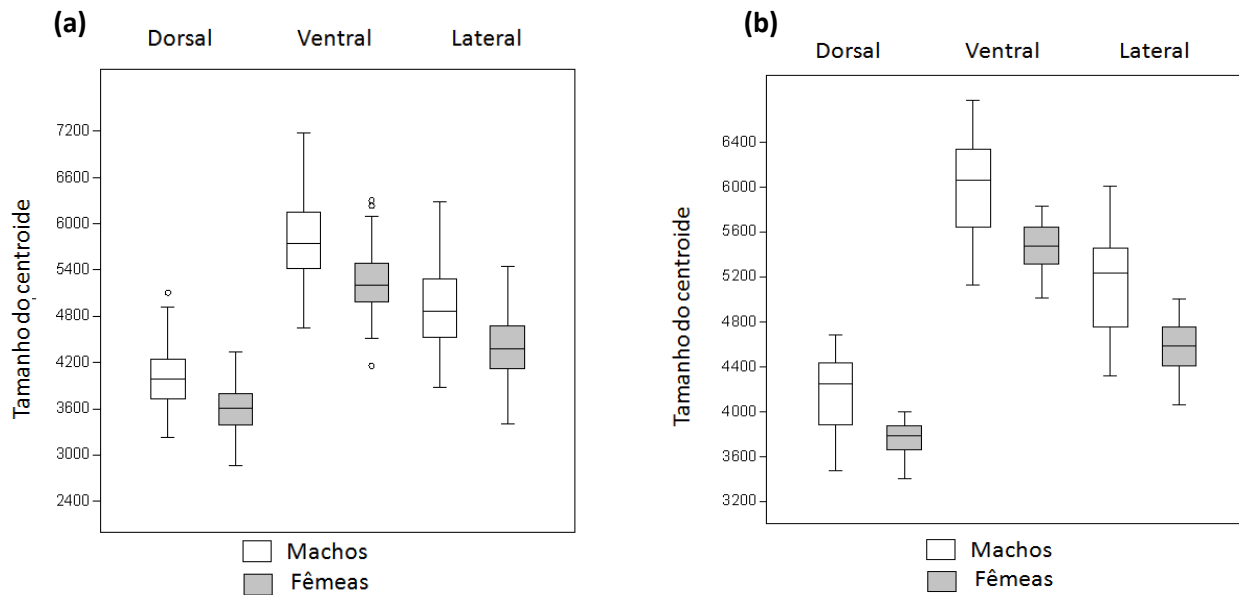


Figura 3.4 – Gráficos com as distribuições do tamanho do centroide do crânio de *P. frenatus* para machos e fêmeas nas vistas dorsal, ventral e lateral para: **a)** Amostra total e **b)** População do quadrante X17(Restinga Barra de Maricá - RJ). Linha horizontal: média; caixas: 25-75% (2º e 3º quartis); linhas verticais: valores extremos; círculos: “outliers”.

### 3.2.2 - Dimorfismo sexual na forma do crânio

#### 3.2.2.1 - Dimorfismo sexual intrapopulacional.

O dimorfismo sexual intrapopulacional na forma do crânio de *P. frenatus* foi testado utilizando a população com maior número de indivíduos, Restinga Barra de Maricá, RJ com n=71 indivíduos.

##### 3.2.2.1.1 - Análises de Componentes Principais (PCA):

A visualização das mudanças na forma do crânio no PCA foi feita utilizando escala de 0.1 nas comparações dos indivíduos dos extremos positivos e negativos contra a forma média, isto é, autovalor zero do componente principal do crânio em cada vista, para visualizar quais marcos anatômicos variam mais de posição e explicam as principais diferenças na forma entre machos e fêmeas, de acordo com os vetores de variação na forma.

Na vista dorsal do crânio, o PCA indicou que o primeiro componente principal (PC1), explicou o 27% da variância, enquanto o segundo (PC2), explicou o 13,5%. Todas as fêmeas encontram-se em sobreposição com os machos localizados nos valores negativos do PC1, enquanto os machos apresentam uma distribuição ampla ao longo do PC1, apresentando indivíduos nos valores negativos, e uma grande porção nos valores positivos desse eixo. Os valores do extremo positivo do PC1, representados pelo indivíduo MNRJ28807 localizado no extremo mais positivo do eixo (Figura 3.5), estão relacionados a uma expansão do arco zigomático, com deslocamento anterior da sutura jugal-squamosal, processo pos-orbital mais pronunciado, constrição pos-orbital mais estreita, porção posterior da caixa craniana mais estreita na altura do processo mastoideo do petrosal. Um rosto mais largo, com nasais expandidos posteriormente, ingressando na região do frontal, e pré-maxilares e maxilares mais largos e cumpridos (Figura 3.5).

As mudanças da forma explicadas pelos valores negativos do PC1, são representadas pelo indivíduo MNRJ26781, localizado no extremo dos valores negativos do eixo. As principais diferenças na forma estão associadas a uma constrição do arco zigomático, com posicionamento posterior da sutura jugal-esquamosal, processo pos-orbital menos proeminente, porção posterior da caixa craniana mais curta, pré maxilares mais curtos e maxilares mais estreitos.

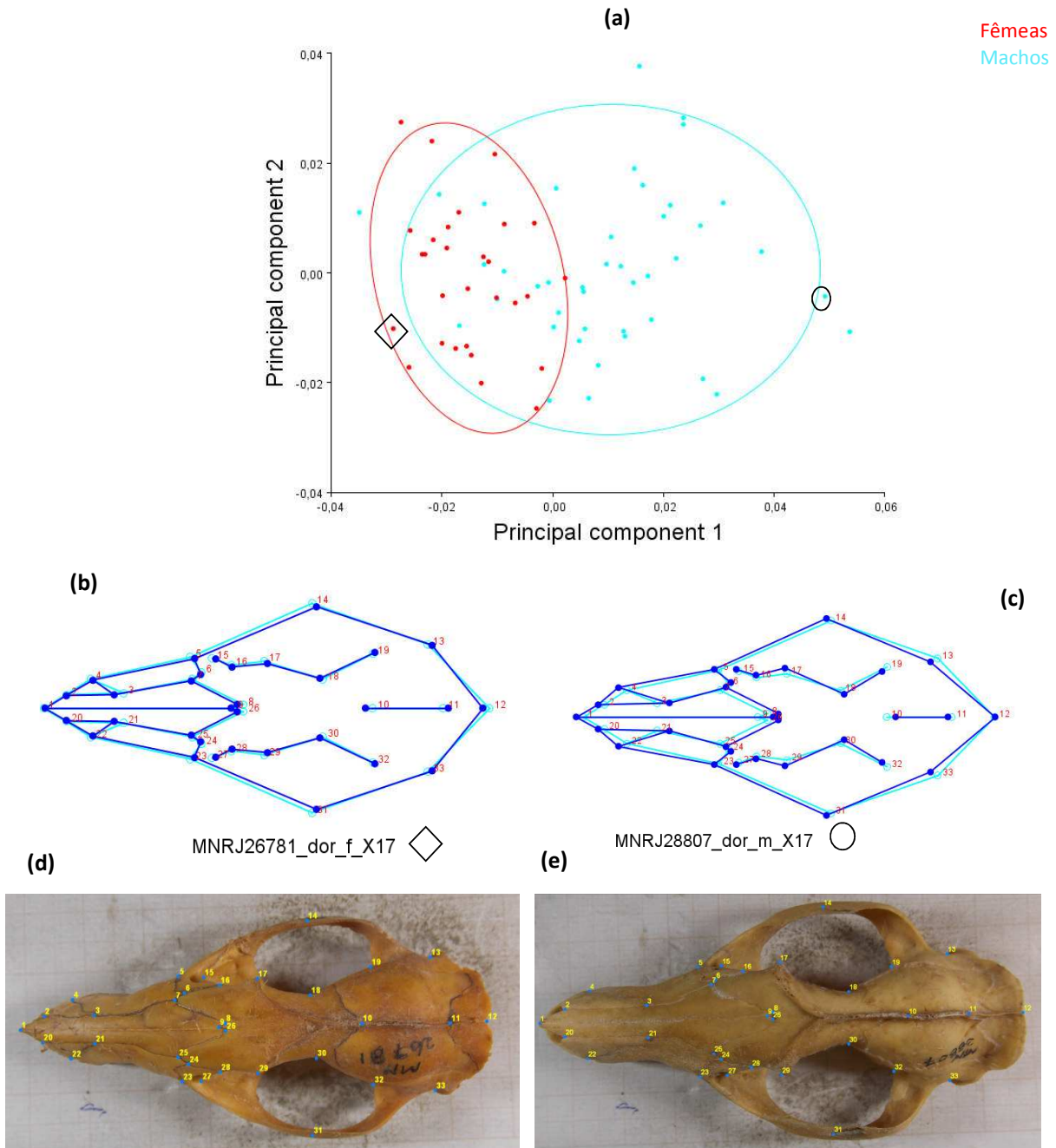


Figura 3.5 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais de machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* da população de Restinga barra de Maricá, RJ, na vista dorsal do crânio com elipses do 90% de confiança; **b)** "wireframe" da vista dorsal representando a forma média (azul claro) sobreposta a forma do indivíduo MNRJ26781 (azul escuro); **c)** "wireframe" da forma média (azul claro) sobreposta a forma do indivíduo MNRJ28807 (azul escuro); **d)** Fotografia do indivíduo MNRJ26781 indicando os marcos anatômicos; **e)** fotografia do indivíduo MNRJ28807 indicando os marcos anatômicos.

A análise de componentes principais na vista ventral do crânio indicou que o PC1 foi responsável pelo 47,85% da variância, enquanto o PC2 explicou o 13,06%. As fêmeas encontram-se sobrepostas a distribuição dos machos nos dois eixos representados no gráfico (PC1 e PC2). Os machos apresentaram uma distribuição ampla ao longo do PC1, enquanto nas fêmeas essa

amplitude foi menor, ficando totalmente sobrepostas aos machos (Figura 3.6). A distribuição dos escores individuais nesta vista não estruturou separadamente machos e fêmeas, por tanto gráficos de deformações dos marcos anatômicos não são apresentados.

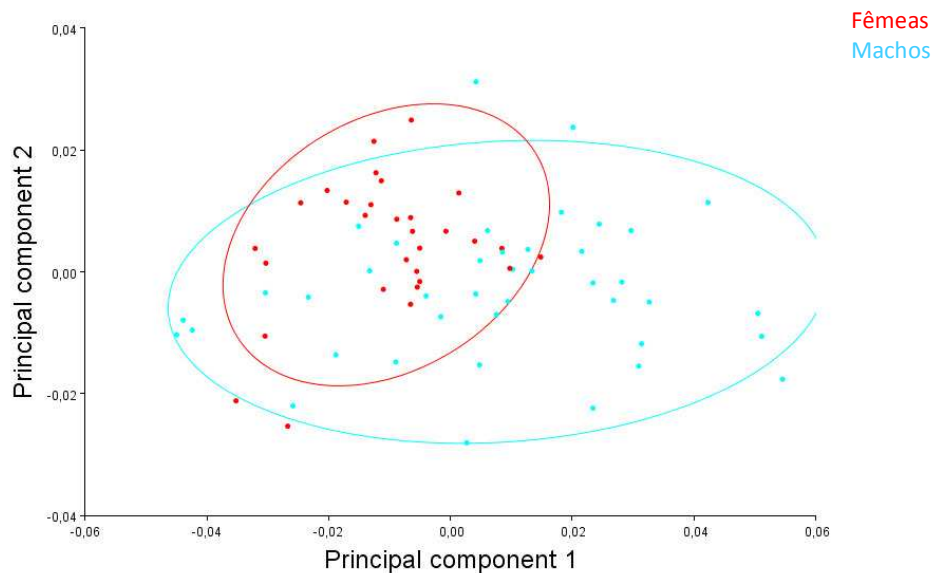
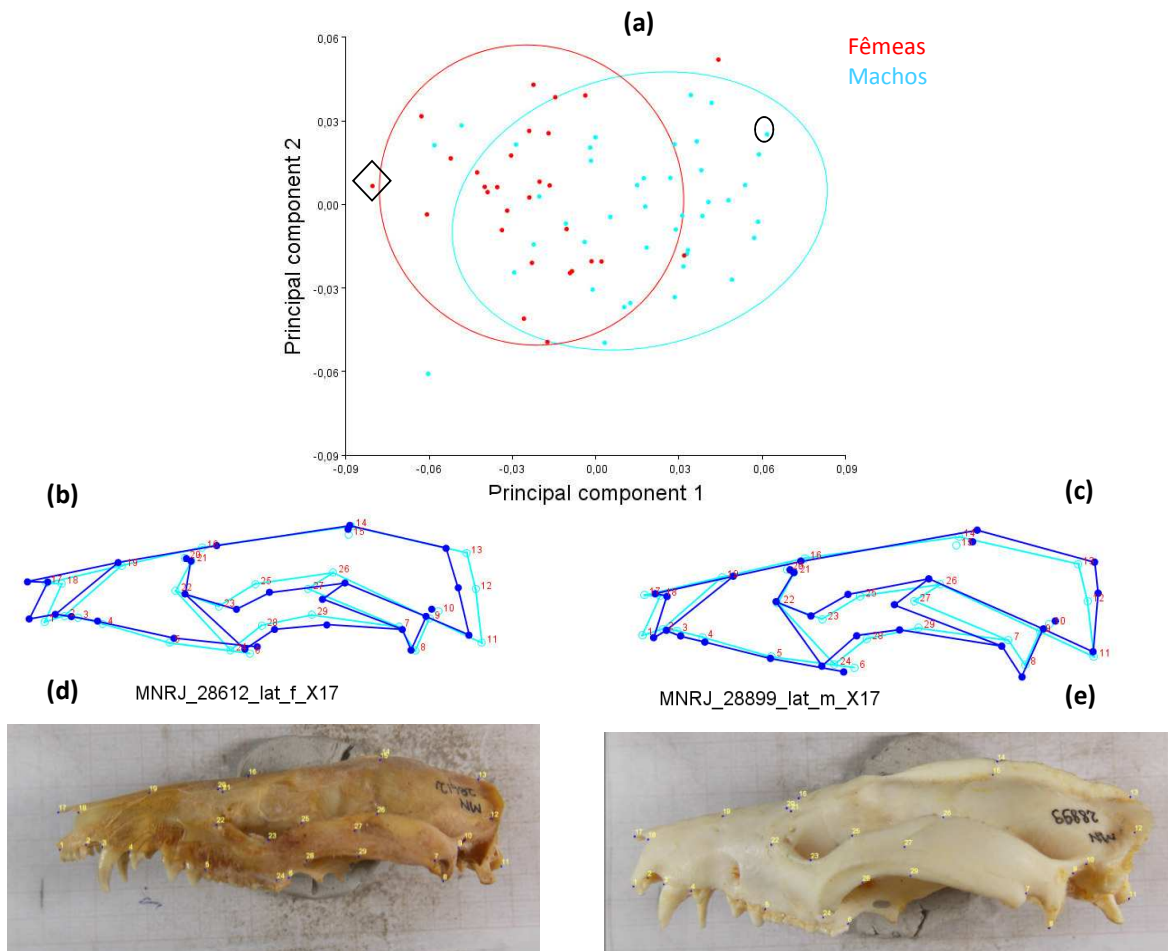


Figura 3.6 - Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) da vista ventral do crânio com elipses do 90% de confiança de machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* da população de Restinga barra de Maricá, RJ.

Na vista lateral do crânio o PC1 explicou o 40,77% da variância enquanto o PC2 explicou o 19,38%. A distribuição dos escores individuais indicou uma sobreposição de machos e fêmeas nos dois primeiros eixos de componentes principais (PC1 e PC2), com uma tendência das fêmeas a se localizar nos valores negativos do PC1 e os machos amplamente distribuídos neste eixo, com alguns machos não sobrepostos as fêmeas nos valores mais positivos do PC1 (Figura 3.7a). Os valores do extremo positivo do PC1, exemplificados pelo indivíduo MNRJ28899, indicam o encurtamento do pré maxilar, aumento da altura da crista sagital, expansão da caixa craniana na porção posterior, um arco zigomático mais alto, com processo frontal do jugal mais elevado e proeminente, sutura jugal-esquamosal com um ângulo de abertura maior, deslocando se para frente no arco zigomático. O processo pos-glenoide se expande anteriormente e fica mais proeminente (Figura 3.7 c). Os valores do extremo negativo do PC2, exemplificados pelo indivíduo MNRJ28612, indicam um crânio com o pre-maxilar mais cumprido, um rosto mais estreito, um arco zigomático mais baixo com o processo frontal do jugal menos proeminente e começando em um ponto mais posterior do jugal. A região posterior do crânio fica mais curta, na altura da raiz da crista sagital, com o côndilo occipital menor, em uma posição mais anterior

no crânio (Figura 3.7 b). As fotografias dos indivíduos descritos são apresentadas para visualizar as diferenças entre dois exemplares de extremos opostos do PC1 (Figura 3.7 d, e).



**Figura 3.7 - a)** Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos principais para machos e fêmeas do quadrante X17 na vista lateral do crânio de *P. frenatus*. Machos em azul e fêmeas em vermelho, com elipses do 90% de confiança; **b)** “Wireframe” mostrando as mudanças da forma média (azul claro) sobreposta a forma do indivíduo MNRJ 28612 (azul escuro); **c)** “Wireframe” mostrando as mudanças da forma média (azul claro) sobreposta a forma do indivíduo MNRJ 28899 (azul escuro); **d)** Fotografia do indivíduo MNRJ 28612 indicando os marcos anatômicos; e) Fotografia do indivíduo MNRJ 28899 indicando os marcos anatômicos.

### 3.2.2.1.2 - Análise Discriminante:

Na vista dorsal, foram encontradas diferenças significativas entre as formas médias do crânio de machos e fêmeas. A análise Discriminante indicou a distância de Procrustes: 0,02653285; e a distância de Mahalanobis: 3,7438. Obteve-se o valor do T-quadrado: 240,4456, com P-valor (paramétrico) <.0001. Resultados dos P-valores para testes de permutação (1000 réplicas) indicaram diferenças significativas entre a forma média de machos e fêmeas na vista dorsal (Distância de Procrustes: <.0001; Distância de Mahalanobis: <.0001).

A tabela de classificação de validação cruzada (“cross-validation”) indicou uma correta classificação através da Análise de Função Discriminante de 79,3% das fêmeas e 90,4% dos machos na vista dorsal (Tabela. 11). O histograma de frequências através da Análise Discriminante “cross-validation”, mostrou uma sobreposição baixa das frequências de machos e fêmeas, discriminando os dois sexos (Figura 3.8). As principais diferenças na forma do crânio na vista dorsal, entre machos e fêmeas desta população, são devidas a que os machos apresentam uma expansão posterior do pré maxilar e dos nasais, um arco zigomático expandido lateralmente na altura da sutura jugal-esquamosal, um processo pos-orbital mais proeminente, e a caixa craniana mais cumprida e estreita ao nível temporal, na margem anterior do processo mastoideo do petrosal (Figura 3.9).

Tabela 11 - Tabela de classificação da Análise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista dorsal do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá, RJ. A coluna da esquerda indica o sexo determinado *a priori*, a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem representada.

Sexo a priori	Resultado AD	Resultado AD	Total
Sexo	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	23 (79,3%)	6 (20,6%)	29 (100%)
Machos	4 (9,52%)	38 (90,4%)	42 (100%)

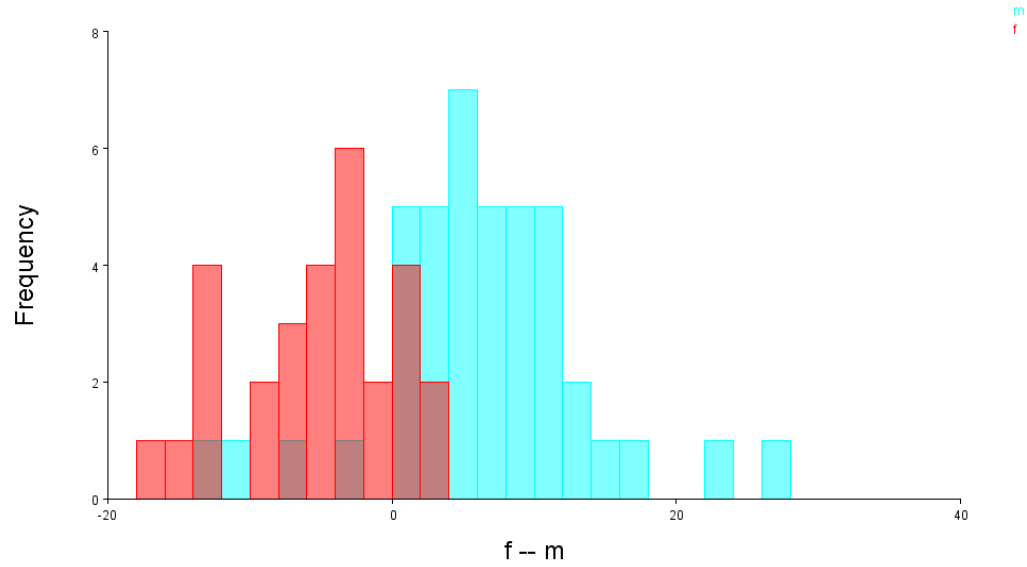


Figura 3.8 - Histograma de frequências dos escores discriminantes da vista dorsal do crânio para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga Barra de Maricá através do teste Jacknife (leave-one-out) "cross-validation".

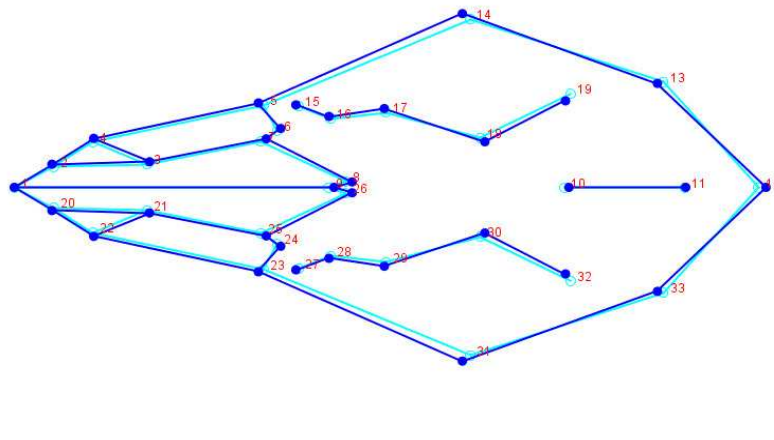


Figura 3.9 - "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista dorsal, da população de restinga Barra de Maricá, mostrando as configurações medias de marcos anatômicos de machos (azul escuro) e fêmeas (azul claro), evidenciando as diferenças da forma encontradas na Análise Discriminante. Os números indicam os marcos anatômicos.

Na vista ventral do crânio, foram encontradas diferenças significativas entre as formas medias do crânio de machos e fêmeas. A análise Discriminante indicou a distância de Procrustes: 0,02147589; e a distância de Mahalanobis: 5,5766. Obteve se o valor do T-quadrado: 538,7486, e o P-valor (paramétrico): <.0001. Resultados dos P-valores para testes de permutação (1000 réplicas) foram: Distancia de Procrustes: <.0001; Distancia de Mahalanobis: <.0001.

A tabela de classificação da análise “cross-validation” da vista ventral, indicou que o 73,33% das fêmeas e 82,93% dos machos foram classificados corretamente pela Analises Discriminante (Tabela 12). O histograma de frequência dos escores descriminantes para machos e fêmeas indicou uma sobreposição parcial entre sexos (Figura 3.10).

As principais diferenças na forma do crânio na vista ventral, entre machos e fêmeas da população de Restinga Barra de Maricá, são devidas a que os machos apresentam uma expansão do arco zigomatico na região da sutura jugal-esquamosal, e na região da sutura jugal-maxilar. Pode se observar também um palato menor, um rosto mais curto, e um posicionamento mais anterior da sutura entre maxilares e palatinos (Figura 3.11).

Tabela 12 - Tabela de classificação da Analise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista ventral do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá, RJ. A coluna da esquerda indica o sexo determinado a priori, a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem representada.

Sexo input	Resultado AD	Resultado AD	Total
Sexo	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	22 (73,33%)	8 (26,67%)	30 (100%)
Machos	7 (17,07%)	34 (82,93%)	41 (100%)

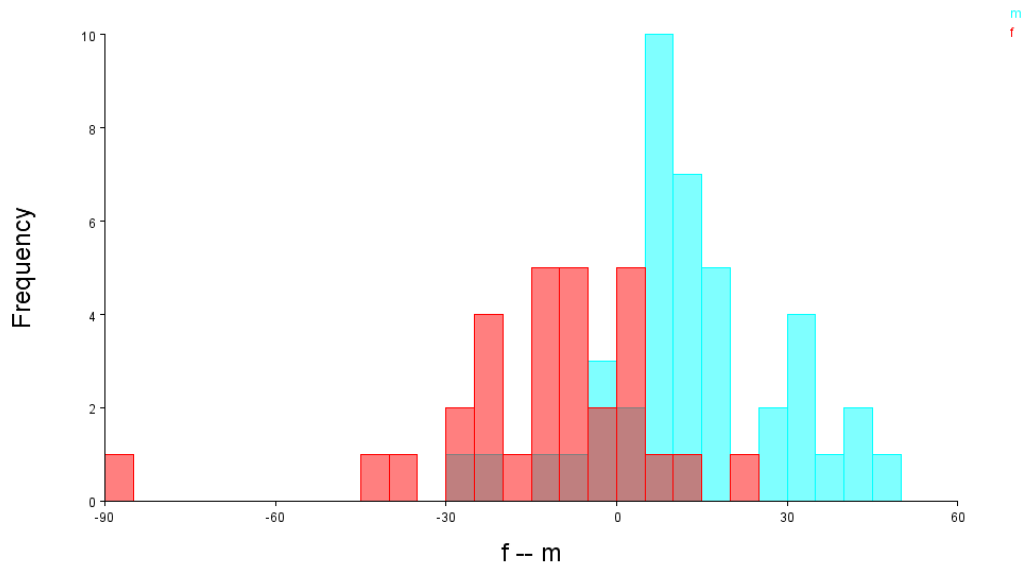


Figura 3.10 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga barra de Maricá na vista ventral, através do teste Jackknife (leave-one-out) "cross-validation".

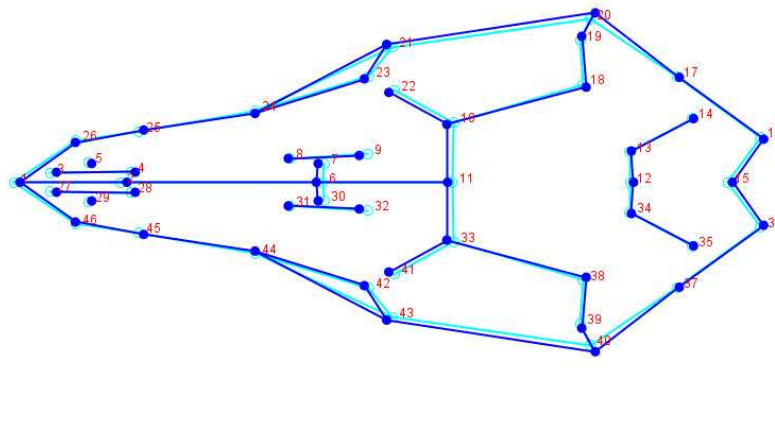


Figura 3.11 - "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista ventral, mostrando as diferenças encontradas na Análise Discriminante, da forma do crânio entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da população de restinga Barra de Maricá. Os números indicam os marcos anatômico da vista ventral.

Na vista lateral do crânio, as diferenças entre formas medias de machos e fêmeas foram significativas. A análise Discriminante indicou a Distância de Procrustes: 0,04185373; e a Distância de Mahalanobis: 7,0217). Obteve se o valor do T-quadrado: 845,8001, e P-valor (paramétrico): 0,0032. Resultados dos P-values para testes de permutação (1000 réplicas) foram: Distancia de Procrustes:<.0001; Distancia de Mahalanobis: 0,0050. A tabela de

classificação da análise “cross-validation” indicou que o 82.76% das fêmeas e 69.05% dos machos foram classificados corretamente pela Análise Discriminante (Tabela 13). O histograma de frequências dos escores discriminantes na vista lateral indicou uma ampla sobreposição entre sexos (Figura 3.12).

As principais diferenças da forma entre machos e fêmeas da população de Restinga Barra de Maricá, na vista lateral do crânio são visualizadas na Figura 3.13. Machos apresentam um maxilar expandido na região anterior e posterior, pré-maxilar mais curto, o arco zigomático apresenta-se expandido anteriormente, mais alto e robusto, com o processo frontal do jugal mais proeminente. O processo postglenoide se expande posteriormente, e a crista sagital mais desenvolvida finaliza em uma porção mais posterior no crânio. As fêmeas, pelo contrário, apresentam o pré-maxilar mais cumprido, o arco zigomático mais estreito, com processo frontal do jugal menos proeminente, processo postglenoide levemente menor, e a crista sagital menos desenvolvida finalizando mais anteriormente no crânio.

Tabela 13 - Tabela de classificação da Análise Discriminante “cross-validation” entre sexos, na vista lateral do crânio dos indivíduos da população de Restinga Barra de Maricá, RJ. A coluna da esquerda indica o sexo determinado a priori, a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem representada.

Sexo	Resultado AD		Total
	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	24 (82,76%)	5 (17,24%)	29 (100%)
Machos	13 (30,95%)	29 (69,05%)	42 (100%)

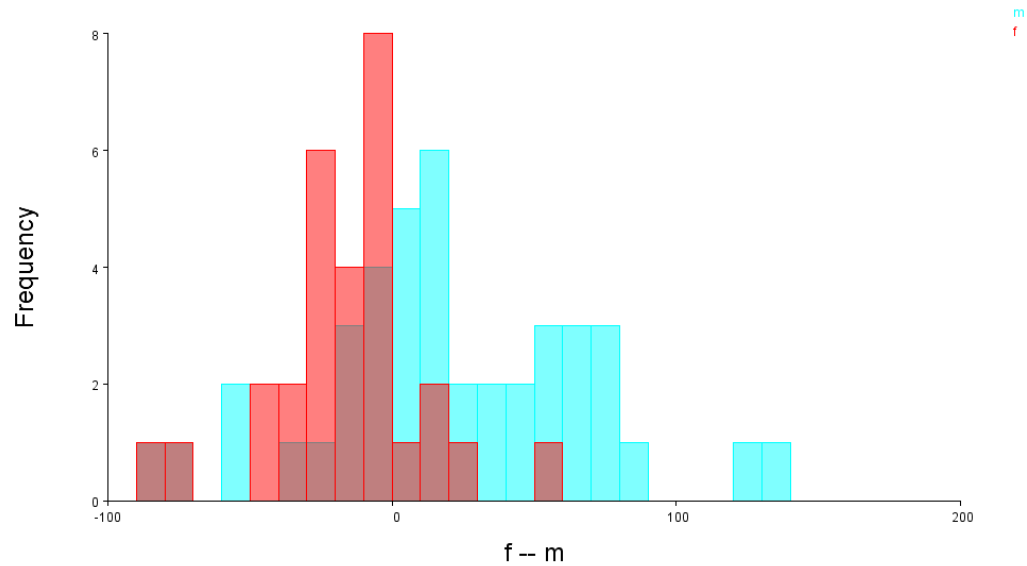


Figura 3.12 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos (barras azuis) e fêmeas (barras vermelhas) da população Restinga barra de Maricá na vista lateral através do teste Jackknife (leave-one-out) "cross-validation".

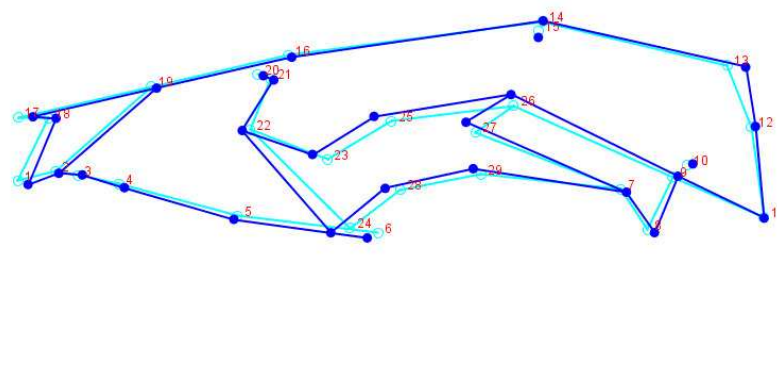


Figura 3.13 - "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista lateral, mostrando as diferenças encontradas na Análise Discriminante, da forma do crânio entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da população de restinga Barra de Maricá. Os números indicam os marcos anatômico da vista lateral.

### 3.2.2.2- Dimorfismo sexual intraespecífico.

#### 3.2.2.2.1 - Análises de componentes principais (PCA):

As análises de componentes principais (PCA), mostraram a estruturação da variância nos indivíduos de *P. frenatus*, visualizando os eixos que explicam a maior porcentagem da variância, identificando a distribuição dos escores individuais dos machos e fêmeas com elipses do 90% de confiança.

Na vista dorsal do crânio, machos e fêmeas não apresentaram nenhum padrão de diferenciação completo entre si para os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2), os quais explicaram o 38,87% da variância (25,52% e 13,34% respectivamente). Machos e fêmeas se sobrepõem amplamente, com as fêmeas sobrepostas em sua maioria aos valores negativos do PC1 da distribuição dos machos, e algumas sem sobreposição nos valores mais negativos, enquanto uma grande parte dos machos ficaram totalmente separados das fêmeas nos valores positivos do PC1 (Figura 3.14 a). O PC2 indicou uma sobreposição dos escores individuais. Resultados similares foram encontrados nas análises feitas utilizando um menor número de marcos anatômicos na vista dorsal (Figura 3.15), apresentando uma ampla sobreposição entre machos e fêmeas, e um padrão de distribuição similar ao descrito anteriormente no PC1 e PC2. As grades de deformação representando as mudanças na forma explicadas pelos valores positivos do PC1, em ambas as análises, demonstram um padrão similar, no entanto as deformações representadas por um maior número de marcos anatômicos, Figura 3.15 (b), fornecem maior cobertura da forma, sendo a configuração de marcos anatômicos utilizada nas análises posteriores. Na figura 12, a grade de deformação representa as principais mudanças explicadas pelos valores positivos do PC1 em referência a forma média. As principais deformações são devidas a, uma expansão nos nasais, os quais se fusionam com o frontal em um ponto mais posterior do crânio, o processo pós-orbital fica mais proeminente, a constrição pós-orbital e a caixa craniana mais estreita e o arco zigomático mais amplo, com a sutura jugal-esquamosal posicionando se mais anteriormente.

Na vista ventral do crânio, o primeiro componente principal, PC1 explicou 51,84% da variância, em quanto o PC2 explicou 10,92%, totalizando entre os dois eixos um 62,76% da variância total. A análise destes dois componentes, apresenta um padrão semelhante ao ocorrido na vista dorsal, com uma sobreposição quase total das fêmeas sobre os machos nos valores negativos do PC1, e uma porção pequena dos machos separados das fêmeas nos valores mais positivos do PC1 (Figura 3.16.a). Resultado similar foi encontrado na análise utilizando apenas os marcos

anatômicos referidos em Astua (2010) na vista ventral (Figura 3.17 a), com os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) representando a maior porcentagem da variação (67,78% e 11,01% respectivamente). O gráfico apresentou o mesmo padrão de distribuição para machos e fêmeas nas duas análises sobre os eixos de maior variância da amostra. As grades de deformação da vista ventral representam as principais mudanças da forma media (pontos azuis) explicadas pelos valores positivos do PC1. De forma geral, analisando as duas grades de deformação, pode se observar um encurtamento do rosto, com os forâmens incisivos e os marcos anatômicos do pré-maxilar deslocando se posteriormente. A serie pré-molar fica mais estreita, e a serie molar se desloca para frente no maxilar. Na porção media, observa se um palato mais curto e estreito, e um arco zigomático mais cumprido e amplo. Na parte posterior do crânio, observa se um posicionamento mais posterior do basi-occipital e os cõndilos occipitais, assim como um estreitamento da caixa craniana. Da mesma forma que na vista dorsal, a primeira configuração de marcos anatômicos oferece uma maior cobertura da forma, e representa mudanças localizadas da forma que não aparecem na segunda configuração de marcos anatômicos, por tanto foi utilizada nas análises posteriores.

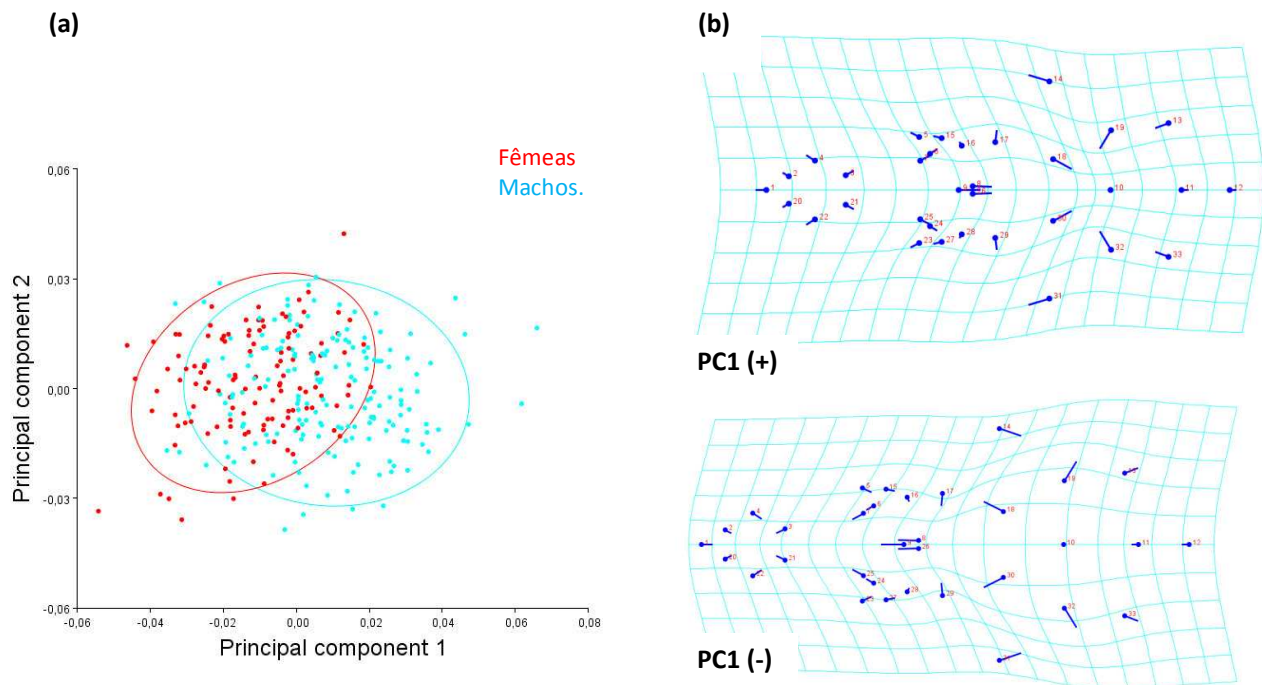


Figura 3.14 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista dorsal do crânio, com elipses do 90% de confiança. **b)** grade de deformação da vista dorsal representando as mudanças da forma media (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos (acima) e negativos (embaixo) do PC1.

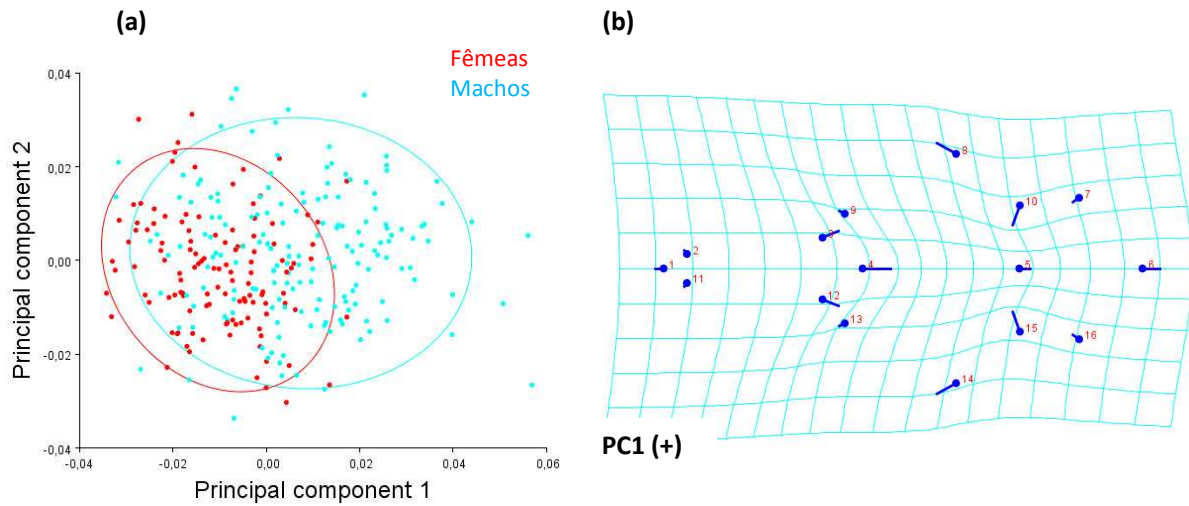


Figura 3.15 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista dorsal do crânio, com elipses do 90% de confiança. **b)** grade de deformação da vista dorsal representando as mudanças da forma media (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos do PC1 (vetores). Nesta análise foram utilizados apenas os marcos anatômicos de Astua (2010).

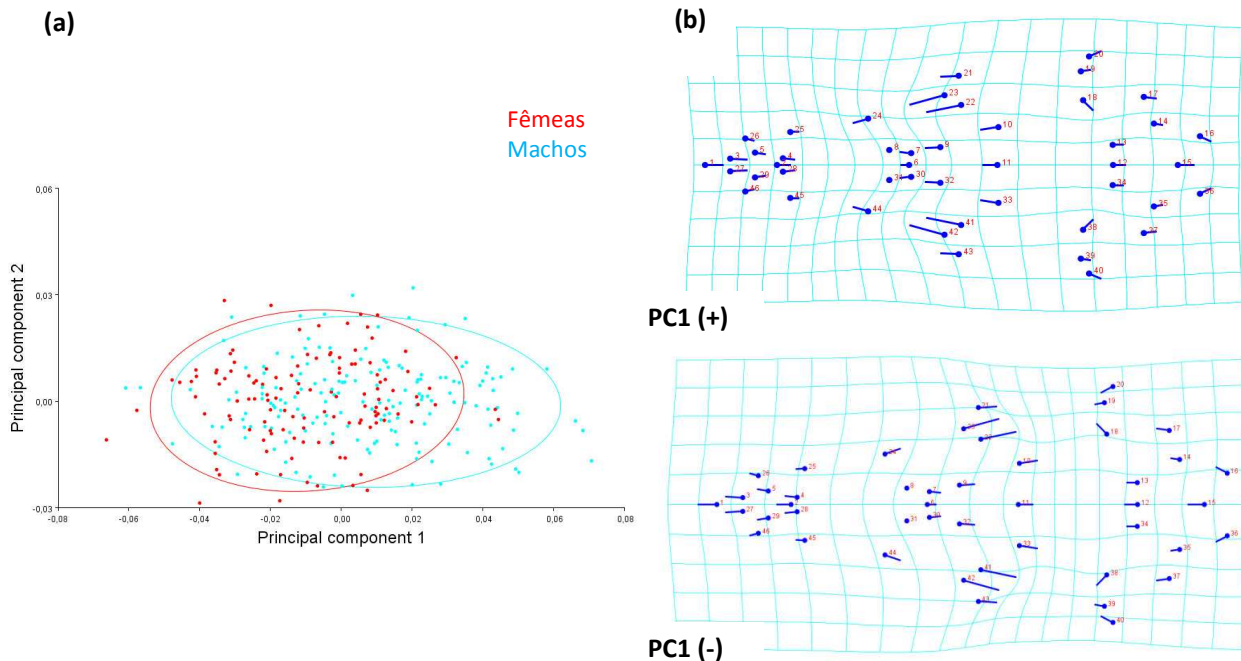


Figura 3.16 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista ventral do crânio, com elipses do 90% de confiança. **b)** grade de deformação da vista ventral representando as mudanças da forma media (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos (acima) e negativos (embaixo) do PC1 (vetores).

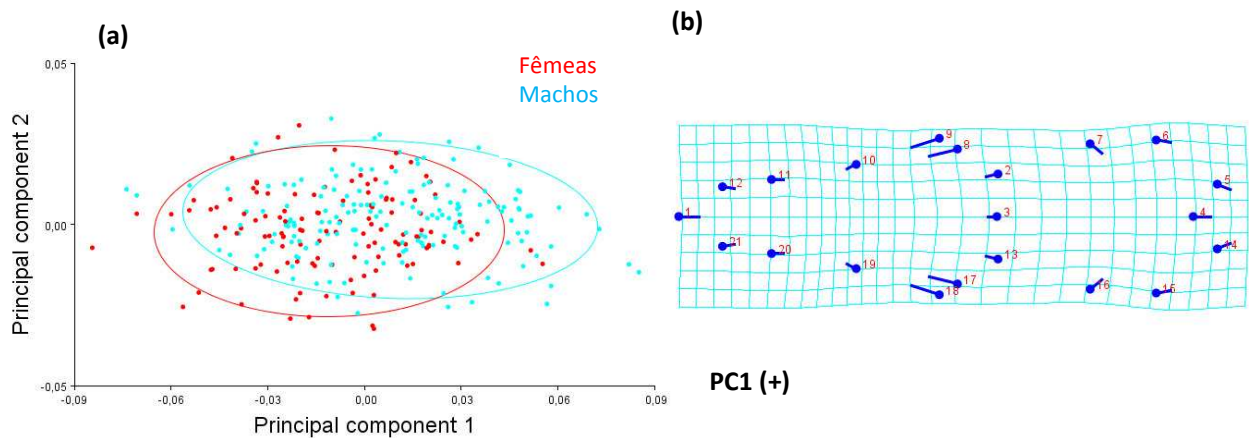


Figura 3.17 - a) Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista ventral do crânio, com elipses do 90% de confiança. b) grade de deformação da vista ventral representando as mudanças da forma média (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos do PC1 (vetores). Nesta figura foram utilizados apenas os marcos anatômicos de Astúa (2010).

Na vista lateral do crânio, o PC1 explicou 44,99% da variância, enquanto o PC2 explicou 16,91%, totalizando 61,9% da variância total. Nos dois eixos de maior variância se observa um padrão de sobreposição de machos e fêmeas similar ao descrito nas vistas dorsal e ventral, com a maioria dos indivíduos sobrepostos, alguns machos nos valores positivos do PC1 sem sobreposição com as fêmeas, e algumas fêmeas sem sobreposição com os machos no quadrante dos valores negativos do PC1 e positivos do PC2 (Figura 3.18). Utilizando a configuração de marcos anatômicos definida por Astúa (2010), obteve-se um padrão de distribuição similar nos dois primeiros componentes principais PC1 e PC2, explicando o 43,15% e 17,38% da variação respectivamente (Figura 3.19). De forma geral, os valores positivos do PC1 na vista lateral do crânio representam um encurtamento do rosto, um arco zigomático mais alto, com o processo frontal do jugal mais pronunciado e um processo pós-glenoide maior, enquanto o côndilo occipital se posiciona posteriormente, e a crista sagital apresenta-se mais desenvolvida, finalizando em uma região mais posterior do crânio. As duas configurações de marcos anatômicos analisadas na vista lateral representam praticamente as mesmas mudanças de forma explicadas pelos valores positivos do PC1. No entanto, a primeira configuração de marcos anatômicos, oferece informações de mudanças na forma que não são visíveis na segunda configuração, como o processo pós-glenoide e a altura e largura do arco zigomático, por tanto, foi a configuração utilizada nas análises de variação geográfica.

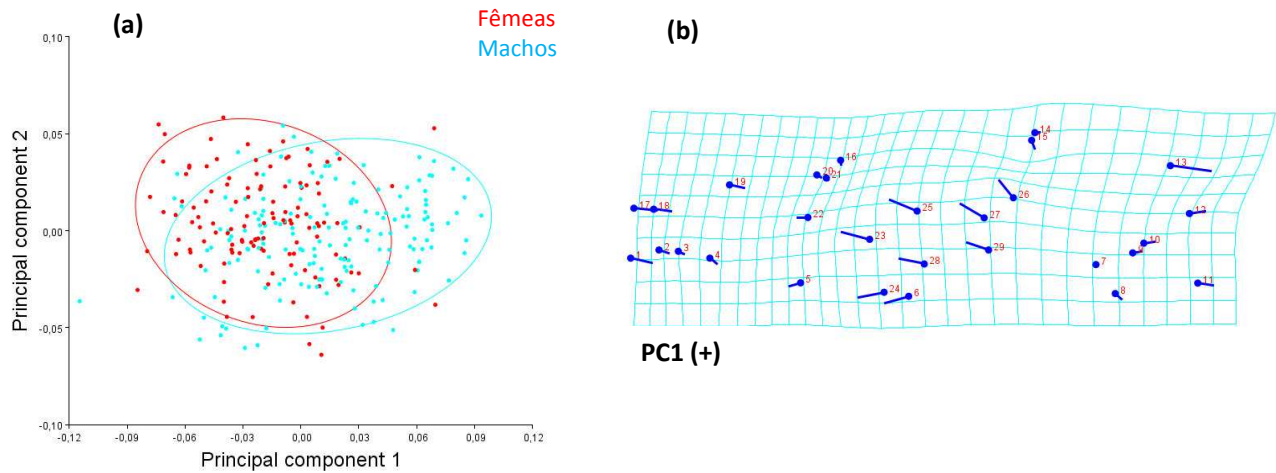


Figura 3.18 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista lateral do crânio, com elipses do 90% de confiança. **b)** grade de deformação da vista lateral representando as mudanças da forma média (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos do PC1 (vetores).

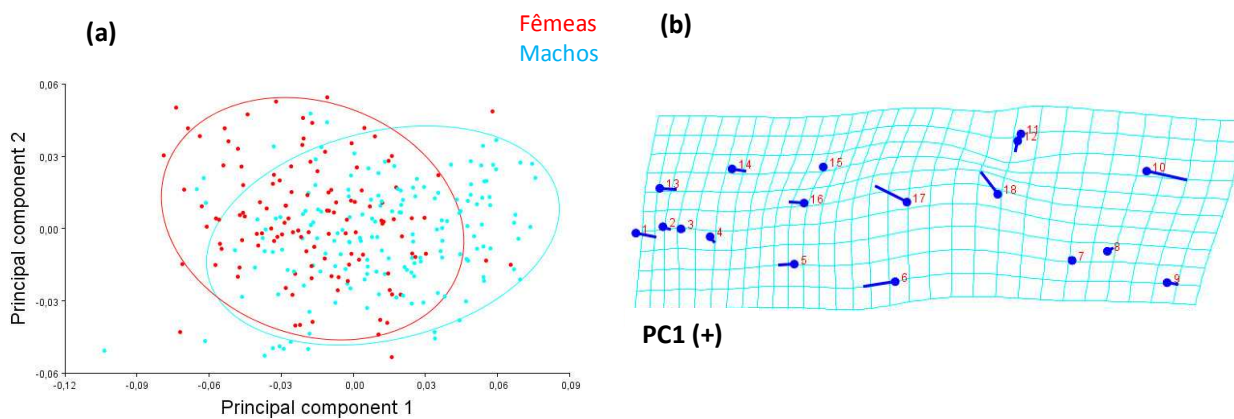


Figura 3.19 - **a)** Gráfico com os escores para os dois primeiros componentes principais para machos (azul) e fêmeas (vermelho) de *P. frenatus* na vista lateral do crânio, com elipses do 90% de confiança. **b)** grade de deformação da vista lateral representando as mudanças da forma média (pontos azuis) para atingir a forma explicada pelos valores positivos do PC1 (linhas azuis). Nesta figura foram utilizados apenas os marcos anatômicos de Astúa (2010).

### 3.2.2.2.2 - Análise Discriminante (AD)

Na vista dorsal a forma do crânio apresentou diferenças significativas entre machos e fêmeas. A tabela de classificação através de Análise Discriminante “cross-validation” indicou que 80% das fêmeas e 74% dos machos foram classificados corretamente nos grupos (sexos) (Tabela 14). A análise Discriminante indicou a Distância de Procrustes: 0,02150188; e a Distância de Mahalanobis: 1,9580. Obteve-se o valor do T-quadrado: 269,0158, com P-valor (paramétrico) <.0001. Os resultados dos P-valores para os testes de permutação (1000 réplicas) indicaram diferenças significativas entre a forma média de machos e fêmeas na vista dorsal (Distância de Procrustes: <.0001; Distância de Mahalanobis (T-quadrado): <.0001). O teste de permutação utilizando o estatístico T-quadrado é equivalente ao teste utilizando a distância de Mahalanobis. O histograma de frequências de classificação entre machos e fêmeas através de Análise Discriminante “cross-validation” indicou uma leve sobreposição da forma. No entanto, as frequências de classificação indicaram uma diferenciação da forma do crânio entre machos e fêmeas (Figura 3.20). As principais diferenças entre as formas médias do crânio na vista dorsal são representadas na figura 3.21. De acordo com o gráfico, o crânio das fêmeas apresenta um arco zigomático mais estreito ao nível da sutura jugal-esquamosal. O processo pos-orbital é menos pronunciado nas fêmeas, e a constrição pos-orbital mais estreita nos machos.

Tabela 14 - Tabela de classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista dorsal. A coluna da esquerda indica o sexo determinado a priori, e a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem que representa.

Sexo	Resultado AD		Total
	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	96 (80%)	24 (20%)	120 (100%)
Machos	41 (24,26%)	128 (74,41%)	169 (100%)

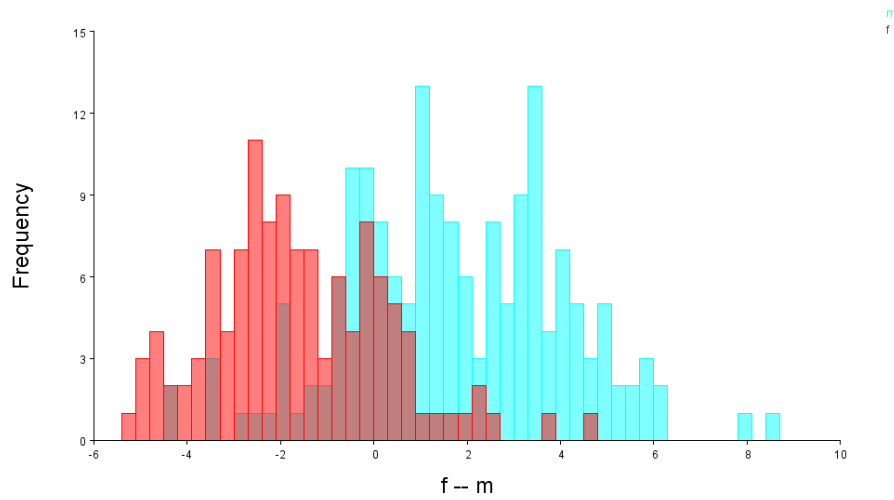


Figura 3.20 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas da amostra total na vista dorsal através de um teste Jackknife (leave-one-out) "cross-validation". Fêmeas em barras vermelhas, machos em barras azuis.

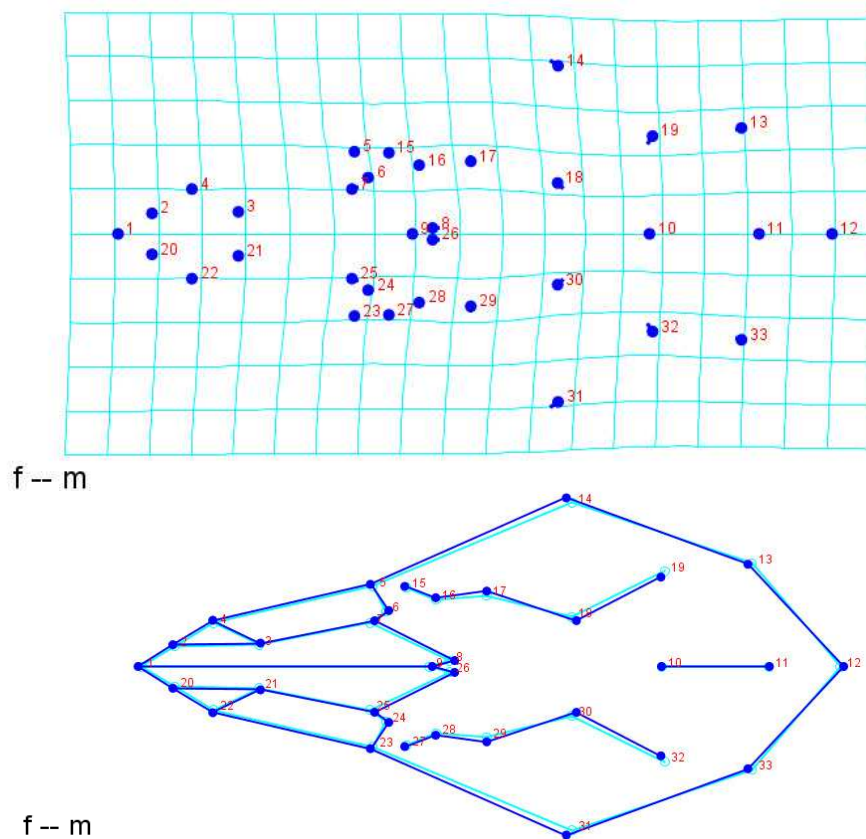


Figura 3.21 - **a)** Grade de deformação da vista dorsal representando as mudanças da forma média das fêmeas (pontos azuis) para atingir a forma média dos machos (vetores). **b)** "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista dorsal, mostrando as diferenças na forma do crânio através de Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da amostra total. Os números em vermelho indicam os marcos anatômicos.

Na vista ventral, a forma do crânio apresentou diferenças significativas entre machos e fêmeas. A análise Discriminante indicou a Distância de Procrustes: 0,01835973; e a Distância de Mahalanobis: 2,5526. Obteve-se o valor do T-quadrado: 462,6954, com P-valor (paramétrico) <.0001. Os resultados dos P-valor para os testes de permutação (1000 réplicas) indicaram diferenças significativas entre a forma média de machos e fêmeas na vista dorsal (Distância de Procrustes: <.0001; Distância de Mahalanobis(T-quadrado): <.0001). O teste de permutação utilizando o estatístico T-quadrado é equivalente ao teste utilizando a distância de Mahalanobis. A tabela de classificação dos indivíduos indicou que 82,92% das fêmeas e 84,52% dos machos foram classificados corretamente através da Análise Discriminante “cross-validation” (Tabela 15). O histograma de frequências de classificação entre machos e fêmeas através da Análise Discriminante “validação cruzada”, mostrou a diferenciação da forma do crânio na vista ventral com uma frequência de sobreposição muito baixa entre sexos (Figura 3.22). As principais diferenças na forma do crânio na vista ventral são representadas na figura 3.23. As principais diferenças na forma podem ser explicadas por um posicionamento mais anterior dos molares M3 e M4 no crânio dos machos, e uma expansão da sutura jugal-squamosal na parte posterior do arco zigomático indicando um arco zigomático mais grosso.

Tabela 15 - Tabela de classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista ventral. A coluna da esquerda indica o sexo determinado a priori, e a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem que representa.

Sexo	Resultado AD		Total
	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	102 (82,92%)	21 (17,07%)	123 (100%)
Machos	26 (15,47%)	142 (84,52%)	168 (100%)

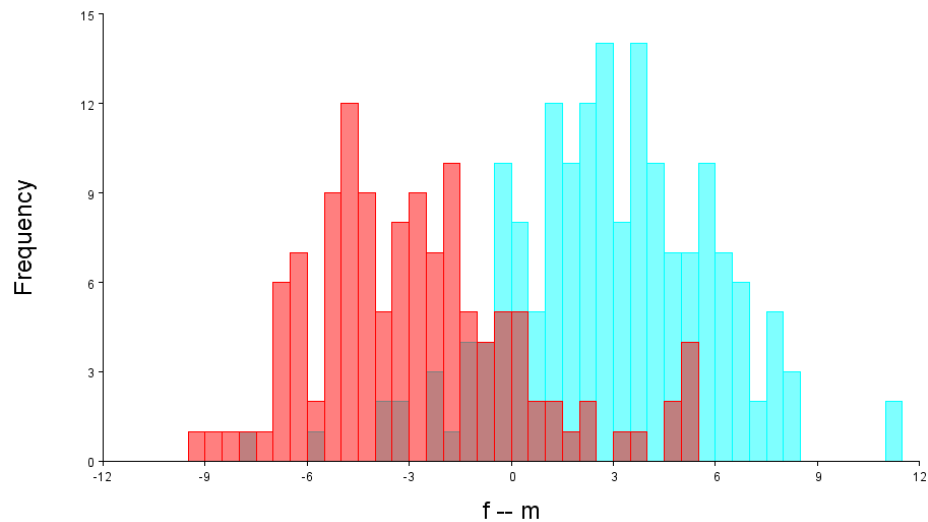


Figura 3.22 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas na vista ventral através do teste Jackknife (leave-one-out) "cross-validation". Fêmeas em barras vermelhas, machos em barras azuis.

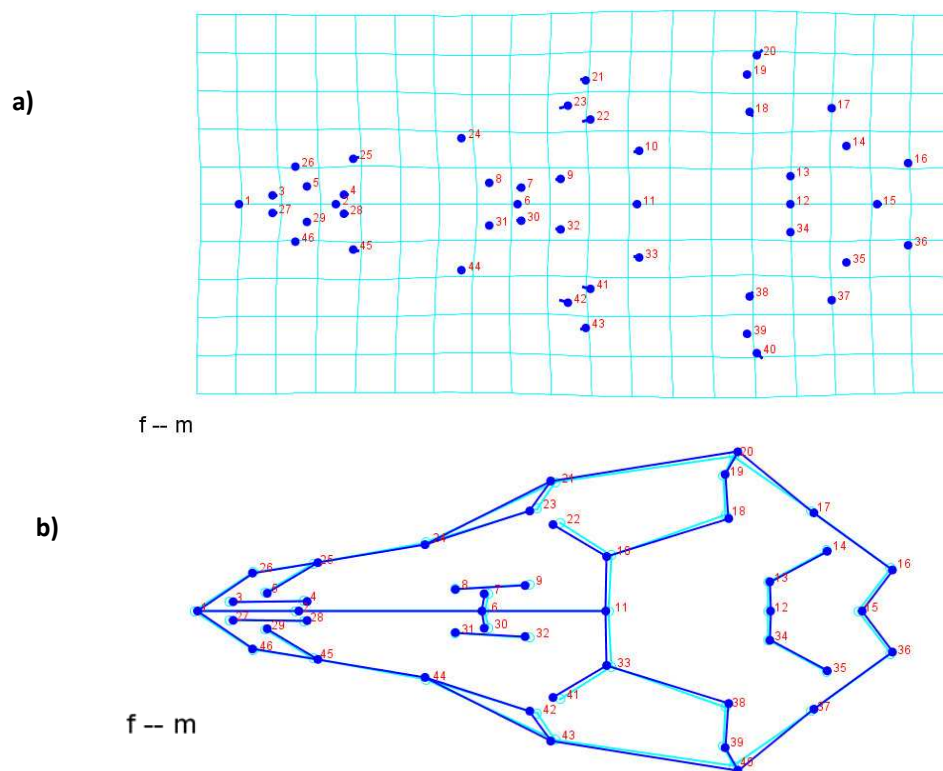


Figura 3.23 - a) Grade de deformação da vista ventral do crânio representando as mudanças da forma média das fêmeas (pontos azuis) para atingir a forma média dos machos (vetores). b) "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista ventral, mostrando as diferenças na forma do crânio através da Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (linhas azuis claras) e machos (linhas azuis escuras) da amostra total. Os números em vermelho indicam os marcos anatômicos.

Na vista lateral do crânio, foram encontradas diferenças significativas na forma entre machos e fêmeas. A análise Discriminante indicou a distância de Procrustes: 0,03592473; e a distância de Mahalanobis: 2,6701. Obteve-se o valor do T-quadrado: 503,8848, com P-valor (paramétrico) <.0001. Os resultados dos P-values para os testes de permutação (1000 réplicas) indicaram diferenças significativas entre a forma média de machos e fêmeas na vista lateral (Distância de Procrustes: <.0001; Distância de Mahalanobis(T-quadrado): <.0001).

A tabela de classificação através da análise de “cross-validation” indicou que 89,3% das fêmeas e 83,33% dos machos foram classificados corretamente através da Análise de Função Discriminante (Tabela 16). O histograma de frequências através da Análise Discriminante “cross-validation”, mostrou a diferenciação da forma do crânio na vista lateral, com uma baixa sobreposição entre machos e fêmeas (Figura 3.24).

As diferenças na forma nesta vista podem ser observadas principalmente no pré-maxilar, arco zigomático e na raiz posterior da crista sagital. Um pré-maxilar mais curto e um arco zigomático mais alto, com o processo frontal do jugal mais proeminente é observado nos machos. Nas fêmeas, o pré-maxilar é mais cumprido e estreito, dando um formato mais afiado ao rosto. O arco zigomático nas fêmeas apresenta-se mais baixo, e o processo frontal do jugal com uma curvatura mais leve, dando uma forma mais estilizada a essa estrutura. Na porção posterior do crânio, a raiz da crista sagital ficou localizada mais posteriormente nos machos do que nas fêmeas, indicando maior desenvolvimento dessa estrutura. Diferenças menos marcadas entre machos e fêmeas, podem ser encontradas também na amplitude do processo postglenoide e no comprimento da série molar (Figura 3.25).

Tabela 16 - Tabela de classificação da Análise Discriminante “cross-validation” na vista lateral. A coluna da esquerda indica o sexo determinado a priori, e a coluna “Resultado AD” indica a classificação dos indivíduos nos grupos através da Análise Discriminante. Os números indicam o número de indivíduos classificados, e em parênteses a porcentagem representada

Sexo	Resultado AD		Total
	Fêmeas	Machos	
Fêmeas	109 (89,3%)	13 (10,6%)	122 (100%)
Machos	28 (16,5%)	140 (83,33%)	168 (100%)

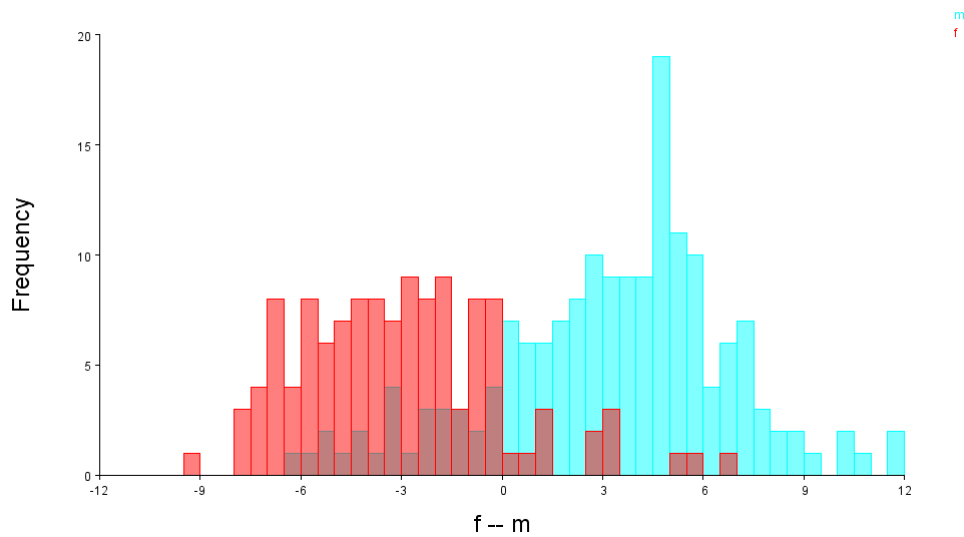


Figura 3.24 - Histograma de frequências dos escores discriminantes para machos e fêmeas da amostra total na vista lateral através do teste Jackknife (leave-one-out) "cross-validation". Fêmeas em barras vermelhas, machos em barras azuis.

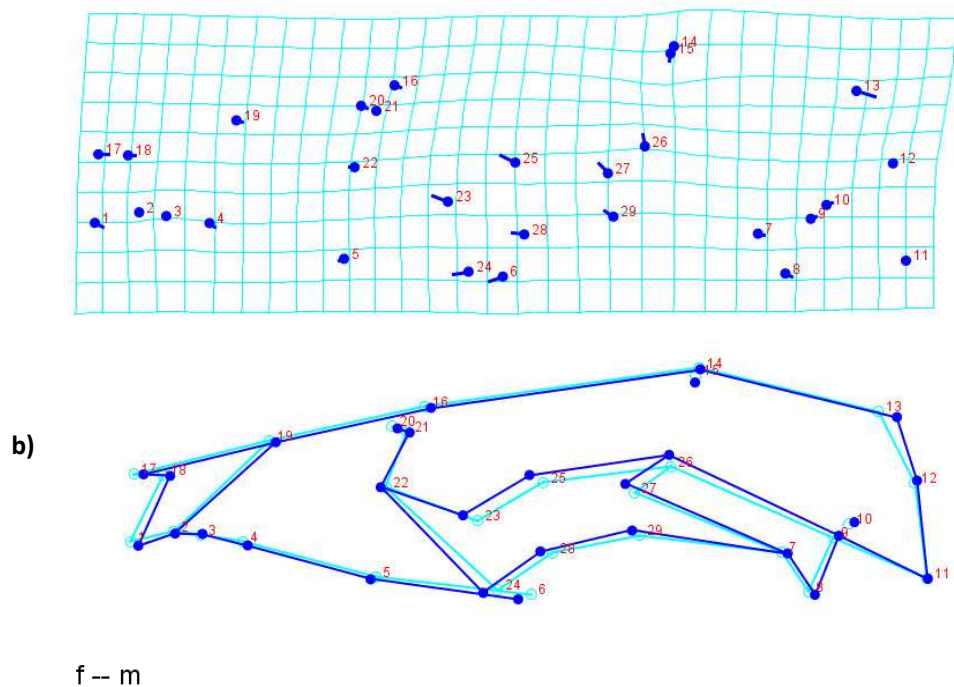


Figura 3.25 - (a) Grade de deformação com vetores de deslocamento dos marcos anatômicos na vista lateral do crânio. Os pontos azuis indicam a forma média das fêmeas e os vetores indicam o deslocamento dos marcos anatômicos até a forma média dos machos. (b) "Wireframe" do crânio de *P. frenatus* em vista lateral, mostrando as diferenças na forma do crânio através da Análise Discriminante, entre a configuração média de fêmeas (azul claro) e machos (azul escuro) da amostra total. Os números em vermelho indicam os marcos anatômicos.

### 3.3 - Variação geográfica na forma do crânio de *Philander frenatus*.

#### 3.3.1 - Variação geográfica nos machos agrupados em Macrolocalidades1.

##### 3.3.1.1 – Análises de componentes principais (PCA).

O resultado da PCA nas três vistas do crânio, utilizando unicamente os machos, não indicou nenhum padrão de estruturação das populações (Figura 3.26). Na vista dorsal os dois primeiros componentes principais explicaram o 36% da variação (PC1 22,82% e PC2 14,1%), na vista ventral, explicaram o 63,91% (PC1 53,85% e PC2 10,06%) e na vista lateral o 61,7% (PC1 46,66% e PC2 15,03%). Em nenhuma das vistas o PC3 explicou mais do 10% da variação da forma, por tanto somente os dois primeiros PCs foram analisados.

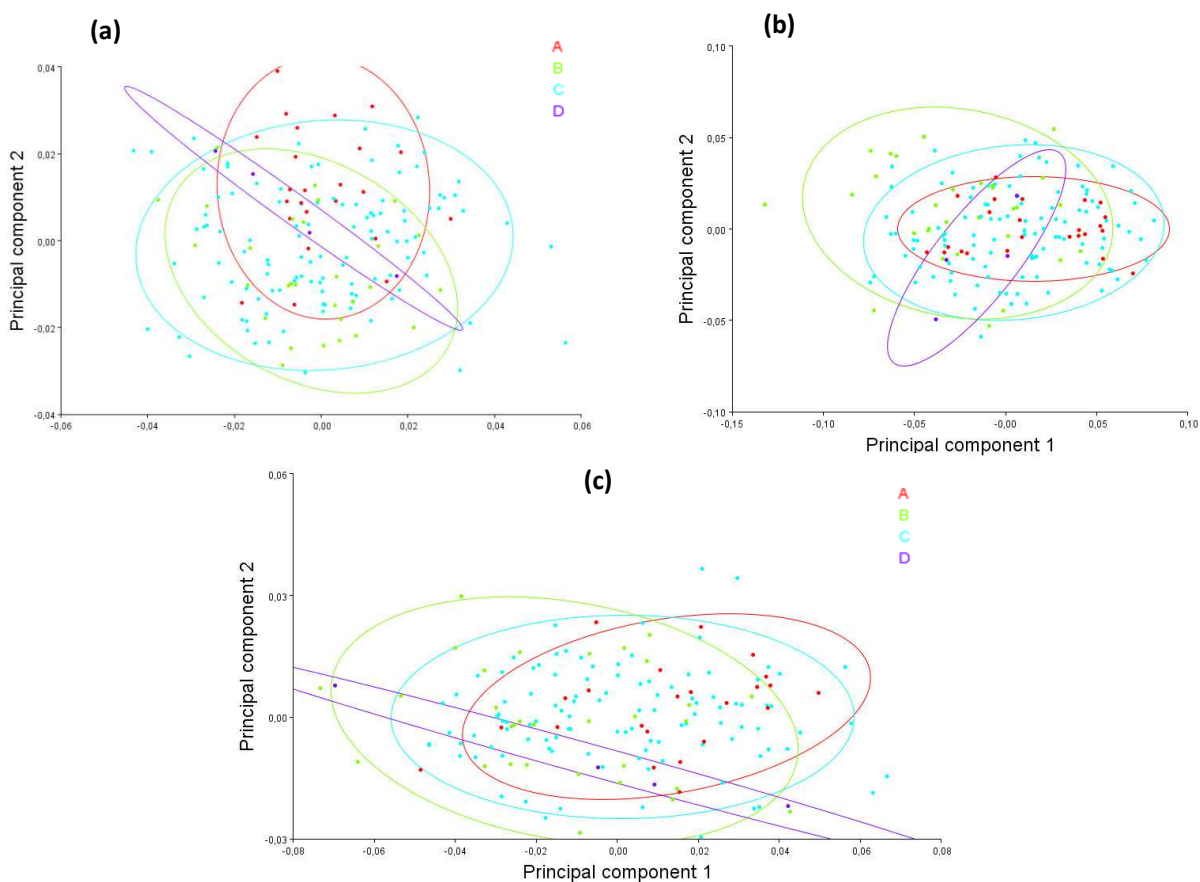


Figura 3.26 - Gráfico dos escores, para os dois primeiros PC das vistas (a)dorsal, (b)lateral e (c)ventral do crânio dos machos de *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos agrupados em Macrolocalidades1: Pontos vermelhos A:corredor Central da MA; Pontos verdes B: corredor cerrado-zona da mata; Pontos azuis C: corredor da Serra do mar; Pontos roxos D: corredor interior da MA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico.

### 3.3.1.2 - Análises de Variáveis Canônicas (CVA)

Os gráficos da CVA indicam as mudanças da forma associada a cada variável canônica (CV). O fator de escala das mudanças da forma dos gráficos das VCs são unidades de Mahalanobis (a mudança da forma por unidade de variação da forma dentro dos grupos), que são as mesmas unidades indicadas nos eixos das CVs (Klingenberg, 2011). O fator de escala utilizado em cada gráfico (“wireframe”) representando as mudanças da forma em cada eixo nos valores positivos e negativos da variação, foi definido de acordo com a amplitude máxima da variação do eixo canônico, e é indicado em cada figura.

Na vista dorsal, os dois primeiros eixos canônicos (CV1 e CV2) explicaram o 78,64% (46,47% e 32,17% respectivamente) da variação na forma entre blocos geográficos. Já o eixo CV3 representou o 21,3% da variação na forma. A projeção dos escores individuais revelou uma sobreposição dos blocos no CV1. A CV2 separou o bloco D dos blocos A e C, enquanto a CV3 separou o bloco D dos blocos A e B (Figura 3.27 a). O bloco D apresentou as maiores distâncias de Procrustes e de Mahalanobis, quando comparados os pares de grupos (Tabelas 18 e 19).

As principais deformações associadas aos valores positivos do CV2 e negativos do CV3 estão representadas na figura 3.27 **(b)**. Os valores positivos do CV2 indicam uma expansão da caixa craniana na região posterior do arco zigomático e na região mais posterior do crânio, uma expansão dos frontais na região da máxima constrição postorbital, e um encurtamento do premaxilar. Os valores negativos do CV3 indicam uma diminuição do processo postorbital, ficando mais acentuado, um deslocamento relativo posterior da sutura entre parietais e frontais, uma constrição na parte posterior da caixa craniana ao nível do processo mastóideo do petrosal, e um leve alongamento do rosto, com pré maxilares mais cumpridos. As distâncias de Procrustes e de Mahalanobis entre os pares de blocos geográficos avaliados indicaram o bloco D como o mais distante da forma média dos outros 3 blocos. Os valores mais altos das distância de Procrustes foram encontrados entre os blocos D – B e D - C, enquanto os menores valores foram entre C – D (Tabela 18). As distâncias de Mahalanobis indicaram resultados similares aos indicados pelas distâncias de Procrustes (Tabela 19).

Tabela 17 - Distancias de Procrustes entre os blocos populacionais Macropopulações1. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.

	A	B	C
B	0.0217		
C	0.0155	0.0117	
D	0.0285	0.0321	0.0299

Tabela 18 - Distancias de Mahalanobis entre os. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.

	A	B	C
B	2.9800		
C	2.3945	1.8243	
D	4.8196	4.9835	4.9947

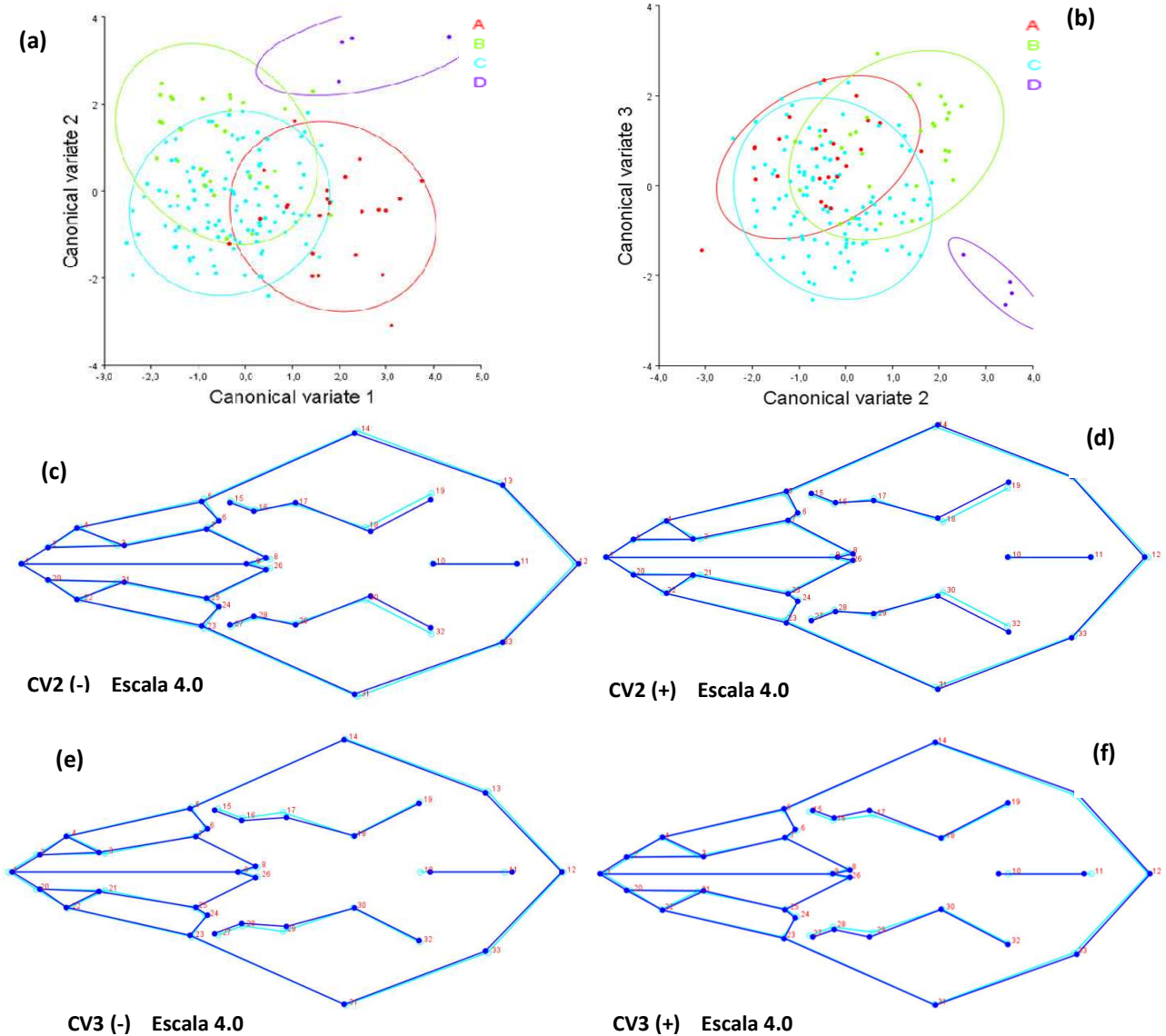


Figura 3.27 - Gráfico com os escores das variáveis canônicas (a) CV1 e CV2, e (b) CV2 e CV3, mostrando a variação entre os machos de *P. frenatus* na vista dorsal do crânio. As letras indicam o bloco geográfico: A: Corredor central da Mata Atlântica. B: corredor cerrado-zona da mata. C: corredor da serra do mar. D: interior da Mata Atlântica SP Paraná. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista lateral (azul claro) sobreposta a forma (azul escuro) explicada pelos valores (c) negativos da CV1, (d) positivos da CV1, (e) negativos da CV3, (f) positivos da CV3. (CV1 escala 8.0; CV3 escala 4.0)

A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista dorsal foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio (Figura 3.28). A grade de deformação com vetores de deslocamento, indicou que as principais mudanças da forma no bloco D são devidas a uma compressão antero-posterior dos pre-maxilares indicando um rosto mais curto, uma leve expansão lateral na região média do arco zigomático, uma expansão posterior do frontal e parietais, com uma leve compressão antero-posterior do interparietal.

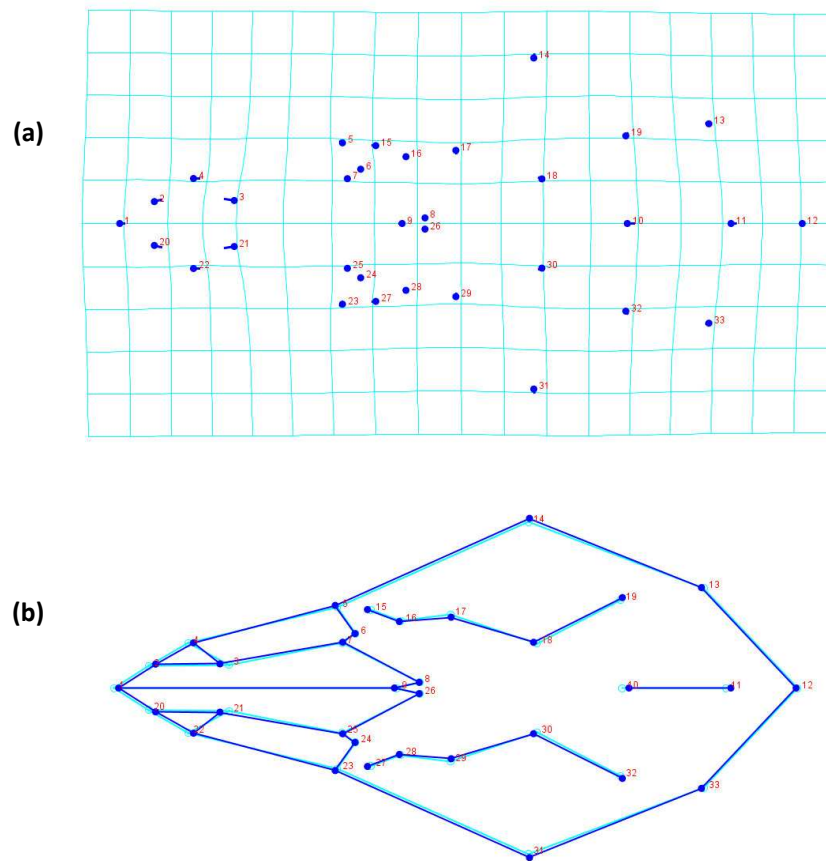


Figura 3.28 - Gráfico representando as mudanças da forma média do crânio na vista dorsal, para atingir a forma média do crânio do bloco D. **a)** Grade de deformação indicando as mudanças da forma média da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). **b)** “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio dos machos na vista dorsal (azul claro), sobreposta a forma média do crânio do bloco D (azul escuro). Escala 1.0.

Na vista ventral do crânio, os dois primeiros eixos de variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram o 82,56% (52,82% e 29,7% respectivamente) da variação entre blocos geográficos. Observou-se uma sobreposição marcada dos quatro blocos no CV1 e no CV2, e menos marcada no CV3, que afastou o bloco D dos demais blocos, colocando este totalmente nos valores negativos do eixo (Figura 3.29), mas não foi discriminado totalmente ao longo do eixo. As distâncias de Procrustes entre pares de blocos indicaram os maiores valores entre os blocos A - B, e os menores entre os blocos A - C (Tabela 20). As distâncias de Mahalanobis foram maiores entre os blocos D - C, e menores entre os blocos D - B (Tabela 21). A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista ventral foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio (Figura 36). A grade de deformação com vetores indicou que as principais mudanças da forma no bloco D são devidas a uma expansão lateral da região posterior do arco zigomático.

Tabela 19 - Distâncias de Procrustes entre blocos geográficos (Macropopulações1). Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.

	A	B	C
B	0,0238		
C	0,0114	0,0150	
D	0,0210	0,0174	0,0166

Tabela 20- Distâncias de Mahalanobis entre os blocos geográficos (Macrolocalidades1). Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.

	A	B	C
B	2.7353		
C	2.4969	1.9319	
D	4.3455	4.7291	5.0316

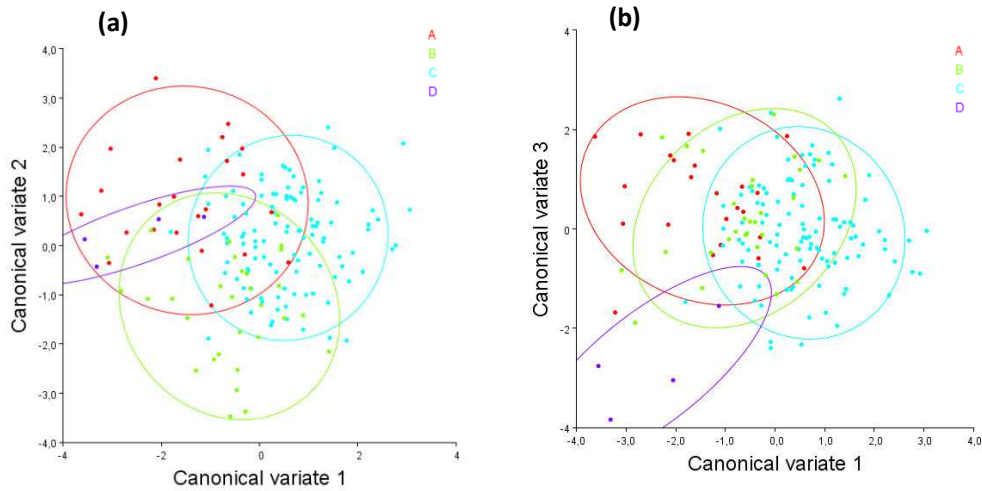


Figura 3.29 - Gráfico com os escores das variáveis canônicas CV1 e CV2 **(a)** e CV1 e CV3 **(b)**, mostrando a variação entre os machos de *P. frenatus* na vista ventral do crânio. As letras e as cores indicam o bloco geográfico: A: Corredor central da Mata Atlântica. B: corredor cerrado-zona da mata. C: corredor da serra do mar. D: interior da Mata Atlântica SP Paraná. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico.

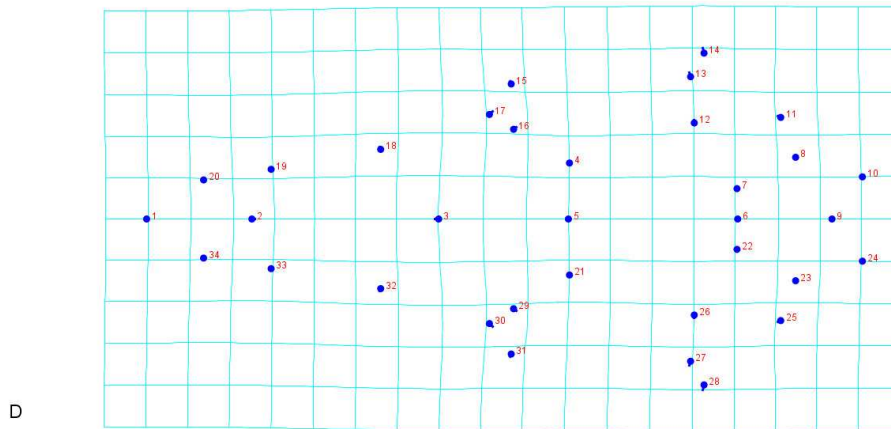


Figura 3.30 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista ventral (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Escala 1.0.

Na vista lateral do crânio, os eixos de variáveis canônicas CV1 e CV2 explicaram o 75,6% da variância (CV1:40,41%; CV2:35,24%), enquanto a CV3 foi responsável pelo 25,3%. O bloco D foi discriminado nos valores positivos do CV1, e parcialmente discriminado nos valores positivos do CV2, separando esse bloco totalmente no espaço dos dois primeiros eixos de variáveis canônicas (Figura 3.31 a). A CV3 indicou uma sobreposição dos blocos geográficos, mas separou o bloco D, localizado nos valores negativos, do bloco A, localizado em sua maioria nos valores positivos (Figura 3.31 b). Os valores positivos do CV1 estão associados a uma caixa craniana mais alta, um arco zigomáicomais altoe expandidoanteriormente, com processo frontal do jugal mais notório. Observa se também um encurtamento do rosto, com região superior do maxilar

expandida anterior e dorsalmente, um pre-maxilar mais alto e estreito, processo postglenoideo maior, e raiz posterior da crista sagital finalizando mais anteriormente no crânio (Figura 3.31 d). Os valores negativos da CV1 são associados a deformações contrárias as explicadas pelos valores positivos do eixo (Figura 3.31 c). Os valores positivos do CV3 estão associados principalmente a um rosto curto e comprimido, expansão da porção superior e posterior da caixa craniana, crista sagital mais desenvolvida, arco zigomático expandido anteriormente, robusto, com inflexão inferior do jugal mais acentuada, sutura jugal-esquamosal deslocada anteriormente ingressando mais no jugal, e base do processo postglenoideo mais larga (Figura 3.31 f). Os valores negativos da CV3 estiveram associados a deformações contrárias as descritas para os valores positivos deste eixo (Figura 3.31 e).

As distancias de procrustes entre pares de blocos geográficos indicaram os valores mais altos entre os blocos D – A, e os mais baixos entre C – A (Tabela 22). As distancias de Mahalanobis indicaram os maiores valores entre os blocos D – B (Tabela 23). A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista lateral foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio (Figura 3.32). As deformações foram acessadas através do gráfico de grades de deformação com vetores de deslocamento e também através da sobreposição do “wireframe” das formas medias. As principais mudanças da forma do crânio no bloco D são devidas a uma compressão anterior do pre-maxilar, acompanhada de uma expansão do maxilar na região antero-superior. O crânio se apresenta mais alto, com crista sagital alta, desenvolvida, com raiz posterior posicionada mais anteriormente. O parietal se expande posteriormente, enquanto o arco zigomático, apresenta-se mais robusto na margem inferior, com a raiz anterior do jugal levemente mais baixa.

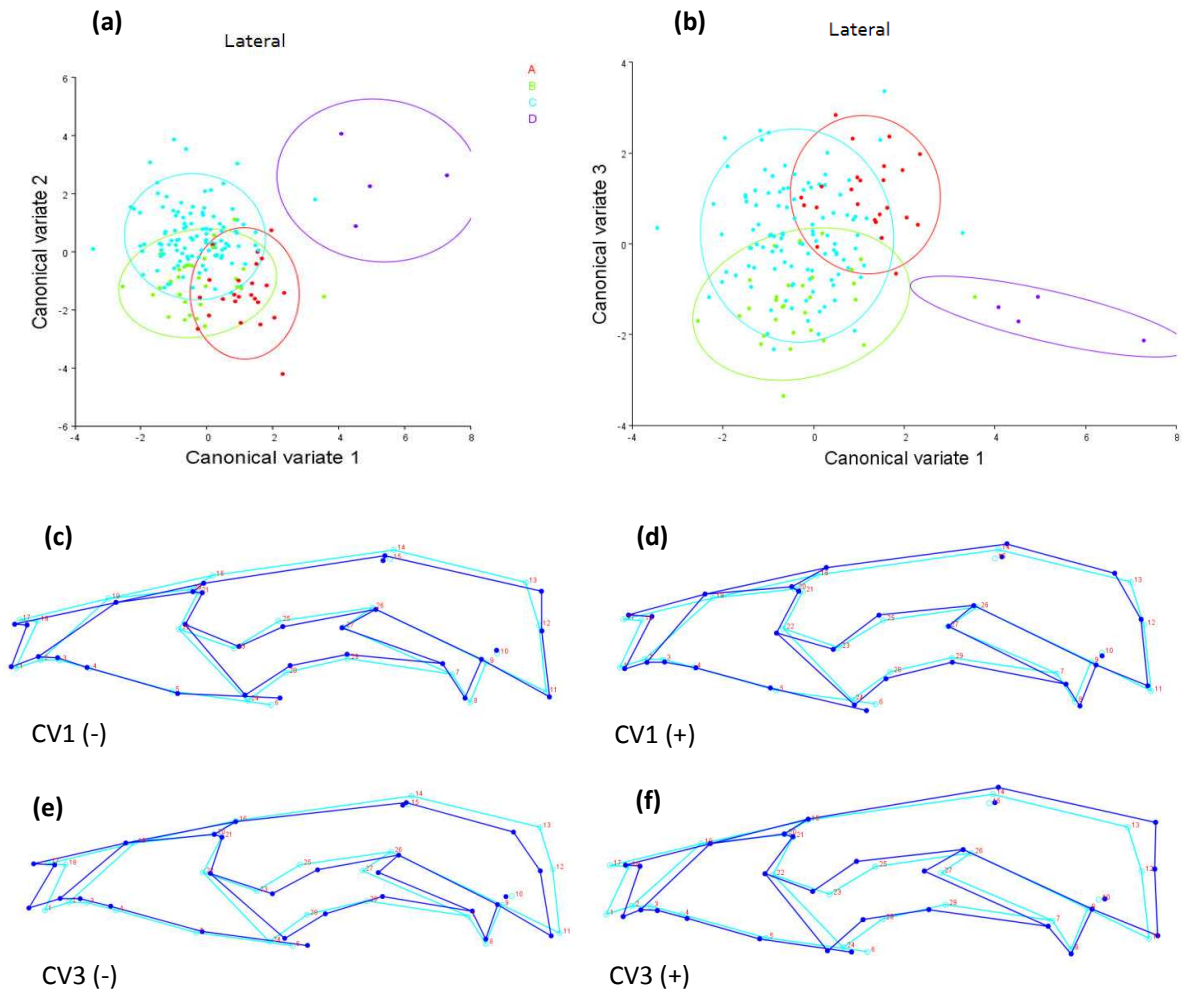


Figura 3.31 - Gráfico com os escores das variáveis canônicas **(a)**CV1 e CV2, e **(b)** CV1 e CV3, mostrando a variação entre os machos de *P. frenatus* na vista lateral do crânio. As letras indicam o bloco geográfico: A: Corredor central da Mata Atlântica. B: corredor cerrado-zona da mata. C: corredor da serra do mar. D: interior da Mata Atlântica SP Paraná. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista lateral (azul claro) sobreposta a forma (azul escuro) explicada pelos valores **(c)**negativos da CV1, **(d)** positivos da CV1, **(e)** negativos da CV3, **(f)** positivos da CV3. (CV1 escala 8.0; CV3 escala 4.0)

Tabela 21 - Distancias de Procrustes entre os blocos geográficos (Macrolocalidades1). Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.

	A	B	C
B	0.0439		
C	0.0157	0.0332	
D	0.0434	0.0396	0.0386

Tabela 22- Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.

	A	B	C
B	2.8178		
C	2.6262	2.1921	
D	6.2321	6.5290	6.1688

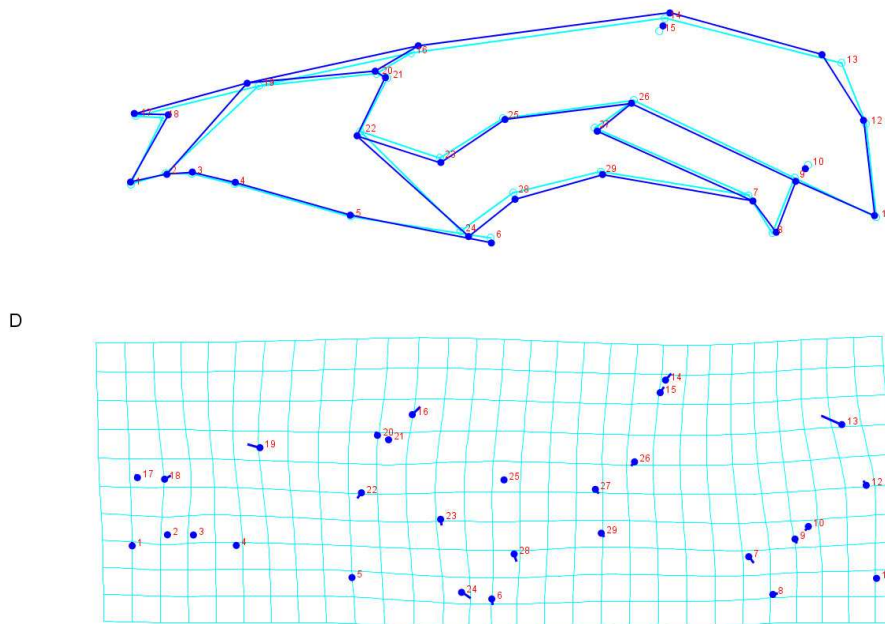


Figura 3.32 - Gráfico representando as mudanças da forma média do crânio na vista lateral, para atingir a forma média do crânio do bloco D. **a)** Grade de deformação indicando as mudanças da forma média da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). **b)** “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio dos machos na vista lateral (azul claro), sobreposta a forma mediado crânio do bloco D (azul escuro). Escala 1.0.

### 3.3.2 - Variação geográfica nos machos agrupados em Macrolocalidades2

#### 3.3.2.1 - Análises de componentes principais (PCA)

A análise de PCA nas vistas dorsal, ventral e lateral do crânio, utilizando unicamente os machos, indicou uma sobreposição dos blocos geográficos quando agrupados em macrolocalidades2, apresentando uma ampla sobreposição nos dois primeiros PCs das três vistas. As porcentagens da variação explicada pelos dois primeiros componentes principais em cada vista são os mesmos valores apresentados na utilizando as macropopulacoes1 como agrupamento de visualização. A distribuição dos escores do crânio dos machos nas vistas dorsal, ventral e lateral, nos dois primeiros componentes principais é apresentada na figura 3.33, com os indivíduos agrupados em Macropopulações2.

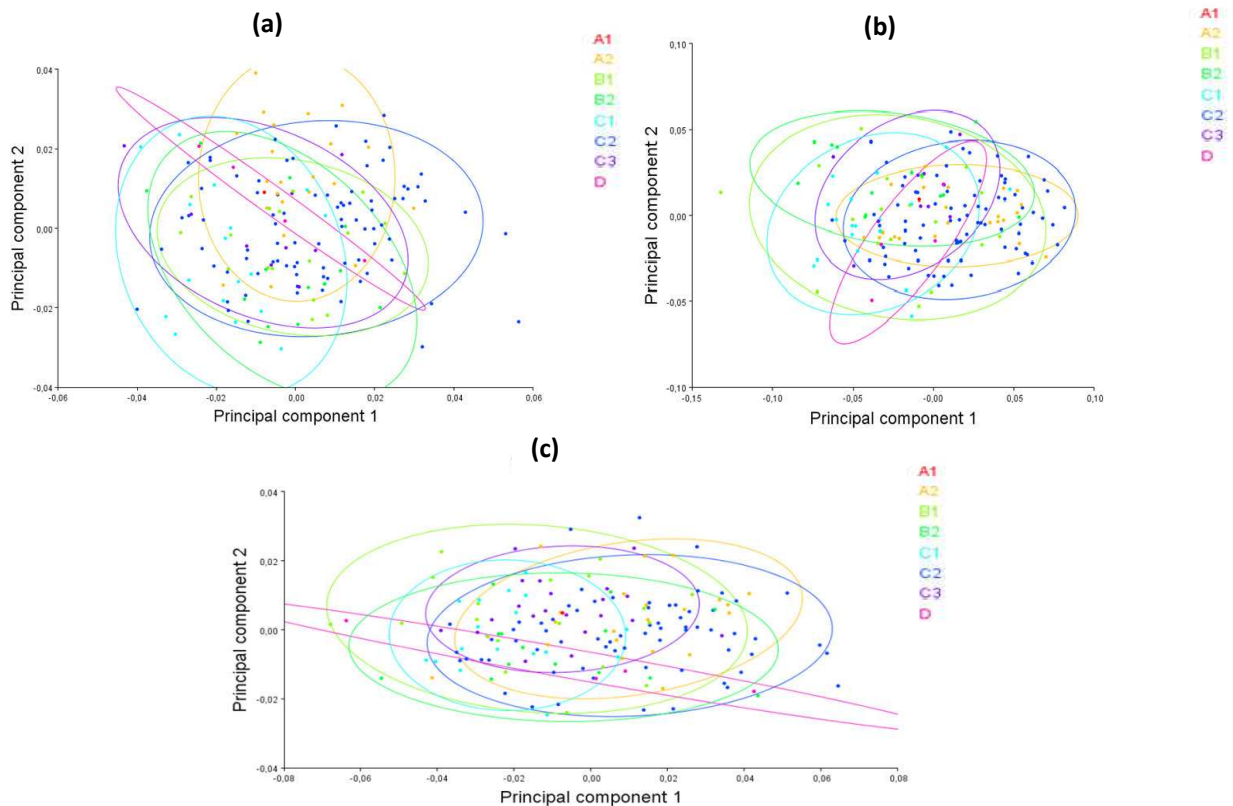


Figura 3.33 - Gráfico dos escores, para os dois primeiros componentes principais das vistas **(a)**dorsal, **(b)**lateral e **(c)**ventral do crânio de *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos (macrolocalidades2): A1: corredor Central da MA da Bahia; A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico.

3.3.2.2 - Análises de Variáveis Canônicas (CVA) dos machos agrupados em macrolocalidades<sup>2</sup>. Na vista dorsal do crânio, a CVA foi realizada excluindo o bloco A1: Corredor central da MA Bahia (n=1). Os três primeiros eixos de variáveis canônicas (CV1, CV2 e CV3) evidenciaram algum tipo de separação entre blocos, e juntos explicaram o 75.1% da variação acumulada (29.6%, 28.3% e 17.56% respectivamente).

A projeção dos escores individuais apresentou uma grande sobreposição entre blocos geográficos, com exceção do bloco D, que foi discriminado nos valores negativos da CV1, separado no espaço da CV1 dos blocos A2 B1 e C3. Em relação a CV2, o bloco D ficou localizado nos valores negativos do eixo, mas parcialmente sobreposto aos demais blocos que apresentaram uma distribuição ampla nos valores positivos e negativos da CV2 (Figura 3.34a). Ao longo do CV3 a única separação entre grupos foi entre o bloco D nos valores positivos e o bloco C3 em valores mais negativos do eixo (Figura 3.34 b).

As distâncias de Procrustes indicaram os maiores valores entre os blocos D-B1 e D-C2, enquanto as menores distâncias foram entre os blocos B2-B1 e C2- B1 (Tabela 24). As distâncias de Mahalanobis indicaram os maiores valores entre os blocos D – C3 e D – B1, enquanto os menores valores foram entre os blocos C2 – B1 (Tabela 25). A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista dorsal foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio associadas com esse bloco. A grade de deformação com vetores indicou que as principais mudanças são devidas a uma contração anteroposterior do pré-maxilar, com um rosto mais curto, e uma leve expansão lateral do arco zigomático na raiz anterior do jugal e na porção média, e uma expansão posterior do frontal (Figura 3.35).

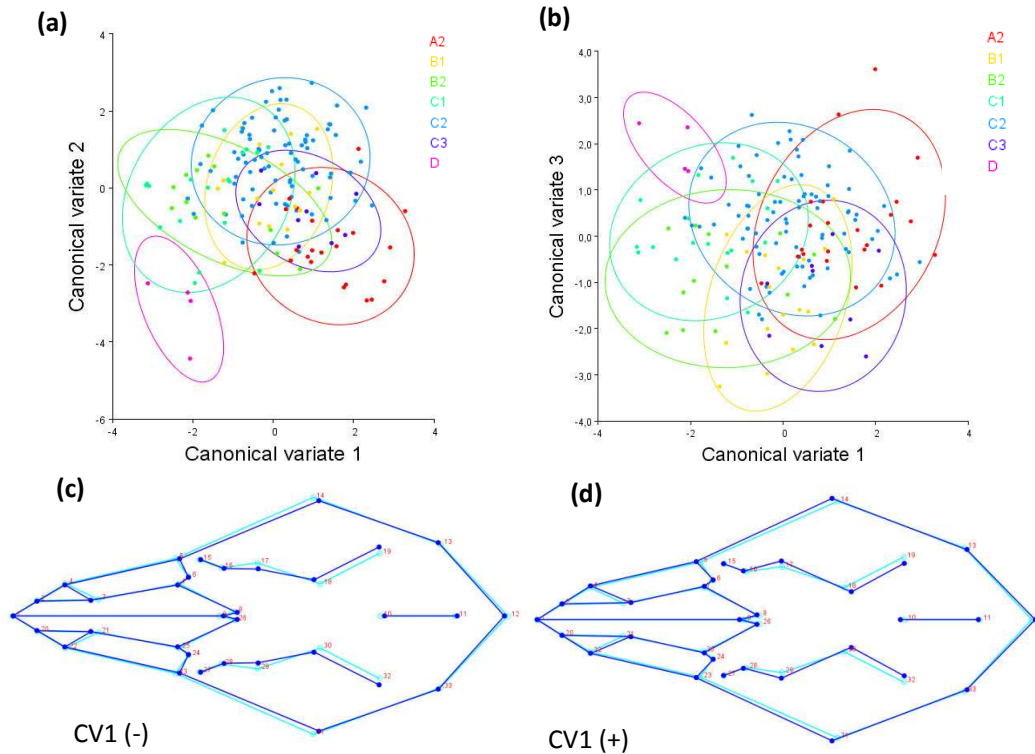


Figura 3.34 - **(a)** Gráfico dos escores, para as Variáveis Canônicas CV1 e CV2 da vista dorsal do crânio de machos de *P. frenatus*. **(b)** Gráfico dos escores, para CV1 e CV3 da vista dorsal do crânio. Variação entre blocos geográficos: A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%. **(c)** “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista dorsal (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores negativos da CV1. **(d)** “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista dorsal (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores positivos da CV1. Escala 4.0.

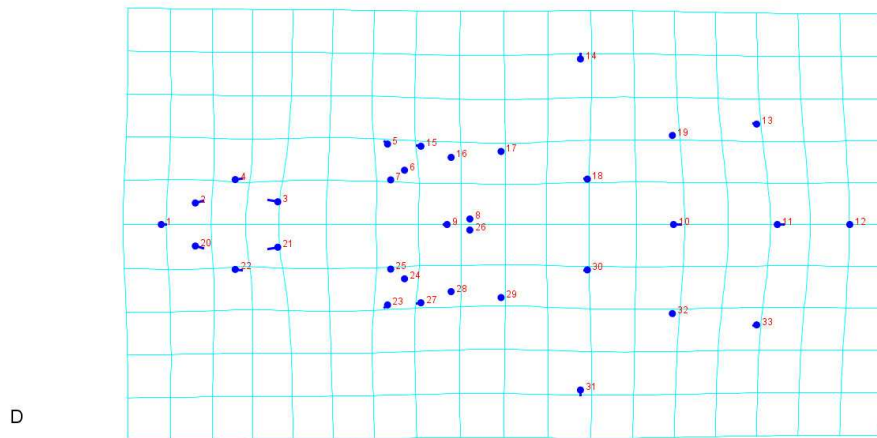


Figura 3.35 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista dorsal (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades2. Escala 1.0.

Na vista ventral do crânio, a análise de variáveis canônicas, discriminou a população A1: Corredor central da MA Bahia (n=1) nos valores positivos da CV1 e da CV2, longe das outras populações. Devido a que somente foi analisado um indivíduo desta população, foi retirado desta análise. Uma nova análise de variáveis canônicas foi realizada utilizando os sete blocos restantes (Figura3.36). Os dois primeiros eixos de variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram o 59.3% da variância (37.08% e 22.23% respectivamente). Nenhum dos blocos geográficos foi discriminado totalmente dos outros nos eixos canônicos. A pesar desta ampla sobreposição, a CV2 localizou o bloco D nos valores negativos e o bloco C1 nos positivos, ficando separados ao longo do eixo. De forma similar, o bloco D foi separado do bloco B2 ao longo do quinto eixo (CV5), responsável por 8.9% da variância.

As deformações explicadas pelos valores negativos da CV1 na vista ventral do crânio dos machos são associadas a um rosto mais curto na região do pré-maxilar e o palato, e mais largo na região da série molar, apresentando o maxilar menor. A distância entre o palato e o basi-occipital aumenta, a região media da caixa craniana fica mais estreita e a região posterior mais ampla, enquanto o basi-occipital e os côndilos occipitais posicionam-se mais posteriormente no crânio (Figura 3.36 c). As principais mudanças da forma explicadas pelos valores positivos da CV1 são associadas a um rosto estreito e cumprido na região do pré-maxilar e o palato, um maxilar mais cumprido e posicionado posterior mente. O espaço entre o palato e o basi-occipital diminui,

sendo este último mais amplo. A região media da caixa craniana fica mais ampla enquanto a porção posterior do crânio mais estreita, com os côndilos occipitais mais curtos (Figura 3.36d). Os valores negativos da CV2 são associados principalmente a um rosto estreito, com serie molar mais cumprida e serie pré-molar maior, palato largo, raiz posterior do arco zigomático estreita e posicionada anteriormente, basi-occipital expandido anteriormente, e côndilos occipitais levemente mais espaçados um do outro (Figura 3.36 e). As deformações explicadas pelos valores positivos da CV2 são associadas principalmente a um encurtamento do pré-maxilar, expansão lateral do rosto com serie pré-molar menor e serie molar posicionada anteriormente, palato mais curto, raiz posterior do arco zigomático mais larga e posicionada posteriormente. A região media da caixa craniana fica mais estreita, o basi-occipital sofre uma contração, eo espaço entre côndilos occipitais diminui (Figura 3.36 f). As deformações explicadas pelos valores positivos da CV5 foram similares as associadas pelos valores positivos da CV2 (Figura 3.36 f). Resultados similares foram visualizados nos valores negativos da CV5, com mudanças da forma associadas as explicadas pelos valores negativos da CV2 (Figura 3.36 e).

As distancias de procrustes entre pares de blocos geográficos na vista ventral do crânio indicaram os maiores valores entre os blocos D – B1 e D – C2, e os menores entre os blocos B1 – B2 e B1 – C2 (Tabela 26). As distancias de Mahalanobis entre pares de blocos geográficos indicou o bloco D como o mais distante, apresentando os valores mais altos, com os maiores valores entre os blocos D – B1 e D – C2. As menores distancias de Mahalanobis foram entre os blocos C2 – B1 e C3 – B1 (Tabela 27)

A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista ventral foi comparada à configuração média de marcos anatômicos da amostra para avaliar as principais deformações do crânio associadas a esse bloco (Figura 3.37). As diferenças da forma são representadas na grade de deformação com vetores de deslocamento dos marcos anatômicos. As principais diferenças entre a configuração media do bloco D e a configuração de referência na vista ventral, são caracterizadas por uma compressão anteroposterior do maxilar, evidenciando um rosto levemente mais curto. O arco zigomático se expande lateralmente tanto na região anterior como na região posterior (na sutura jugal-esquamosal).

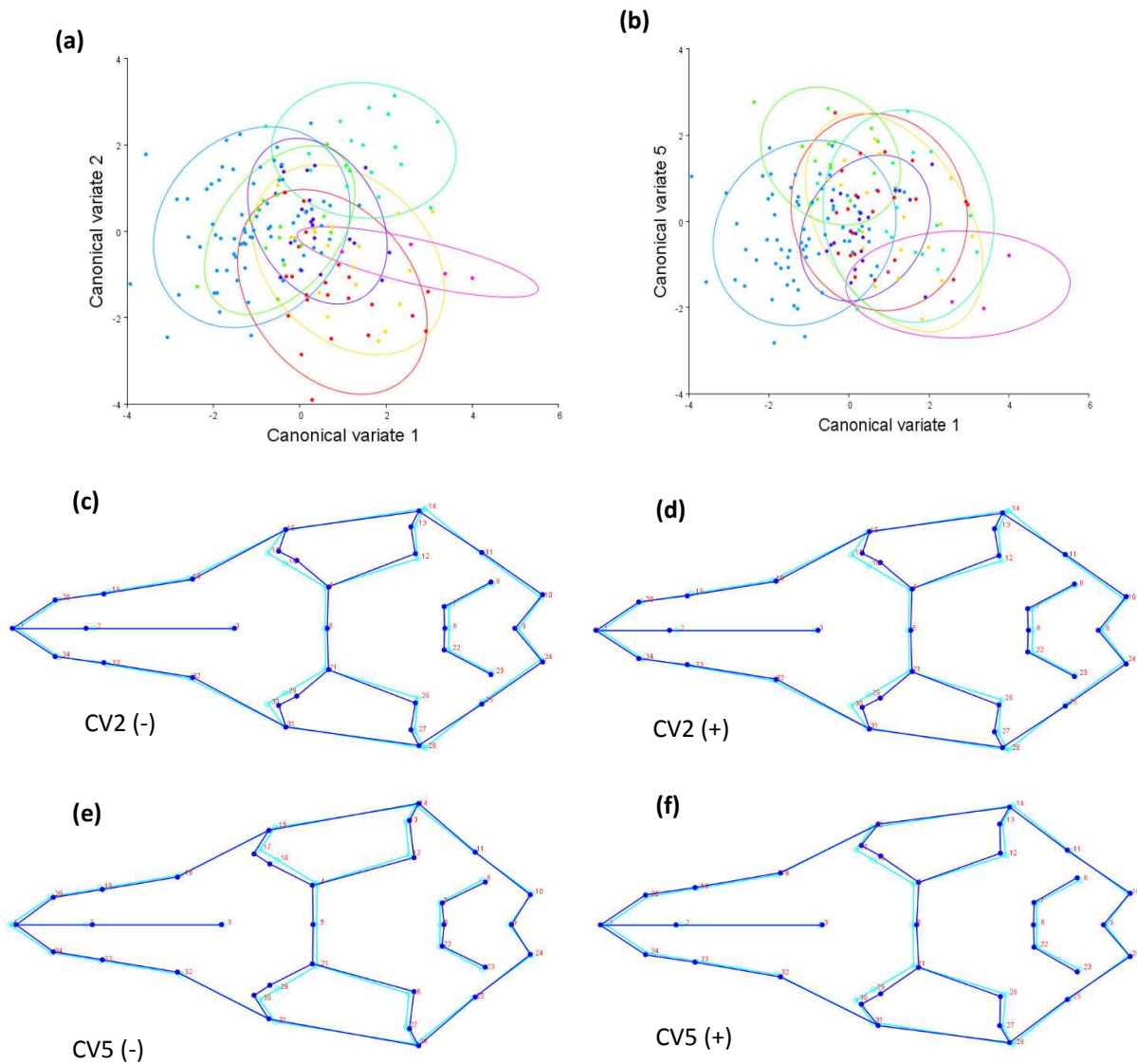


Figura 3.36 - **(a)** Gráfico dos escores da Análise de Variáveis Canônicas (CV1 e CV2) da vista ventral do crânio de machos de *P. frenatus*. **(b)** Gráfico dos escores, para as Variáveis Canônicas (CV1 e CV5) da vista ventral do crânio de machos de *P. frenatus*. Variação entre blocos geográficos: A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista ventral do crânio dos machos (azul claro), sobreposta as deformações explicadas pelos eixos de variáveis canônicas (azul escuro) nos valores negativos **(c)** e positivos **(d)** da CV1, e aos valores negativos **(e)** e positivos **(f)** da CV5. Escala 4.0.

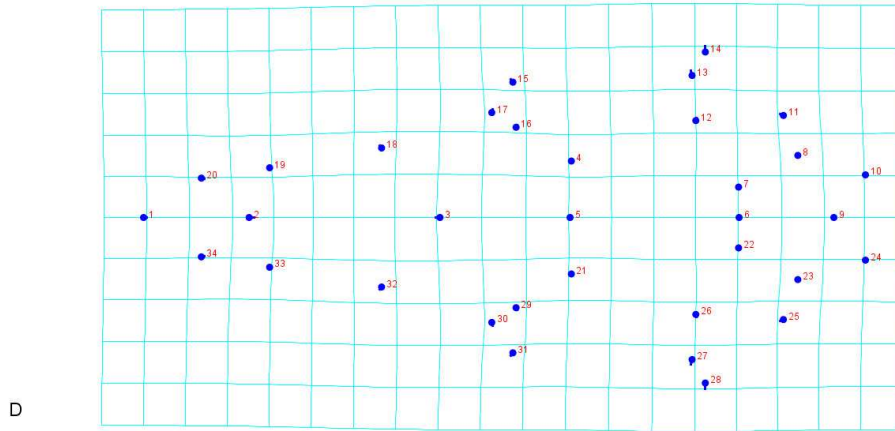


Figura 3.37 - Grade de deformação evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista ventral (pontos azuis), para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). Analises por Macrolocalidades2. Escala 1.0.

Na vista lateral do crânio dos machos, foram feitas as análises de variáveis canônicas entre os blocos geográficos excluindo o bloco A1 (n=1). Os dois primeiros eixos de variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram o 51.39% da variância (31.29% e 20.09% respectivamente). A projeção dos escores individuais do crânio dos machos na vista lateral, não separou completamente nenhum dos blocos, mas evidenciou uma separação entre alguns dos blocos geográficos. O primeiro eixo de variáveis canônicas (CV1) indicou uma separação entre o bloco A2 (nos valores positivos) e os blocos D e C1 (nos valores negativos). O segundo eixo de variáveis canônicas (CV2) evidenciou uma separação do bloco D nos valores mais positivos, discriminado completamente de todos os blocos exceto dos blocos C1 e C2 com os que se sobrepõe parcialmente (Figura 3.38a). Nenhum dos outros eixos de variáveis canônicas indicou separação entre os blocos geográficos.

As distâncias de Procrustes entre pares de blocos geográficos na vista lateral do crânio dos machos indicaram os maiores valores entre os blocos C2 - C1 e C1 - A2 (Tabela 28). As distâncias de Mahalanobis entre pares de blocos geográfico indicaram o bloco D com os valores mais altos das comparações. Os pares de blocos com os maiores valores foram entre D - B2 e D - C3, enquanto as menores distâncias foram entre os blocos C2 - A2 e C2 - B1 (Tabela 29).

As principais deformações do crânio na vista lateral, associadas aos valores positivos da CV1, são um rosto mais curto, devido à contração anteroposterior maxilar. O arco zigomático sofre uma expansão, fica mais alto e largo, com a inflexão inferior do jugal e o processo frontal do jugal deslocando-se anteriormente, apresentando curvaturas mais proeminentes. O processo post-glenoideo se expande posteriormente assim como o côndilo occipital e caixa craniana na região posterior. A crista sagital apresentasse mais alta e desenvolvida, finalizando mais posteriormente (Figura 3.38c). Os valores negativos da CV1 indicam deformações opostas as ocorridas nos valores positivos do eixo. São associadas a um rosto cumprido e estreito, com

maxilar expandido, anteriormente alongando o rosto, e posteriormente deslocando o Arco zigomático. O arco zigomático apresentasse mais esbelto e fino, com a inflexão inferior e o processo frontal do jugal posicionadas posteriormente e com curvaturas menos proeminentes. O processo post-glenoideo se contrai na margem posterior, enquanto o côndilo occipital posicionasse mais anteriormente. A região posterior da caixa craniana se contrai, e a crista sagital apresentasse menos desenvolvida (Figura 3.38b). Os valores negativos da CV2 foram associados a um rosto cumprido e achatado com maxilar expandido e pré-maxilar deslocado anteriormente, serie molar mais cumprida. Arco zigomático esbelto, com inflexão inferior e processo frontal do jugal deslocadas posteriormente. Processo post-glenoideo estreito, côndilo occipital posicionado anteriormente, crista sagital baixa e pouco desenvolvida, e parte posterior da caixa craniana comprimida (Figura 3.38 d). Já os valores positivos deste eixo (CV2) foram associados a deformações opostas, apresentando um rosto mais curto e alto, serie molar menor, arco zigomático robusto, com curvatura da inflexão inferior e processo frontal do jugal proeminentes e posicionados anteriormente. Processo post-glenoideo expandido, côndilo occipital menor, deslocando-se posteriormente, região posterior da caixa craniana expandida, e crista sagital alta e desenvolvida (Figura 3.38 e).

A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista lateral foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio associadas a esse bloco. As principais mudanças da forma foram devidas a deformações em várias regiões do crânio. Tanto o rosto como a caixa craniana se expandem, indicando crânio mais alto, na região anterior, média e posterior. O maxilar se expande anteriormente, e o pré-maxilar se contrai nas regiões anterior e posterior. A raiz anterior do arco zigomático se expande anteriormente no maxilar, e ventralmente até o encontro com o processo postglenoideo, que se expande na margem posterior. A crista sagital apresentasse alta, e menos cumprida (Figura 3.39).

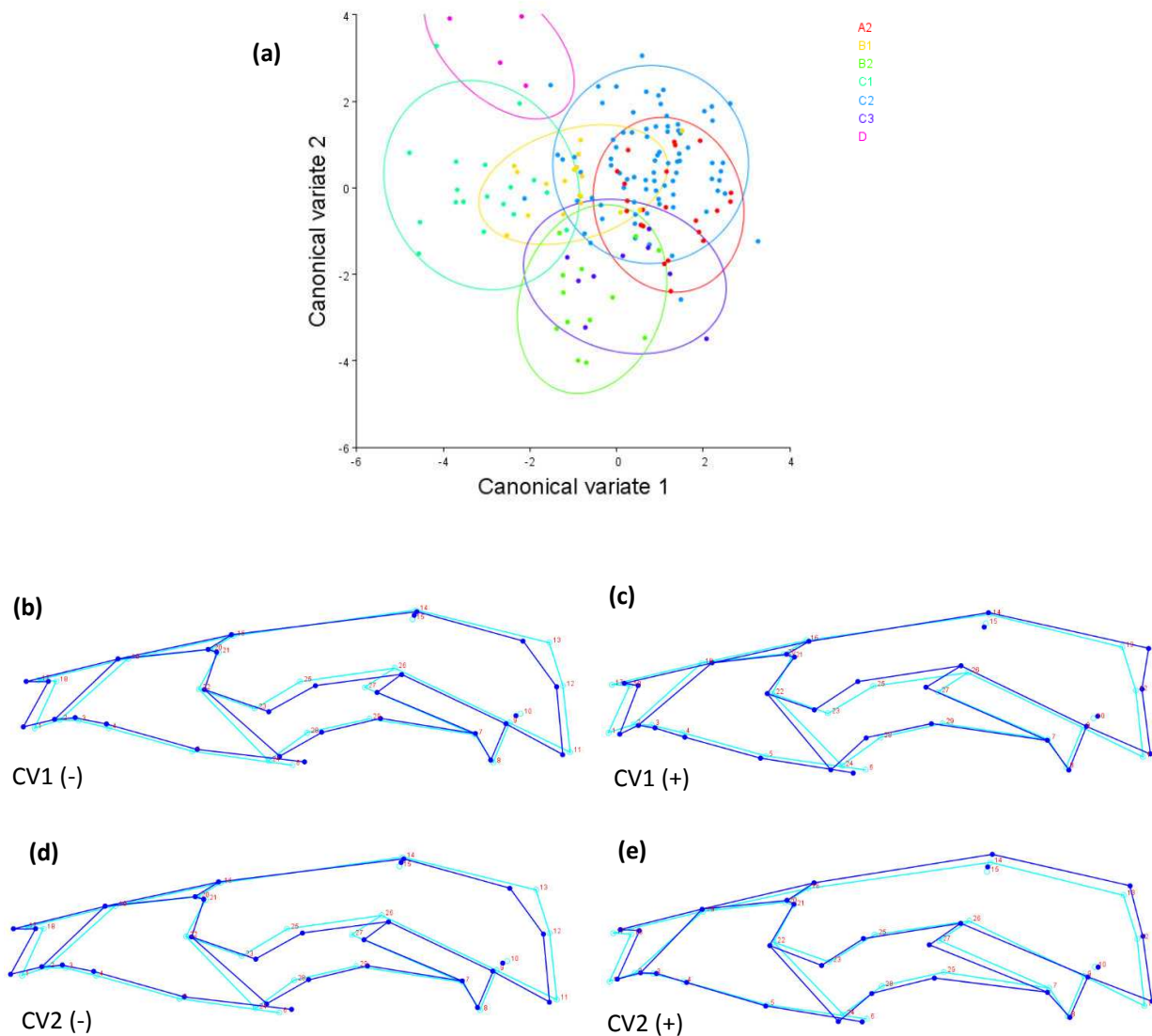


Figura 3.38 - (a) Gráfico dos escores, para as duas primeiras Variáveis Canônicas (CV1 e CV2) da vista lateral do crânio de machos de *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos: A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista lateral do crânio dos machos (azul claro), sobreposta às deformações explicadas pelos eixos de variáveis canônicas (azul escuro) nos valores negativos (b) e positivos (c) da CV1, e aos valores negativos (d) e positivos (e) da CV2. Escala 4.0.

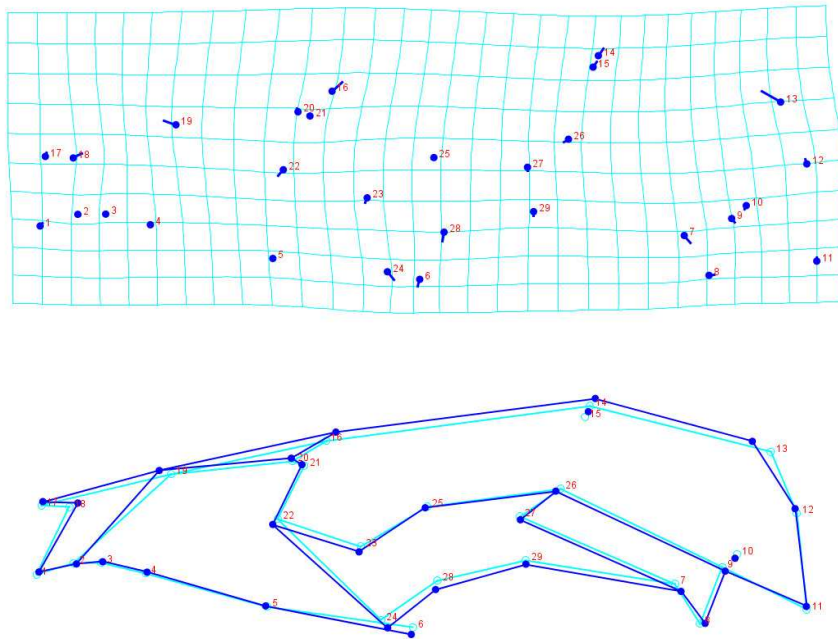


Figura 3.39 - Grade de deformação (acima) e “wireframe” (embaixo) evidenciando as mudanças da forma média do crânio dos machos na vista lateral (pontos azuis), para atingir a forma média do bloco D (vetores). Análises por Macrolocalidades2. Escala 1.0.

Tabela 23 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos das Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista dorsal do crânios dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	0,0213					
B2	0,0252	0,0135				
C1	0,0288	0,0238	0,0197			
C2	0,0165	0,0136	0,0166	0,0254		
C3	0,0168	0,0162	0,0185	0,0184	0,0166	
D	0,0295	0,0330	<b>0,0315</b>	0,0294	<b>0,0320</b>	<b>0,0311</b>

Tabela 24- Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos. Resultados do CVA na vista dorsal do crânio dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	3,0239					
B2	3,4031	2,5583				
C1	3,4782	2,8671	2,5970			
C2	2,5967	2,1573	2,5861	2,4641		
C3	2,4841	2,3967	3,0743	3,2706	2,5926	
D	5,0829	<b>5,2896</b>	4,8861	4,7503	<b>5,2177</b>	<b>5,7412</b>

Tabela 25 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos em Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	0,0249					
B2	0,0207	0,0127				
C1	<b>0,0332</b>	0,0136	0,0174			
C2	0,0089	0,0257	0,0186	<b>0,0326</b>		
C3	0,0186	0,0107	0,0137	0,0180	0,0200	
D	0,0207	0,0202	0,0146	0,0250	0,0201	0,0210

Tabela 26 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos das Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista ventral do crânio dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	2,8196					
B2	3,1859	3,0579				
C1	3,9138	3,4439	3,8231			
C2	2,8275	2,9481	2,2287	3,6930		
C3	2,9961	3,1200	3,3237	3,3933	2,7981	
D	4,7224	4,6542	<b>5,7730</b>	4,9125	<b>5,6688</b>	<b>5,8453</b>

Tabela 27 - Distancias de Procrustes entre os blocos geográficos, Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	0,0387					
B2	0,0477	0,0260				
C1	0,0555	0,0238	0,0325			
C2	0,0127	0,0395	<b>0,0490</b>	<b>0,0561</b>		
C3	0,0366	0,0226	0,0196	0,0317	0,0391	
D	0,0431	0,0317	<b>0,0502</b>	0,0387	0,0460	0,0429

Tabela 28 - Distancias de Mahalanobis entre blocos geográficos, Macrolocalidades2. Resultados do CVA na vista lateral do crânio dos machos.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	3,2418					
B2	3,9441	3,6488				
C1	5,0360	3,3489	4,2599			
C2	2,8450	2,8777	3,6937	4,0531		
C3	4,0535	4,4386	3,7180	4,9314	3,8212	
D	<b>6,6913</b>	6,2006	<b>7,5897</b>	6,2644	6,5999	<b>7,3530</b>

### 3.3.3 - Variação geográfica nas fêmeas agrupadas em Macrolocalidades1.

#### 3.3.3.1 – Análises de componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) nas três vistas do crânio, utilizando unicamente as fêmeas na análise, indicou uma sobreposição dos quatro blocos geográficos ao longo dos dois primeiros PCs. Na vista dorsal os dois primeiros PCs explicaram o 34,5% da variância (PC1 20,75% e PC2 13,84%), na vista ventral explicaram o 57,6% (PC1 43,19% e PC2 14,4%) e na vista lateral o 56,35% da variância (PC1 35,9% e PC2 20,45%). As projeções dos escores individuais dos blocos geográficos nos eixos PC1 e PC2 das três vistas estão representadas na figura 3.40.

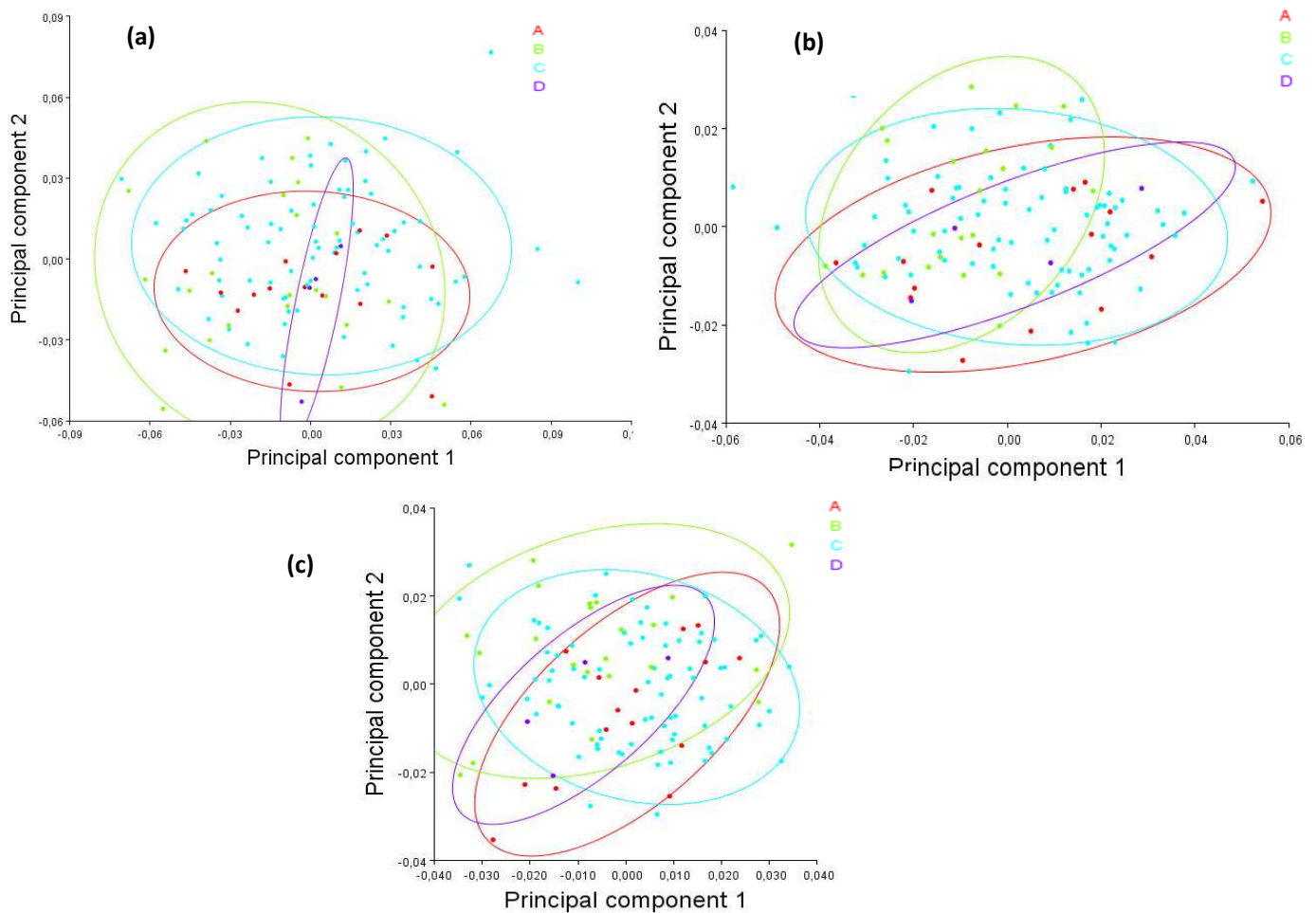


Figura 3.40. Gráfico dos escores, para os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) da vista **(a)** dorsal, **(b)** ventral e **(c)** lateral do crânio de fêmeas *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos: A= corredor Central da MA (vermelho); B= corredor cerrado-zona da mata (verde); C: corredor da Serra do mar (azul); D: corredor interior da MA (roxo).

### 3.3.3.2 - Análise de Variáveis canônicas (CVA).

Na vista lateral do crânio, as primeiras variáveis canônicas (CV1 e CV2) explicaram 74,13% da variação (39,4% e 34,66% respectivamente) da forma entre os blocos geográficos. Na CV1 os blocos ficaram sobrepostos, enquanto na CV2 observou-se uma sobreposição parcial. O bloco A, discriminado nos valores positivos do CV2, foi separado dos blocos D e B, discriminados nos valores negativos. O bloco C apresentou uma pequena sobreposição com os blocos B e A, mas foi separado do bloco D que ficou localizado no quadrante dos valores negativos do CV1 e do CV2 (Figura 3.41 a). O terceiro eixo de variáveis canônicas, CV3, que explicou o 25,8% da variância, foi visualizado contra os valores da CV2, discriminando o bloco D nos valores positivos da CV3, deixando os outros três blocos sobrepostos (Figura 3.41 d). As principais mudanças da forma explicadas pelos valores positivos do CV2 são associadas a uma crista sagital mais desenvolvida, com uma expansão posterior da caixa craniana com o côndilo occipital posicionado mais posteriormente, um arco zigomático mais alto e com processo frontal do jugal mais proeminente. O pré-maxilar fica mais estreito e o rosto levemente mais fino. Já os valores negativos do CV2 indicam um estreitamento da caixa craniana, com o côndilo occipital posicionado mais anteriormente, crista sagital menos desenvolvida, o arco zigomático mais baixo, de forma mais fina e com processo frontal do jugal pouco notório. Na região do rosto, o pré-maxilar se expande, e o rosto fica um pouco mais alto (Figura 3.41 b). As principais mudanças da forma explicadas pelos valores positivos do CV3, são associadas a um aumento da altura do arco zigomático, um encurtamento do pré-maxilar, e um crânio em geral, menos alto. Já os valores negativos do CV3 são relacionados a um arco zigomático mais baixo, com uma curvatura mais leve, e um pré-maxilar mais cumprido (Figura 3.41 c). As distâncias de Procrustes entre pares de blocos geográficos foram maiores entre os blocos D – C, enquanto os menores foram entre os blocos A – C (Tabela 30). As distâncias de Mahalanobis indicaram os valores mais altos quando comparado o bloco D contra os outros. Os valores mais altos foram obtidos entre os blocos D – A, enquanto os menores valores foram entre os blocos B – C (Tabela 31).

A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista lateral foi comparada a configuração média da amostra para avaliar as principais deformações do crânio (Figura 3.42). As principais deformações do crânio das fêmeas em vista lateral, associadas a configuração média do bloco D, são um crânio mais achatado dorso-ventralmente, expansão anteroposterior do frontal na margem superior do crânio, diminuindo a entrada dos nasais no frontal. O arco zigomático se contrai levemente na margem inferior do jugal, e se expande na margem superior do esquamosal.

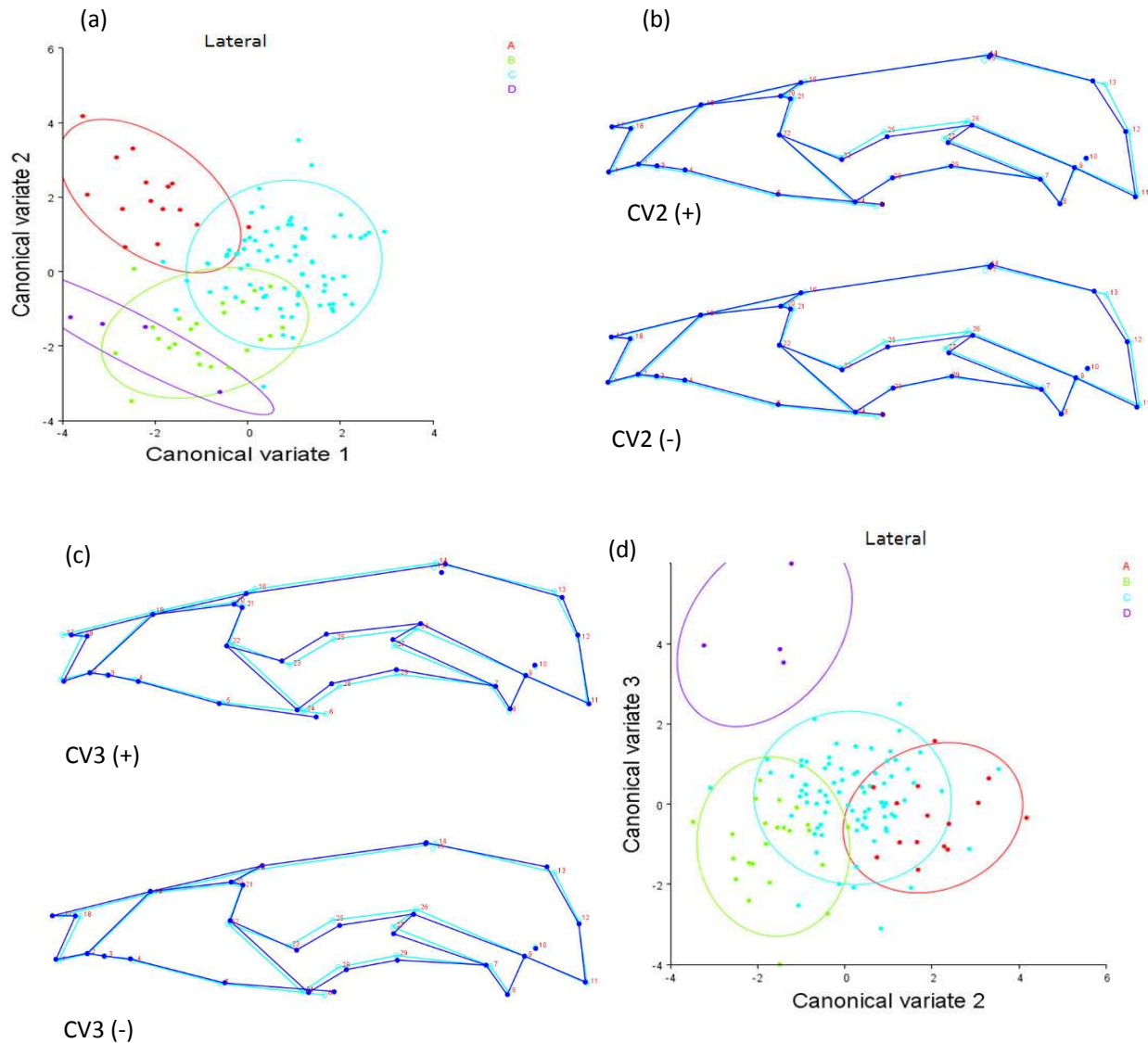


Figura 3.41 - **(a)** Gráfico com os escores das variáveis canônicas CV1 e CV2, mostrando a variação entre as fêmeas de *P. frenatus* na vista lateral do crânio. As letras indicam o bloco geográfico: A: Corredor central da Mata Atlântica. B: corredor cerrado-zona da mata. C: corredor da serra do mar. D: interior da Mata Atlântica SP Paraná. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. **(b)** Gráfico do “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista ventral (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores positivos da CV2 (azul escuro; acima) e sobreposta aos valores negativos da CV2 (azul escuro; embaixo). **(c)** Gráfico do “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio na vista lateral (azul claro) sobreposta a forma explicada pelos valores positivos da CV3 (azul escuro; acima) e sobreposta aos valores negativos do CV3 (azul escuro; embaixo). **(d)** Gráfico com os escores das variáveis canônicas CV2 e CV3, mostrando a variação entre as fêmeas de *P. frenatus* na vista lateral do crânio. Escala 6.0.

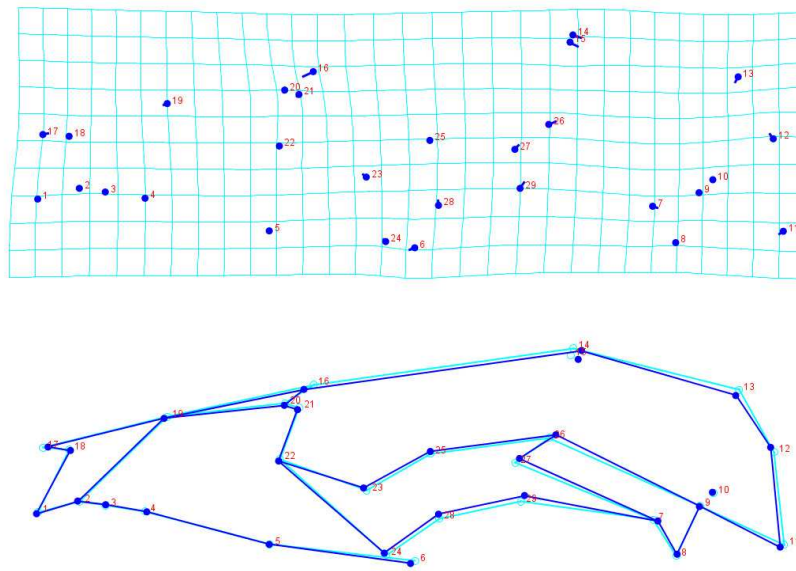


Figura 3.42 - Gráfico representando as mudanças da forma média (macrolocalidades1) do crânio das fêmeas na vista lateral, para atingir a forma média do crânio do bloco D. **a)** Grade de deformação indicando as mudanças da forma média da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). **b)** “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio dos machos na vista lateral (azul claro), sobreposta a forma média do crânio do bloco D (azul escuro). Escala 1.0.

Tabela 29 - Distancias de Procrustes entre blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.

	A	B	C
B	0.0233		
C	0.0224	0.0234	
D	0.0289	0.0295	0.0303

Tabela 30 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos. Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.

	A	B	C
B	3.9249		
C	3.4659	2.7730	
D	<b>6.0737</b>	5.6076	5.6592

### 3.3.4 - Variação geográfica nas fêmeas agrupadas em macrolocalidades2.

#### 3.3.4.1 – Análises de componentes principais (PCA)

A análise de variação geográfica nas fêmeas foi feita com 7 blocos geográficos devido à ausência de fêmeas no bloco A1 (Corredor central da MA da Bahia). As análises de componentes principais, quando agrupados os indivíduos nas subdivisões de macrolocalidades2, apresentaram um padrão similar na distribuição dos escores, com um amplo grau de sobreposição dos blocos geográficos no espaço da forma do PC1 e PC2 (Figuras 3.43 e 3.44). Na vista dorsal os dois primeiros componentes principais explicaram o 34.59% da variância (PC1=20.75% e PC2 = 13.84%), na vista ventral o 60.16% (PC1=43.19% e PC2=16.9%) e na lateral o 56.35% (PC1=35.9% e PC2=20.45%).

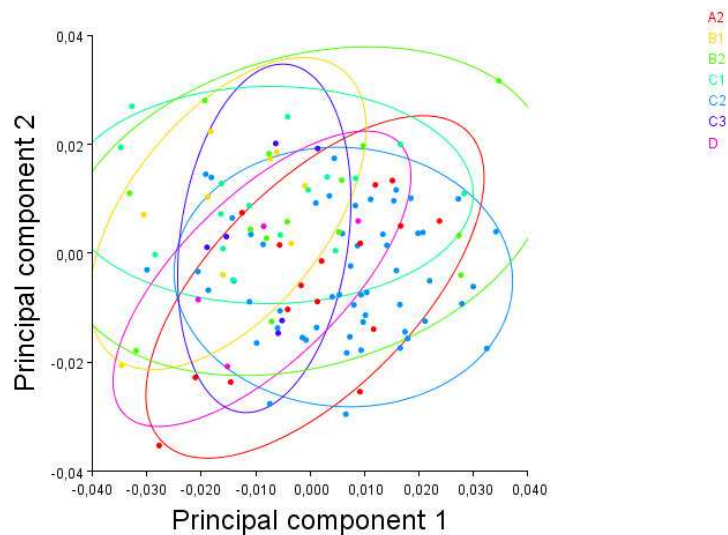


Figura 3.43 - Gráfico dos escores nos dois primeiros componentes principais do crânio das fêmeas de *P. frenatus* na vista dorsal; Variação entre blocos geográficos (macrolocalidades2): A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico.

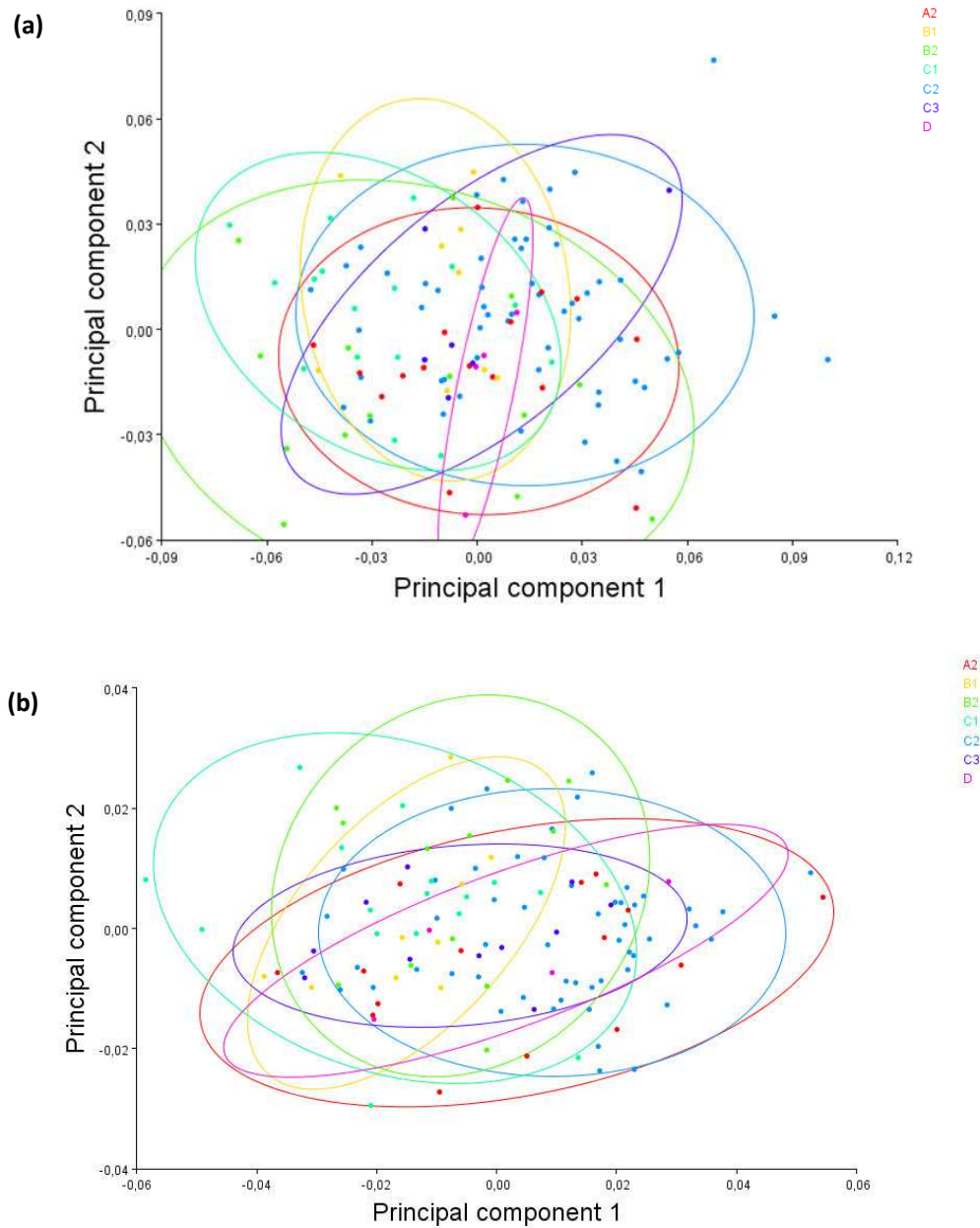


Figura 3.44 - Gráfico dos escores nos dois primeiros componentes principais do crânio das fêmeas de *P. frenatus* nas vistas (a) ventral e (b) lateral; Variação entre blocos geográficos (macrolocalidades<sup>2</sup>): A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico.

### 3.3.4.2 - Análises de variáveis canônicas (CVA)

A CVA da vista lateral do crânio das fêmeas indicou que os dois primeiros eixos de variáveis canônicas explicaram o 50.13% da variância (CV1 30.37%; CV2 19.75%). Nenhum dos blocos geográficos foi discriminado completamente dos outros quando avaliados os eixos de variáveis canônicas. No entanto, na CV1, o bloco D, localizado totalmente nos valores positivos do eixo, foi discriminado dos blocos C2, A2 e B1. O segundo eixo de variáveis canônicas (CV2) indicou uma sobreposição dos blocos geográficos ao redor dos valores médios, com exceção do bloco C3, localizado nos valores negativos do eixo, discriminado do bloco C1 (Figura 3.45 a). A CV5 separou o bloco D nos valores negativos do eixo, dos blocos B1 e C3, localizados nos valores positivos, enquanto a CV6 discriminou o bloco D nos valores negativos, separado do bloco C1, apresentando uma sobreposição mínima com A2 e B2 localizado em valores mais positivos (Figura 3.46a).

Os valores negativos da CV1 foram associados a um crânio baixo, com pré-maxilar deslocado posteriormente e maxilar comprimido antero-posteriormente, arco zigomático robusto, com inflexão inferior do jugal e processo frontal deslocados anteriormente e com curvaturas proeminentes, processo post-glenoideo com margem posterior mais ampla, crista sagital alta, desenvolvida longitudinalmente, e caixa craniana expandida na região posterior, com o côndilo occipital posicionado mais posteriormente (Figura 3.46 b). Os valores positivos do CV1 foram associados a uma expansão anteroposterior do maxilar, com margem inferior maior, um arco zigomático baixo e esbelto, com inflexão inferior do jugal e processo frontal deslocados posteriormente, processo postglenoideo menor, crista sagital alta e curta, apresentando uma compressão posterior da caixa craniana e condilo occipital deslocado anteriormente, aproximando-se ao processo postglenoideo (Figura 3.46 c). As deformações do crânio associadas aos valores negativos da CV2 foram um crânio mais comprimido dorso-ventralmente, com crista sagital desenvolvida, arco zigomático alto e expandido na margem superior, e côndilo occipital posicionando-se anteriormente, mais próximo do processo postglenoideo (Figura 3.46 d). Os valores positivos da CV2 indicaram um crânio alto, com crista sagital baixa, arco zigomático com jugal robusto e esquamosal mais esbelto. O côndilo occipital se desloca posteriormente e o processo postglenoideo se expande na margem anterior (Figura 3.46 e).

A configuração média de marcos anatômicos do bloco D na vista lateral foi comparada a configuração média da amostra das macrolocalidades<sup>2</sup>, para avaliar as principais deformações do crânio. As deformações foram visualizadas através de grades de deformação com vetores de deslocamento e através da sobreposição do “wireframe” das formas médias (Figura 3.47). As principais deformações do crânio associadas a forma média do bloco D, são devidas a uma

expansão anterior do maxilar, comprimindo o pré-maxilar, uma expansão dorsal do nasal, frontal levemente deslocado posteriormente, crista sagital finalizando em um ponto mais anterior do crânio, sendo mais curta, um leve deslocamento posterior da inflexão inferior do jugal, e da sutura jugal-esquamosal.

As distancias de Procrustes entre pares de blocos geográficos na vista lateral do crânio das fêmeas indicou os maiores valores entre os blocos C1 – C2 e C1 – D e os menores entre C2 – C3 (Tabela 32). As distancias de Mahalanobis indicaram os valores mais altos em todas as comparações com o bloco D, e os menores entre os blocos C2 – A2 (Tabela 33).

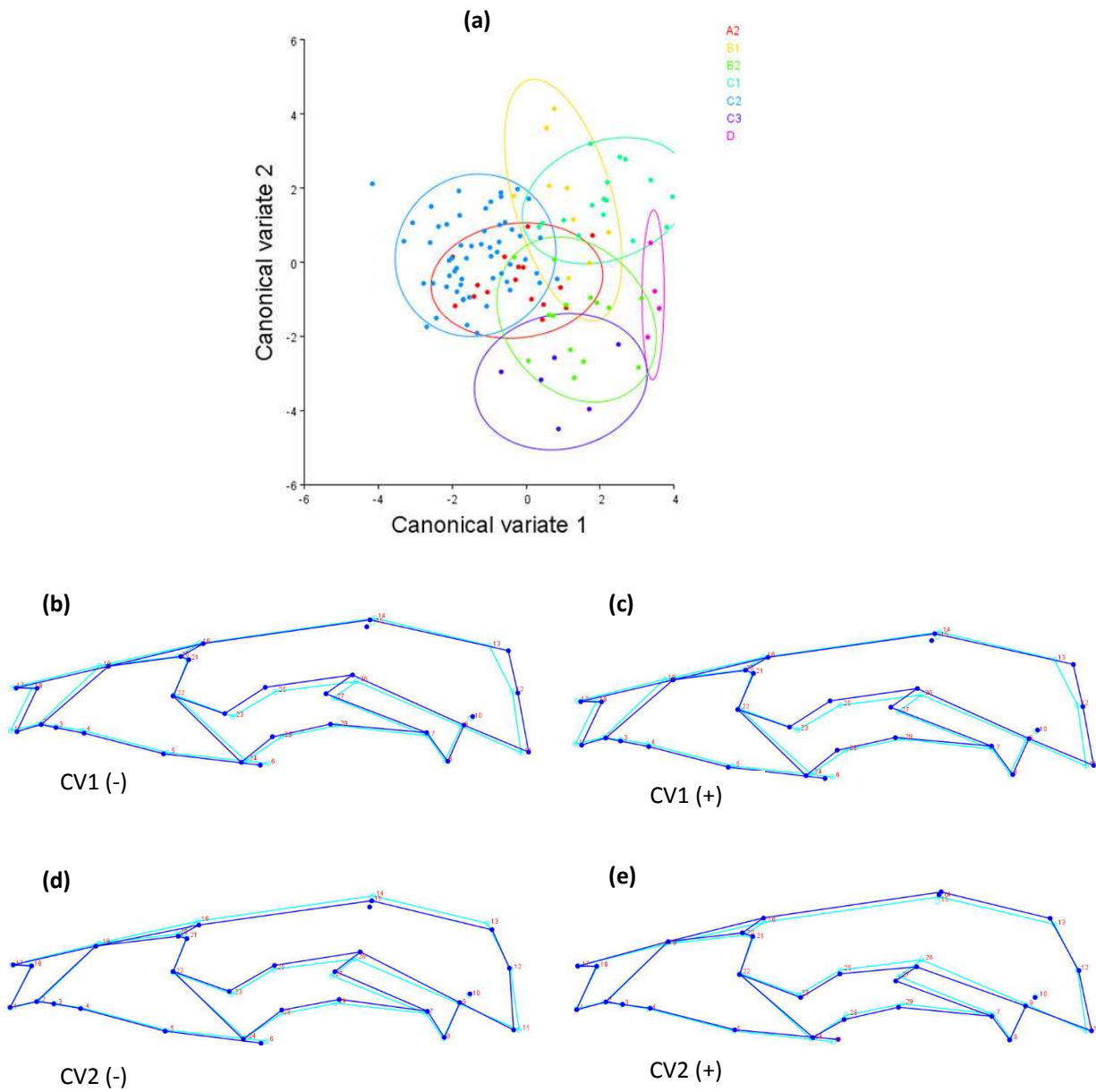


Figura 3.45 - **a**) Gráfico dos escores, para as duas primeiras variáveis canônicas (CV1 e CV2) da vista lateral do crânio das fêmeas de *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos: A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatómicos na vista lateral do crânio (azul claro), sobreposta às deformações explicadas pelos eixos de variáveis canônicas (azul escuro) dos valores: **(b)** negativos da CV1; **(c)** positivos da CV1; **(d)** negativos da CV2; **(e)** positivos da CV2.

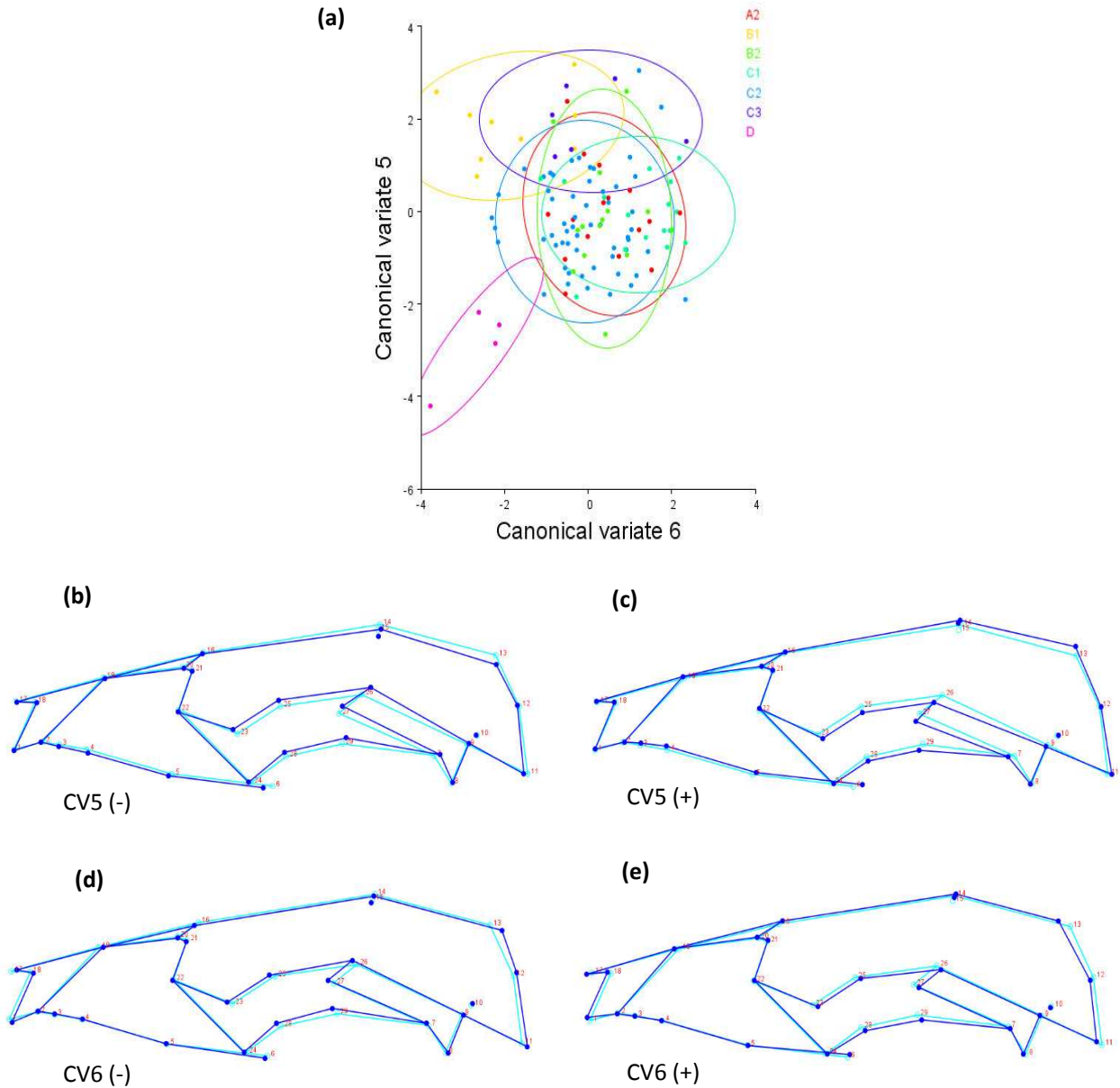
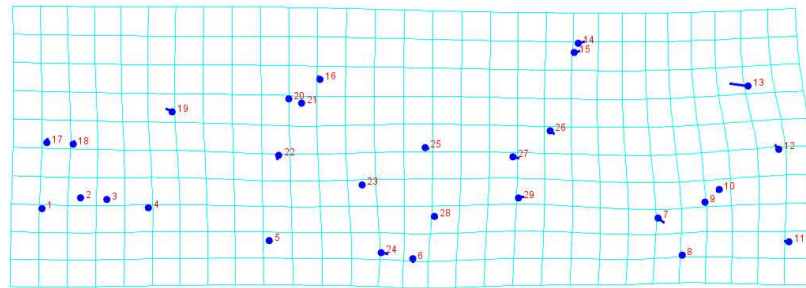
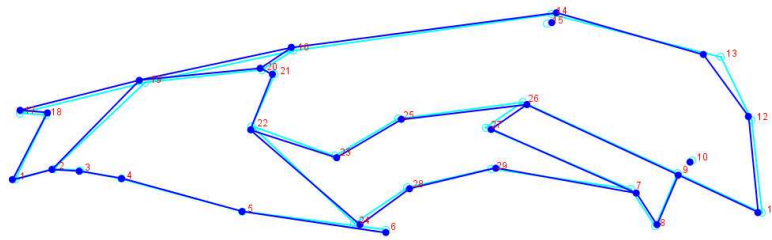


Figura 3.46 - **a**) Gráfico dos escores, para as variáveis canônicas (CV5 e CV6) da vista lateral do crânio das fêmeas de *P. frenatus*, mostrando a variação entre blocos geográficos: A2: corredor central da MA Espírito santo B1: corredor cerrado-zona da mata interior; B2: corredor cerrado-zona da mata leste; C1: sul do corredor da serra do mar; C2: norte do corredor da serra do mar; C3: interior do corredor da serra do mar; D: corredor interior da MA de SP e PA. Elipses de confiança do 95%, para cada bloco geográfico. “Wireframe” da configuração média de marcos anatômicos na vista lateral do crânio (azul claro), sobreposta às deformações explicadas pelos eixos de variáveis canônicas (azul escuro) dos valores: **(b)** negativos da CV5; **(c)** positivos da CV5; **(d)** negativos da CV6; **(e)** positivos da CV6. Escala 4.0.



D



D

Figura 3.47 - Gráfico representando as mudanças da forma média (macrolocalidades2) do crânio das fêmeas na vista lateral, para atingir a forma média do crânio do bloco D. **a)** Grade de deformação indicando as mudanças da forma média da amostra (pontos azuis) para atingir a forma média do crânio do bloco D (vetores). **b)** “wireframe” da configuração média de marcos anatômicos do crânio dos machos na vista lateral (azul claro), sobreposta a forma média do crânio do bloco D (azul escuro). Escala 1.0.

Tabela 31 - Distancias de Procrustes entre os blocos geográficos (Macrolocalidades2). Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	0,0309					
B2	0,0263	0,0349				
C1	0,0401	0,0256	0,0283			
C2	0,0224	0,0312	0,0395	<b>0,0456</b>		
C3	0,0247	0,0255	0,0321	0,0336	0,0213	
D	0,0291	<b>0,0425</b>	0,0273	<b>0,0415</b>	0,0341	0,0277

Tabela 32 - Distancias de Mahalanobis entre os blocos geográficos, (Macrolocalidades2). Resultados do CVA na vista lateral do crânio das fêmeas.

	A2	B1	B2	C1	C2	C3
B1	<b>4,6125</b>					
B2	<b>4,5012</b>	<b>4,7307</b>				
C1	<b>4,5823</b>	<b>4,1134</b>	<b>4,3907</b>			
C2	<b>3,4877</b>	<b>4,0969</b>	<b>3,9461</b>	<b>4,0668</b>		
C3	<b>5,5601</b>	6,2692	5,249	<b>5,8300</b>	<b>5,1985</b>	
D	<b>6,3125</b>	6,4037	5,925	5,6801	<b>6,3585</b>	6,7041

### 3.3.5 - Análises de Componentes Principais da matriz das três vistas do crânio dos machos.

O PCA da matriz dos resíduos de Procrustes das três vistas do crânio dos machos de *P. frenatus* indicou que o PC1 (35.11%) e o PC2 (8.86%) explicaram juntos o 43.97% da variância da amostra. O gráfico da distribuição dos escores individuais indicou uma ampla sobreposição dos grupos quando visualizados nas classificações de macrolocalidades<sup>1</sup>, e macrolocalidades<sup>2</sup> (Figura 3.48 a, b), indicando que não há um padrão de distribuição ou agrupamento geográfico identificável na variância total da amostra.

### 3.3.6 - Análises de Componentes Principais da matriz das três vistas do crânio das fêmeas.

O PCA da matriz dos resíduos de Procrustes das três vistas do crânio das fêmeas de *P. frenatus* indicou que o PC1 (25.15%) e o PC2 (11.24%) explicaram juntos o 36.39% da variância da amostra. O gráfico da distribuição dos escores individuais indicou uma ampla sobreposição dos grupos nos dois primeiros PCs quando visualizados nas classificações de macrolocalidades<sup>1</sup>, e macrolocalidades<sup>2</sup>. Nenhum dos blocos geográficos foi discriminado dos outros, no entanto quando agrupados em macrolocalidades<sup>1</sup>, os indivíduos do bloco B foram localizados quase por completo nos valores positivos do PC1, enquanto os indivíduos do bloco A foram localizados em sua maioria nos valores negativos do PC2 (Figura 3.49 a, b).

Quando os indivíduos foram agrupados por macrolocalidades<sup>2</sup>, os blocos mantiveram uma alta sobreposição, mas os blocos B1 e C1 ficaram em sua totalidade nos valores positivos do PC1. Embora alguns blocos tenham ficado localizados nos valores positivos ou negativos dos PCs, de forma geral, a distribuição dos escores individuais nos dois primeiros PCs da matriz das três vistas do crânio das fêmeas não indica um padrão geográfico da variação morfológica do crânio identificável através da variância total da amostra.

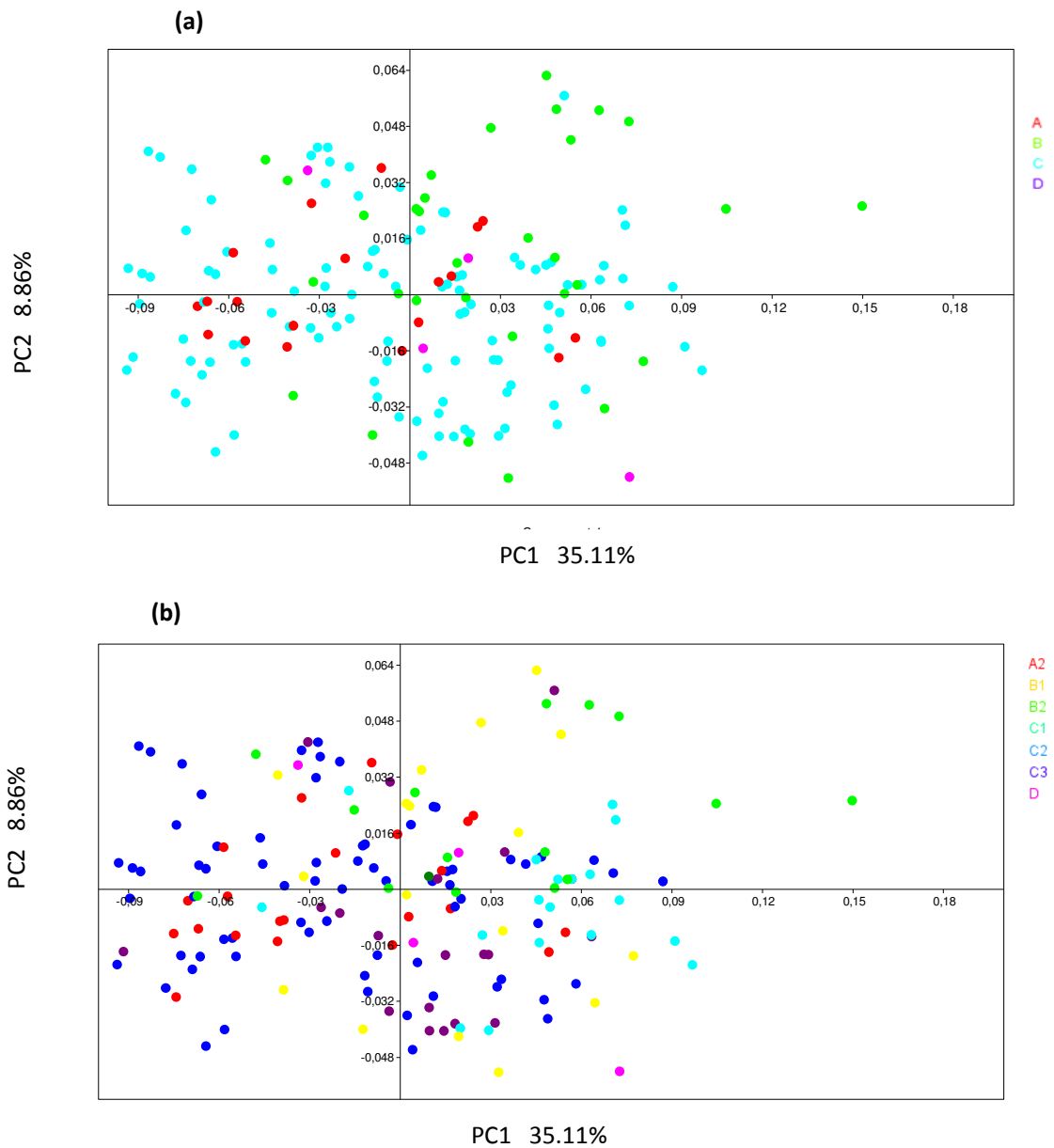


Figura 3.48. Gráfico dos escores do PC1 e PC2 da matriz de resíduos de procrustes das três vistas do crânio dos machos de *P. frenatus*. **a)** Variação entre blocos geográficos macrolocalidades1; **b)** Variação entre blocos geográficos macrolocalidades2.

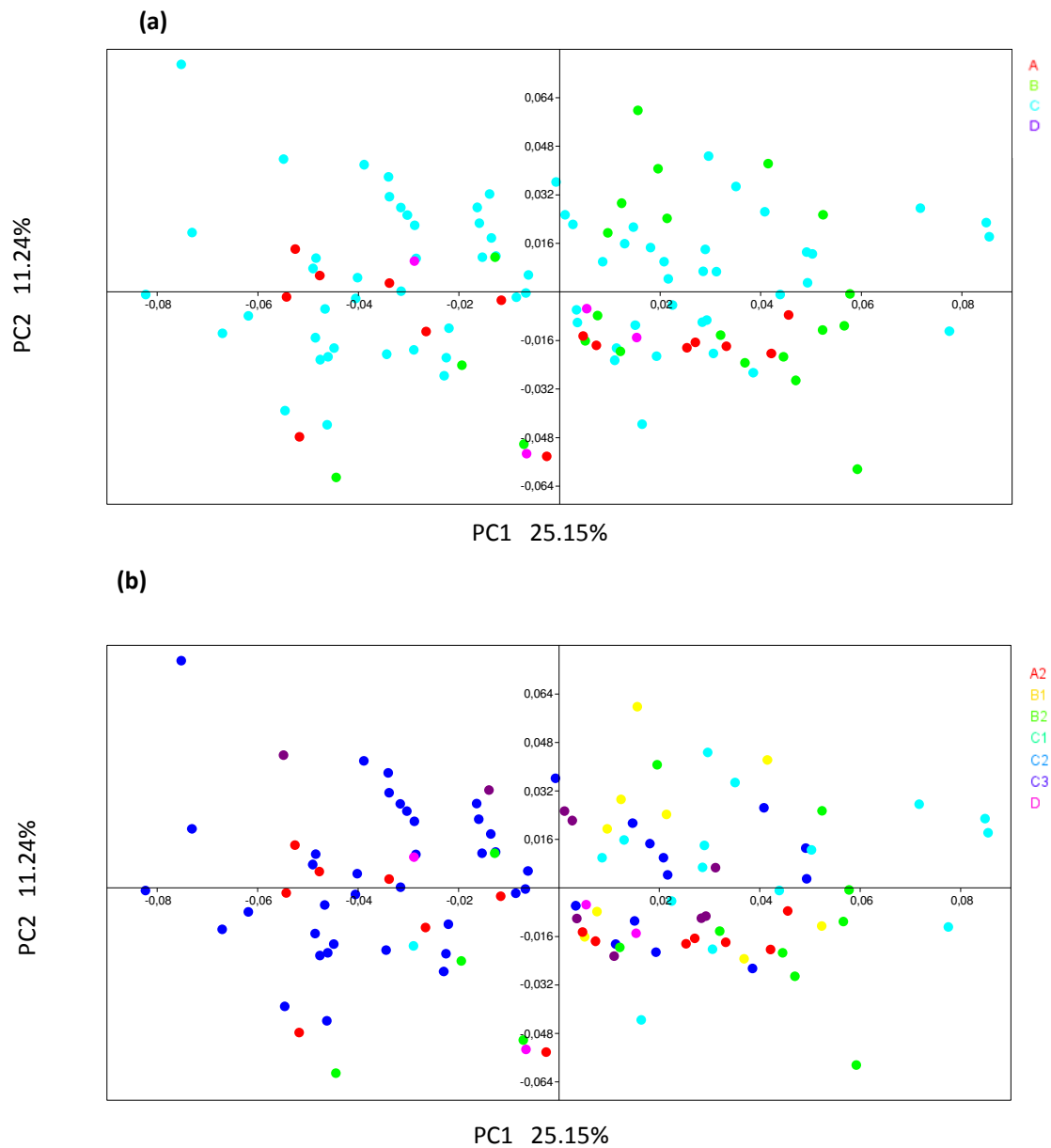


Figura 3.49. Gráfico dos escores do PC1 e PC2 da matriz de resíduos de Procrustes das três vistas do crânio das fêmeas de *P. frenatus*. a) Variação entre blocos geográficos macrolocalidades1; b) Variação entre blocos geográficos macrolocalidades2.

## 4- DISCUSSÃO

### 4.1 - Dimorfismo sexual no crânio de *Philander frenatus*.

Nas três vistas do crânio avaliadas foi encontrado dimorfismo sexual significativo em relação ao tamanho (tamanho do centroide), no nível intra-populacional e intraespecífico (Figura 3.4). O crânio dos machos foi significativamente maior que o crânio das fêmeas na análise da população do Rio de Janeiro e na análise feita sobre a amostra total. Dimorfismo sexual no tamanho do crânio de *P. frenatus* foi reportado em estudos anteriores com número amostral menor (Astúa *et al.*, 2000; Astúa 2010), através de análises de morfometria geométrica utilizando o tamanho do centroide como medida do tamanho. Os resultados deste trabalho confirmam assim, que em *P. frenatus*, os machos apresentam em média crânios maiores que as fêmeas. Hershkovitz (1997) descrevendo o dimorfismo sexual no gênero *Philander* através de morfometria tradicional relata que machos maduros com quatro molares completamente eclodidos são em promédio maiores que as fêmeas em massa corporal, comprimento do crânio, e tamanho dos caninos. O dimorfismo sexual do crânio em Didelphidae foi avaliado por Astúa (2010), que testou a “regra de Rensch” ou “Rensch’s rule” que diz que quando machos são maiores que as fêmeas, quantidades maiores de dimorfismo sexual no tamanho do corpo serão encontradas em espécies maiores, e inversamente, quantidades maiores de dimorfismo sexual são esperadas em espécies menores quando as fêmeas são maiores. Os resultados de Astúa (2010) demonstraram que, para família Didelphidae, a regra de Rensch não se aplica, e pelo contrário, encontraram dimorfismo sexual com maior frequência em espécies menores, sempre com os machos maiores que as fêmeas. Além disso, os resultados do autor indicaram que o dimorfismo sexual em Didelphidae não é homogêneo na família nem dentro dos gêneros da família. Das quatro espécies de *Philander* avaliadas por Astúa (2010), *P. mcilhenny* e *P. opossum* não apresentaram dimorfismo sexual no tamanho enquanto *P. andersoni* e *P. frenatus* apresentaram machos com crânios maiores. O estudo de Sebastiao & Marroig (2013), avaliando as trajetórias ontogenéticas de *P. opossum* e *D. virginianus*, reportaram o dimorfismo sexual em ambas espécies, e afirmam que as trajetórias de crescimento de machos e fêmeas de cada espécie são praticamente iguais. Estes autores concluíram também que os dois gêneros compartilham as mesmas orientações das trajetórias, mas a trajetória de *Didelphis* é mais longa devido ao aumento do tamanho do crânio, sendo esta a principal diferença no processo ontogenético dos gêneros. Encontraram também que o dimorfismo sexual no crânio de *Philander opossum* surge a partir da idade 5, quando os molares e pré-molares completam sua eclosão e são funcionais (Tyndale-Biscoe &

Mackenzie 1976), enquanto em *D. virginianus* surge uma idade mais cedo na ontogenia. É possível afirmar então, que espécimes adultos (dentição completa e funcional) de *P. frenatus* e *P. opossum*, apresentam dimorfismo sexual no tamanho do crânio ligado a tamanhos maiores nos machos, mas a pergunta de em qual idade começa a surgir esse dimorfismo em *P. frenatus* ainda deve ser respondida. A falta de dimorfismo sexual no tamanho reportada em outras espécies do gênero como *P. mcilhenny* (Astúa 2010), provavelmente seja devido a o reduzido número de espécimes avaliados nas análises, portanto precisa ser reavaliada incluindo maior número de indivíduos. O dimorfismo sexual no tamanho do crânio reportado no presente estudo, com machos apresentando crânios maiores que as fêmeas, era esperado de acordo com estudos anteriores feitos em amostras menores desta espécie e em espécies próximas.

Em relação à forma do crânio, a análise de dimorfismo sexual intrapopulacional indicou padrões muito similares aos revelados pela análise na amostra total, como indicados pelos gráficos de distribuição dos escores individuais do PC1 vs PC2 nas três vistas do crânio, portanto a discussão é feita sobre os resultados obtidos nas análises da amostra total.

Nas três vistas do crânio, as variações no morfo-espço do PC1 associados a machos e fêmeas nos valores positivos e negativos respectivamente, foram similares as diferenças indicadas pela sobreposição das formas medias encontradas entre machos e fêmeas nos resultados das Análises Discriminantes, ressaltando as regiões do crânio com diferenças significativas entre sexos.

O PCA da vista ventral do crânio, indica uma ampla sobreposição dos escores ao longo dos dois primeiros eixos (Figuras 3.14), enquanto as vistas dorsal e lateral indicaram uma sobreposição continua ao longo do PC2, e parcial no PC1, com machos nos extremos positivos e fêmeas nos extremos negativos do eixo (Figuras 3.16 e 3.18). As três vistas do crânio revelaram diferente grau de sobreposição entre machos e fêmeas ao longo do PC1, mas nunca uma separação total dos escores.

Na vista dorsal, os valores positivos do PC1 associaram os machos a crânios com arco zigomático expandido lateralmente, constrição pós-orbital mais estreita, processo pós-orbital mais proeminente e uma caixa craniana comprimida na região temporal. A vista ventral indicou que a posição dos molares e pré-molares no maxilar foram os vetores de maior variação relativa, e corroborou a expansão do arco zigomático e estreitamento lateral da caixa craniana encontrada na vista dorsal. A vista lateral foi a que apresento maiores variações na forma do crânio entre machos e fêmeas. Os machos dos valores mais positivos do PC1 foram associados principalmente a crânios com arco zigomático robusto e alto, rosto mais curto, crista sagital alta

e mais desenvolvida posteriormente e uma compressão lateral da caixa craniana, enquanto as fêmeas dos valores extremos negativos do PC1 foram associadas a crânios com deformações opostas as descritas para os machos.

Os histogramas de frequências dos escores discriminantes da análise "validação cruzada", indicaram uma sobreposição parcial nas três vistas do crânio. Apesar dessa sobreposição, as distâncias de Procrustes e distâncias de Mahalanobis indicaram diferenças significativas na forma média do crânio entre machos e fêmeas nas vistas dorsal, ventral e lateral, com as maiores distâncias entre formas médias encontradas na vista lateral do crânio e as menores na vista dorsal. As diferenças na forma do crânio entre machos e fêmeas foram visualizadas comparando as configurações médias dos marcos anatômicos em cada vista, comprovando vários padrões descritos nas análises de componentes principais. Este estudo confirma o dimorfismo sexual na forma e tamanho do crânio de *P. frenatus* reportado por Astua *et al.* (2000) e Astua (2010) em uma amostra menor através de morfometria geométrica, e acrescenta informação descrevendo as variações das estruturas do crânio envolvidas no dimorfismo sexual, já que Astua *et al.* (2000) e Astua (2010) não descreveram a variação da forma relacionada ao dimorfismo sexual e trabalharam com uma amostra menor que a do presente trabalho.

A sobreposição das formas médias de machos e fêmeas na vista dorsal revelou que os machos em relação às fêmeas, apresentam arco zigomático expandido lateralmente, caixa craniana comprimida lateralmente na região temporal, constrição pos-orbital mais estreita e processo pos-orbital mais proeminente. A vista ventral foi a que menos dimorfismo revelou, com os molares e pré-molares sendo responsáveis pela maior parte da variância relativa, mas corroborou alguns resultados da vista dorsal, mostrando uma constrição lateral da caixa craniana e uma expansão lateral na região posterior do arco zigomático dos machos. A vista lateral foi a mais informativa das três, indicando mais caracteres dimórficos e as maiores distâncias entre a forma média de machos e fêmeas. As diferenças mais notórias foram observadas no arco zigomático. Este é relativamente mais robusto, com maior altura e largura nos machos e apresenta uma expansão anterior relativa a uma compressão do maxilar. Estes apresentaram também um rosto mais curto e uma crista sagital posteriormente mais desenvolvida que a crista das fêmeas. Estes resultados coincidem com a descrição de Hershkovitz (1997) sobre o dimorfismo sexual no gênero, quem relata que a caixa craniana é relativamente mais estreita nos machos, a crista craniana é mais desenvolvida, mas a crista sagital de machos velhos é às vezes igualada por fêmeas mais velhas ou extremamente grandes. O dimorfismo sexual encontra-se bem documentado em muitas espécies de mamíferos, e parece estar relacionado à seleção sexual, principalmente em espécies com sistemas de

acasalamento poligênico, o que pode levar a seleção de machos maiores (e.g. Berta & Sumich, 1999; Lindenfors *et al.*, 2002).

Estudos sobre estrutura social em marsupiais são escassos, e a informação existente é baseada em uma comunidade em particular (Charles-Dominique 1983 *apud* Astúa, 2010). A reprodução de *P. frenatus* obedece a um sistema iteroparo, provavelmente promiscuo, e é considerada sazonal, com preferência pela época de chuvas para essa atividade, mas com capacidade de reprodução em qualquer época em ambientes fragmentados (Barros *et al.*, 2008). Lira & Fernandez (2009), utilizando metodologias de captura-recaptura e radiotelemetria encontraram que a área de vida desta espécie pode variar de 0.1 a 12.1 ha, sem diferenças significativas entre sexos. Por outro lado, Gentile *et al.* (1997) avaliaram a área de vida desta espécie em Barra de Maricá, Rio de Janeiro, e encontraram que a área de vida era constante nas épocas seca e chuvosa, sendo que as fêmeas aumentam sua área de vida na época reprodutiva. *P. frenatus* é um animal noturno, solitário e não territorialista, limitando sua estrutura social a encontros de acasalamento, cuidado parental da fêmea no período de amamentação, e encontros ocasionais entre adultos que sobrepõem amplamente suas áreas de vida (Charles-Dominique, 1983; Emmons & Feer, 1990; Redford & Eisenberg, 1992; Hershkovitz, 1997). Devido a isto, os machos provavelmente não competem diretamente por seus territórios, liberando eles da pressão seletiva de tamanhos maiores (Astúa, 2010). Situação similar parece acontecer em outras espécies da família Didelphidae de pequeno (*Marmosa murina*), médio (*Micoureus paraguayanus*), e grande porte (Didelphis) (Cáceres 2006; Charles-Dominique 1983 *apud* Astúa 2010). O comportamento e as estratégias reprodutivas de *P. frenatus*, aparentemente não parecem relacionar o dimorfismo sexual no tamanho e forma do crânio à seleção sexual.

De forma geral, a informação disponível sobre estrutura social e uso do espaço não sugere pressões seletivas que levem ao dimorfismo sexual nesta espécie. O dimorfismo sexual na família Didelphidae se vê incrementado após a maturidade sexual, provavelmente devido a interrupção do crescimento das fêmeas, transferindo energia do crescimento em energia investida para gravidez e lactação (Bergallo & Cerqueira 1994; Gardner 1973). Essa transferência de energia de crescimento das fêmeas provavelmente poderia explicar o dimorfismo sexual no tamanho do crânio de *P. frenatus*.

O dimorfismo sexual no tamanho e forma, não evoluem necessariamente em conjunto nem sob os mesmos regimes seletivos (Butler & Losos 2002; Gidaszewski *et al.*, 2009). Dimorfismo em tamanho e forma também apresentam diferentes origenes de desenvolvimento. O dimorfismo no tamanho é regulado por produção diferenciada de hormonas sistêmicas entre sexos

controlando as taxas de duração do crescimento (Badyaev, 2002; Cox *et al.*, 2009; Adkins-Regan 2012; Sanger *et al.*, 2013). Em relação a forma, apesar das bases moleculares do dimorfismo sexual serem desconhecidas (Williams & Carrol, 2009), o dimorfismo parece ser o resultado da regulação sexual-específica da expressão dos genes em distintos tecidos, tais como os receptores de hormonas sexuais expressadas nos músculos ou no esqueleto (Ranz *et al.* 2003; Emlen *et al.*, 2006; McGlothlin & Ketterson, 2008; Williams & Carroll, 2009).

O presente estudo revelou que apesar de existir uma sobreposição da forma entre sexos nas três vistas do crânio, as principais diferenças na forma entre machos e fêmeas de *P. frenatus* são descritas nas análises de componentes principais e análises discriminantes, indicando padrões semelhantes de variação morfológica entre machos e fêmeas. De forma geral, os machos apresentaram uma tendência a um rosto mais curto, arco zigomático expandido lateralmente, mais alto e robusto, o processo pós-orbital apresenta-se mais desenvolvido, a caixa craniana mais estreita e a crista sagital mais cumprida posteriormente.

Segundo Rossi *et al.* (2010), o processo pós-orbital está relacionado com o sexo e a idade, onde esta estrutura se torna mais evidente em machos mais velhos em outros marsupiais didelphideos. Hershkovitz (1997) afirma que em Didelphidae, geralmente com a continuidade do crescimento após a maturidade sexual, a crista sagital cresce e as proporções cranianas mudam. Astúa (2010) concluiu que apesar de utilizar espécimes adultos (dentição completa), há evidências de que a maturidade sexual acontece antes da erupção total de molares e pré-molares em vários marsupiais e que o indivíduo continua crescendo após a eclosão total dos dentes (Astúa & Geise 2006; Díaz & Flores 2008), influenciando as análises morfológicas que avaliam uma faixa etária em particular, sendo um fator a considerar nas variações morfológicas relativas ao tamanho total, e a estruturas de mudança contínua, como a posição dos molares e pré-molares no maxilar, o desenvolvimento da crista sagital e o processo pós-orbital.

A estrutura craniana mantém uma alta pressão ambiental, devido a sua relação direta com as funções sensoriais, alimentação e as forças biomecânicas que essa atividade implica (Voss 1990; Rafferty *et al.*, 2003; Preuschoft & Witzel, 2005). Uma estrutura de particular interesse por sua importância funcional é o arco zigomático, que além de articular a mandíbula à caixa craniana, é o lugar de inserção de músculos da mastigação (adutores mandibulares): o complexo masetérico é ligado através da raiz maxilar e a porção média do arco zigomático; a região anterior do zigomático-mandibularis é ligada à raiz maxilar, enquanto a região posterior é conectada desde a raiz esquamosal até a fossa glenoidea. Outro complexo muscular envolvido na mastigação é o temporalis. O temporalis anterior e posterior são fortes músculos inseridos

na porção superior do crânio à crista sagital, à região lateral da caixa craniana e ao processo coronóide da mandíbula, com o temporalis anterior atravessando a fossa orbital posterior (Voss, 1988). As regiões mais variáveis no crânio de *P. frenatus* entre machos e fêmeas, são associadas e ligadas à músculos envolvidos na mastigação, portanto uma hipótese sobre o consumo de diferentes alimentos em diferentes frequências, ou a preferência alimentar diferenciada entre machos e fêmeas por alimentos com diferentes níveis de durofagia poderia ser levantada, e explicar a diferenciação destes elementos cranianos com base em diferenças na alimentação. No entanto, o estudo de Macedo *et al.*, (2009) sobre a alimentação desta espécie não revelou diferenças significativas na composição da dieta entre machos e fêmeas (Macedo *et al.*, 2009), o que indica que outros fatores possam estar envolvidos nas diferenças da forma do crânio entre machos e fêmeas. De acordo com Hedrick & Temeles (1989), principalmente três hipóteses tem sido argumentadas para explicar a evolução do dimorfismo sexual no tamanho do corpo e morfologia dos animais, com base em mecanismos de seleção sexual, competição intersexual de alimentos e divisão do papel reprodutivo. Esses autores sustentam que modelos genéticos demonstram que o dimorfismo sexual pode evoluir a partir de um estado inicial de monomorfismo quando a seleção atua sobre os dois sexos de maneiras opostas, seja por meio de seleção intrasexual, seleção intersexual ou fatores ecológicos (nichos dimórficos, competição de alimentos). No entanto, argumentam que a evolução do dimorfismo sexual também depende da correlação genética entre os sexos na característica de interesse. Essa correlação indica que os traços masculinos e femininos não evoluem de forma independente; assim, a seleção em uma característica em um sexo produz não apenas uma resposta evolutiva direta nesse sexo, mas também uma resposta indireta (ou seja correlacionada) no sexo oposto. Eles assumem que a base genética do dimorfismo sexual é filogenética, e sugerem que todas as hipóteses são plausíveis, já que estudos empíricos demonstram que cada um dos três mecanismos opera nas populações naturais de diferentes espécies. Em relação a *P. frenatus*, estudos que testem hipóteses sobre o origem do dimorfismo sexual em caracteres secundários ainda são necessários.

#### 4.2 - Variação geográfica na forma do crânio de *Philander frenatus*.

As três vistas do crânio apresentaram variação morfológica do crânio de *P. frenatus* entre e dentro dos blocos geográficos avaliados. As análises de componentes principais de cada uma das três vista do crânio, em machos e fêmeas por separado, indicaram uma sobreposição dos blocos geográficos nos dois primeiros PCs. Essa sobreposição dos blocos geográficos foi encontrada tanto nas análises por Macrolocalidades1 (Figura 3.26) como por Macrolocalidades2 (Figura 3.33). O gráfico de PCA da matriz dos resíduos de Procrustes das três vistas do crânio dos

machos não evidenciou nenhum padrão de estruturação ou separação dos blocos geográficos por macrolocalidades<sup>1</sup> ou macrolocalidades<sup>2</sup> (Figura 3.48). O PCA das três vistas do crânio das fêmeas indicou uma ampla sobreposição dos blocos geográficos nos dois agrupamentos de macrolocalidades analisadas (Figura 3.49). De forma geral, as análises de PCs indicaram que a variação morfológica do crânio não tem uma estruturação geográfica nas amostras estudadas, evidenciando uma sobreposição da forma do crânio entre os blocos geográficos avaliados, tanto na vista dorsal, ventral e lateral, como na PCA da matriz dos resíduos de Procrustes das três vistas do crânio juntas, indicando que não há um padrão geográfico relacionando a variação morfológica entre os blocos geográficos estudados.

Por outro lado, as Análises de Variáveis Canônicas evidenciaram alguns padrões de estruturação geográfica da variação da forma do crânio entre os blocos comparados. A CVA dos machos de *P. frenatus* agrupados em macrolocalidades<sup>1</sup>, indicou diferenças na distribuição da variação morfológica entre os blocos geográficos em cada vista avaliada. Na vista ventral a CVA indicou uma sobreposição dos quatro blocos geográficos nos eixos canônicos, e se apresentou pouco informativa, já que apesar de localizar o bloco D totalmente nos valores negativos da CV1 e da CV3, não conseguiu discrimina-lo totalmente (Figura 3.29). Na vista dorsal a CVA indicou uma sobreposição entre os quatro blocos geográficos na CV1, e entre os blocos A, B e C nos três eixos de CVs. Entre tanto, o bloco D somente apresentou uma leve sobreposição com o bloco B na CV2, e com o bloco C na CV3 (Figura 3.27). A vista lateral apresentou resultados similares aos obtidos na vista dorsal, evidenciando uma sobreposição dos blocos A, B e C, discriminado o bloco D no espaço dos dois primeiros eixos de VCs, principalmente ao longo da CV1 (Figura 3.31). De forma similar, na CVA da vista lateral do crânio das fêmeas, os indivíduos das localidades do bloco D, pertencentes a Iguaçu-PR, Ortigueira-PR, Monte Alegre-SP e Avandava-SP, foram discriminados dos blocos A, B e C ao longo da CV3, enquanto na CV2 somente os blocos A e B foram separados, apresentando cada um deles uma sobreposição parcial com o bloco C (Figura 3.41).

Um padrão constante na distribuição dos blocos geográficos nos eixos de variáveis canônicas nas três vistas do crânio dos machos e na vista lateral do crânio das fêmeas, foi a localização do bloco C, sempre ao redor dos valores da forma média. O bloco C, Corredor da Serra do Mar (CSM) apresentou uma sobreposição constante com os blocos A, Corredor Central da Mata Atlântica (CCMA) e B, Cerrado - Zona da Mata (CZM). Apesar disto, os blocos A e B apresentaram direções opostas da variação morfológica na vista lateral do crânio das fêmeas ao longo da CV2, e na vista lateral dos machos ao longo da CV3 na qual apresentaram uma sobreposição mínima. Os resultados indicam que a forma do crânio das populações pertencentes ao bloco A (CCMA) e

ao bloco B (CZM) apresentam maiores similitudes morfológicas com as populações do bloco C (CSM) do que entre si. Um padrão relacionado a este, na análise por Macrolocalidades<sup>1</sup>, foi a separação entre os blocos A e D, os quais nas vistas dorsal e lateral, encontram-se sempre em direções opostas da variação da forma nos eixos canônicos. Este padrão de sobreposição entre os blocos geográficos A, B e C, e de separação entre A e D, pode ser associado a localização no espaço geográfica das populações, já que o bloco C encontrasse em uma área intermediária, com o bloco A ao norte, o bloco B ao noroeste, e o bloco D ao sudoeste. Da mesma forma as populações do bloco A, no ES (CCMA) encontram-se afastadas geograficamente das populações do interior de SP, PR, e sul de GO, e em vizinhança com as populações do RJ, e litoral de SP na Serra do Mar, o bloco A foi afastado do bloco D pelas variações morfológicas explicadas na CVA e parcialmente sobreposto a o bloco C. De forma similar, assim como o bloco D está localizado geograficamente mas próximo ao bloco C (CSM), foi observada uma sobreposição entre estes dois blocos no espaço da variação da forma da CVA.

Quando os blocos geográficos foram subdivididos em blocos menores (Macropopulações<sup>2</sup>), a CVA da vista ventral do crânio continuou indicando uma sobreposição geral dos blocos geográficos. Na vista dorsal, a CVA apesar de não separar por completo nenhum dos blocos, confirmou a separação dos blocos A2 e D, com uma sobreposição intermediária dos blocos B1, B2, C1, C2 e C3. De forma similar, a CVA da vista lateral de machos e fêmeas não separou nenhum dos blocos por completo nos eixos de variáveis canônicas, mas evidenciou alguns padrões na distribuição dos blocos nos eixos canônicos. A CVA da vista lateral do crânio dos machos mostrou o bloco D relativamente mais afastado do aglomerado de blocos, mas localizado no extremo dos valores positivos da CV2, ficando em sobreposição com os blocos C1 e C2 ao longo deste eixo. Resultados similares foram apresentados avaliando a vista lateral das fêmeas, com uma ampla sobreposição dos blocos geográficos, com exceção do bloco D, que ficou sobreposto apenas aos blocos B2 e C1 ao longo da CV1.

As análises de CVs na vista dorsal e lateral do crânio de machos e fêmeas evidenciaram que o bloco D foi o mais afastado da forma média. A sobreposição da forma média do crânio do bloco D sobre a forma média da amostra total, indicou através da vista dorsal, uma constrição anteroposterior do pré-maxilar, expansão anterior do maxilar, uma leve expansão do arco zigomático, e um deslocamento posterior do parietal, associados ao bloco D. Na vista lateral, a sobreposição da forma média do crânio dos machos com a forma média dos indivíduos do bloco D, evidenciou para este bloco uma expansão anterior do maxilar e compressão do pré-maxilar, e indicou uma crista sagital mais alta e curta e um arco zigomático mais baixo. Quando a configuração média da vista lateral do crânio das fêmeas do bloco D foi sobreposta à

configuração média da amostra, observou-se que somente a compressão do pre-maxilar e maxilar foram consistentes com as variações apresentadas pelos machos do mesmo bloco.

Os resultados da CVA das vistas dorsal e lateral do crânio evidenciaram diferenças nas variações morfológicas de machos e fêmeas do bloco D comparadas com a configuração média da amostra, evidenciando a variação morfológica dentro do bloco D, e entre este bloco e os blocos A, B e C. Essa variação morfológica existente, tanto dentro do bloco D como entre este demais blocos geográficos, deve ser interpretada com cautela devido ao baixo número de exemplares do bloco D analisados (interior da Mata Atlântica em SP, PR e sul de GO) e as grandes distâncias geográficas entre as localidades dos indivíduos deste bloco.

Um padrão de variação morfológica constante nas CVA de macrolocalidades<sup>1</sup> e macrolocalidades<sup>2</sup>, nas vistas dorsal e lateral, foi a separação entre os blocos D (interior de SP, PR, e sul de GO) e A (CCMA). A divergência na variação morfológica entre os blocos A e D avaliados em macrolocalidades<sup>1</sup> foi evidente na vista dorsal e lateral dos machos ao longo da CV1 (Fig. 3.27 e 3.31), e na vista lateral das fêmeas ao longo da CV2 e CV3 (Fig. 3.41). Quando os blocos foram avaliados em macrolocalidades<sup>2</sup>, esta separação foi evidente na vista dorsal ao longo da CV1 (Fig. 3.34), na lateral dos machos ao longo da CV1 e CV2 (Fig. 3.38), e na lateral das fêmeas ao longo da CV1 (Fig. 3.45). Esses resultados sugerem que as populações do bloco A (Corredor Central da Mata Atlântica) e do bloco D (interior de SP, sul de GO e PA) apresentam variação oposta na forma do crânio (isto é, na posição relativa dos marcos antômicos), e as populações do corredor da Serra do Mar e do Cerrado-Zona da Mata apresentam variações morfológicas intermediárias que se sobrepõem parcialmente ao bloco A e em menor proporção ao bloco D. Os resultados das análises de CVs indicam padrões de variação morfológica, associadas à distribuição geográfica dos blocos avaliados, evidenciando principalmente que os indivíduos do Corredor da Serra do Mar apresentam uma forma do crânio próxima associada a forma média da amostra total, e que as populações do Corredor Central da Mata Atlântica apresentam variações morfológicas opostas as apresentadas nas populações do bloco do interior de SP, PR e sul de GO.

De forma geral, os indivíduos do bloco D apresentaram variações morfológicas nas vistas dorsal e lateral do crânio, que os afastaram do restante dos blocos geográficos nos eixos das CVs. Avaliando a procedência geográfica destes indivíduos, os machos do bloco D pertencem as localidades de Teodoro Sampaio e Botucatu no estado de São Paulo, e Itumbiara no estado de Goiás. Os indivíduos da localidade de Itumbiara-GO e Botucatu-SP, pertencem a uma região da Mata Atlântica catalogada como floresta estacional semidecidual (MMA 2002) que pode ser

considerada áreas de transição Mata Atlântica-Cerrado. De acordo com Gardner (2009), o centro-sul de Goiás, nas regiões de Aragarças e Formosa, faz parte da distribuição extrema de *P. opossum*, uma espécie amplamente distribuída na América do Sul e América central, que é considerada atualmente como um complexo de sub-espécies (Voss and Jansa 2009). No entanto, apesar de ser um gênero muito estudado, os limites de distribuição das espécies de *Philander* não estão claramente estabelecidos (Chemisquy & Flores 2012). Costa & Patton (2006), avaliaram os limites geográficos e sistemáticos de marsupiais Brasileiros com base em dados de divergência do gene citocromo b, e atribuíram as amostras de *Philander* provenientes dos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, sudoeste do Amazonas e Acre à espécie *P. opossum canus*, sendo altamente divergentes (13.52%) das amostras de *P. frenatus* da Mata Atlântica. No entanto, existe um espaço geográfico entre a distribuição de *P. frenatus* e *P. o. canus* que carece de amostras, pelo que esses autores concluem que análises que incluam amostras provenientes destas áreas, como a Bacia do Paraná serão importantes para determinar os limites geográficos entre *P. frenatus* e *P. o. canus*, assim como para verificar se esses dois táxons se comportam como espécies biológicas.

Chemisquy & Flores (2012) avaliaram a identidade taxonômica das espécies de *Philander* do extremo sul da distribuição do gênero através de caracteres moleculares e medidas cranianas. Eles identificaram as espécies *P. frenatus* e *P. opossum canus* como as espécies com distribuição mais ao sul do continente, e detectaram uma diferenciação entre as duas espécies baseando-se nas distâncias das sequências do gene citocromo b, mas os caracteres morfométricos só conseguiram separar ambas espécies em base a uma medida craniana, a largura da constricção interorbital, sendo maior de 10.5mm em *P. frenatus*. A hipótese destes autores foi testada, e utilizando as imagens do crânio em vista dorsal foi medida a constricção posorbital dos indivíduos do bloco D no programa tpsDig, foram obtidos sempre uma medida da constricção posorbital maior que 10.5mm, confirmando a identificação dos indivíduos analisados como *P. frenatus*. De acordo com Chemisquy & Flores (2012) diferenciar entre estas duas espécies em base a características morfológicas é bastante complicado, como indica a chave de identificação descrita por Patton & da Silva (2007), que separa essas espécies apenas em base a coloração da pelagem, sendo cinza escuro em *P. frenatus* e cinza claro em *P. opossum*. No entanto, as características de tonalidades da cor da pelagem para diferenciar duas espécies de mamíferos morfologicamente similares são relativamente subjetivas. Chemisqui & Flores (2012) concluíram que as populações de *P. frenatus* estendem-se ao longo da região costeira da Mata atlântica desde o sul da Bahia até as florestas húmidas Paranaense e Atlântica no sul do Brasil, leste do Paraguai e nordeste da Argentina. Estes autores identificaram exemplares de *P. frenatus* em

ambos os lados da parte baixa da bacia do Rio Paraná, e indicaram o Rio Paraguai como limite geográfico entre estas duas espécies, com *P. opossum canus* do lado oeste e *P. frenatus* do lado leste do Rio. Segundo Chemisquy & Flores (2012) *P. opossum canus* habita regiões húmidas de baixas latitudes da floresta Amazônica, e estende sua distribuição sul nas regiões mais secas como as florestas do Chaco na Bolívia, sul do Brasil e norte da Argentina. De acordo com as informações disponíveis até o momento, nenhum estudo morfológico ou molecular tem sido realizado incluindo as populações do sul do Goiás ou interior de São Paulo em regiões próximas a bacia média e alta do Rio Paraná, uma área intermedia entre a distribuição de *P. frenatus* e *P. o. canus*, portanto as populações provenientes desta área, ainda domínio da Mata Atlântica, aguardam por estudos morfológicos profundos, e estudos moleculares que permitam definir claramente sua identificação taxonômica e os limites geográficos ou áreas de simpatria entre estas espécies.

Neste estudo, os dois exemplares de Itumbiara em GO foram considerados nas análises morfológicas do crânio dos machos, e junto com os exemplares de Teodoro Sampaio e Botucatu em SP, foram os mais afastado dos demais blocos e da forma media da amostra total. Resultados similares foram encontrados nas análises das fêmeas do bloco D, com amostras do parque Nacional Iguazu e Ortigueira no Paraná (PR) e Monte Alegre e Avanhandava em São Paulo (SP) sendo o bloco mais afastado do restante dos blocos. Além disso, tanto machos como fêmeas do bloco D, foram discriminados nas CVs das amostras do bloco A, corredor central da Mata Atlântica, e foram parcialmente sobrepostos na variação morfológica com as populações do Corredor da Serra do mar (bloco C) e da área Cerrado-Zona da Mata (bloco B). Os resultados da CVA das vistas lateral e dorsal, indicaram um padrão de variação morfológica particularmente maior nos indivíduos do bloco geográfico D. Uma análise morfológica com a inclusão de amostras da distribuição de *P. frenatus* de regiões como Santa Catarina, Paraná, Argentina, Paraguai, e inclusive amostras de *P. o. canus* permitiria avaliar o grau de divergência ou similitude morfológica entre outras populações com os indivíduos das áreas aqui analisadas e em particular com os indivíduos do sul de GO e interior de SP e PR avaliados neste estudo.

A análise de padrões complexos de distribuição das espécies no espaço geográfico faz parte de uma análise biogeográfica. Os padrões observados atualmente resultam de processos ocorridos no passado e que, desta forma, não podem ser diretamente observados ou testados. Uma abordagem para a inferência dos resultados de processos evolutivos passados sobre padrões atuais envolve a análise espacial de correlação entre caracteres observados nos organismos, como variáveis fenotípicas contínuas, com variáveis abióticas explanatórias (Perez *et al.*, 2010 *apud* Recoder, 2011)

Vários estudos biogeográficos tentando explicar a atual distribuição e diversidade de espécies na Mata Atlântica tem sido feitos através de análises moleculares, os quais apontam para dois componentes filogenéticos de linhagens um ao norte e outro ao sul do bioma. Diversos organismos que ocorrem nesse bioma mostram um padrão de distribuição da variabilidade genética com um componente mais ao norte e outro mais ao sul. Entre eles, o roedor do gênero *Rhipidomys*, os marsupiais *Micoureus* e *Metachirus* (Costa, 2003), a preguiça *Bradypus variegatus* (Moraes-Barros *et al.*, 2006), a serpente *Bothrops jararaca* (Grazziotin *et al.*, 2006), o lagarto *Gymnodactylus darwini* (Pellegrino *et al.*, 2005a), o gênero de lagartos *Enyalius* (Bertolotto, 2006) e a ave *Xiphorhynchus fuscus* (Cabanne *et al.*, 2007). A separação desses grupos apresenta uma coincidência geográfica, e em alguns casos há uma associação com o Rio Doce e em outros, o contato entre as linhagens ocorre dentro do estado de São Paulo (próximo ao vale do rio Paraíba do Sul ou mais ao sul do estado), mas isto não significa que esses marcos sejam os fatores que causaram a divergência das linhagens, mas que há certa coincidência espacial (Miyaki, 2009). No entanto, este estudo avaliou a variação existente nas populações de *P. frenatus* somente ao sul do Rio Doce, sendo que amostras de espécimes da região sul da Bahia são escassas nas coleções científicas Brasileiras. Portanto, esforços amostrais de populações desta espécie ao norte do Rio Doce seriam fundamentais para avaliar o componente norte da variação morfológica na distribuição de *P. frenatus*. Entretanto, as populações do interior do SP, PR, e sul de GO, parecem apresentar características de variação morfológica que sugerem uma linhagem intraespecífica diferente das outras populações analisadas. Apesar disto, as amostras de estas populações apresentam um baixo número de exemplares de populações bastante separadas, sendo necessário um maior número de exemplares para confirmar a divergência desta linhagem, e para isto esforços amostrais nesta região seriam necessários.

As estimativas de datas dos eventos de diversificação intragenéricas (ou seja, a divergência de linhagens que originaram as espécies) apontam para uma época antes do Pleistoceno, o que ocorre, por exemplo, em vários pequenos mamíferos (Costa, 2003) e no gênero de ave *Pionopsitta* (Ribas *et al.*, 2005). Por outro lado, a diversificação de linhagens dentro de espécies parece ter se concentrado no Pleistoceno. Tal padrão é encontrado, por exemplo, em morcegos (Ditchfield, 2000), no felino *Panthera onca* (Eizirik *et al.*, 2001), em preguiças (Moraes-Barros *et al.*, 2006) e na ave *Xiphorhynchus fuscus* (Cabanne *et al.*, 2007). De acordo com Costa (2003), a divergência entre os *Philander* da Amazônia e os *Philander* da Mata Atlântica data da época pre-pleistocênica, e enquanto os *Philander* da Amazônia se diversificaram em várias espécies durante o Pleistoceno, os *Philander* da Mata Atlântica se mantiveram como uma linhagem conformada somente por uma espécie, *Philander frenatus*, estendendo-se ao longo do Bioma.

Até o momento, os estudos filogeográficos de organismos da Mata Atlântica que foram realizados, não permitem levantar um padrão geral de distribuição das espécies (Batalha-Filho & Miyaki 2011). Porém, estes estudos apontam para a existência de descontinuidades filogeográficas recorrentes para diferentes grupos de organismos como abelhas (Batalha-Filho *et al.*, 2010), anfíbios (Carnaval *et al.*, 2009; Thomé *et al.*, 2010), répteis (Pellegrino *et al.*, 2005; Grazziotin *et al.*, 2006), aves (Cabanne *et al.*, 2007, 2008), morcegos (Martins *et al.*, 2009) e plantas (Ribeiro *et al.*, 2010), indicando três principais descontinuidades filogeográficas na Mata Atlântica, uma em Pernambuco, outra no Espírito Santo, e outra em São Paulo (Batalha-filho & Miyaki 2011). A principal hipótese de diversificação utilizada por estes estudos para explicar as descontinuidades observadas foi a teoria dos refúgios florestais (Haffer, 1969; Vanzolini e Williams, 1970; Brown e Ab'Sáber, 1979). Segundo a teoria, os refúgios de Mata Atlântica seriam ilhas de florestas densas úmidas isoladas por vegetação aberta (Savana). Essas florestas úmidas se retraíam durante os períodos de máximo glacial (formando os refúgios) e se expandiriam durante os períodos mais quentes (períodos interglaciais), enquanto as áreas de vegetação aberta se comportavam de maneira contrária. Como os períodos seriam cíclicos, a expansão e a retração da vegetação também seriam cíclicas. Assim, espécies dependentes de ambientes florestais teriam acompanhado esses ciclos de retração e expansão das florestas durante o Pleistoceno, fazendo com que populações associadas a diferentes refúgios se diversificassem de maneira alopátrica caso o tempo de isolamento tenha sido suficiente para acumular diferenças entre elas (Batalha-Filho & Miyaki 2011). Por estarmos em um período interglacial, as distribuições das espécies apresentam-se em simpatria, mascarando possíveis padrões de distribuição de um passado recente.

Um estudo com modelagem paleoclimática do último máximo glacial para a Mata Atlântica (21 mil anos atrás) realizado por Carnaval e Moritz (2008), revelou a existência de refúgios florestais pleistocênicos no corredor central da Mata Atlântica (Bahia) e em Pernambuco. Entretanto, os autores não incorporaram no modelo diferenças no gradiente altitudinal, o que possivelmente resultou na ausência de áreas florestadas estáveis ao sul da MA (Batalha-Filho & Miyaki 2011). Em outro estudo, Carnaval *et al.*, (2009) mostraram a provável existência de uma região florestada estável em São Paulo durante o final do Pleistoceno para uma espécie de Anuro. O modelo climático de Carnaval e Moritz (2008) indica uma região de florestas estáveis no corredor central da Mata Atlântica, e uma outra pequena área estável no interior de SP denominada pelos autores como Refúgio Paulista. De acordo com Moritz *et al.*, (2000) a existência, a localização e o tamanho dos refúgios ecológicos durante os máximos glaciais são dependentes das tolerâncias ecológicas e ambientais de cada espécie. Ou seja, embora existam

espécies que possuam distribuições geográficas bastante similares, o efeito dos ciclos glaciais e de outros fatores depende do nicho ecológico em que cada táxon está inserido. Portanto, a interpretação dos dados filogeográficos depende da existência de informações sobre a biologia de cada espécie (Batalha-Filho & Miyaki 2011).

*P. frenatus* é uma espécie estreitamente associada a habitats florestais, que apresenta boa capacidade de deslocamento entre fragmentos (Pires *et al.*, 2002; Lira *et al.*, 2007), o que se reflete na sua ampla distribuição ao longo da Mata Atlântica. Aparentemente esta espécie é ausente em matrizes de habitat abertos e áridos, onde a exposição a predadores é maior (Lira *et al.*, 2007), portanto a estabilidade dos fragmentos florestais em certas regiões possa ter influenciado para a continuidade das populações de *P. frenatus* em diferentes áreas da Mata Atlântica. Da mesma forma, a proximidade entre fragmentos florestais abrigando populações desta espécie pode ser um dos fatores que relaciona a sobreposição morfológica entre os blocos do interior de SP, sul de GO e PR com o bloco da Serra do mar, e entre este e os blocos do Cerrado-Zona da Mata e o Corredor Central da Mata Atlântica.

De acordo com Costa *et al.*, (2003) com dados moleculares, e Lemos *et al.*, (2001) com dados de morfologia craniana, o tempo de divergência entre a maioria de espécies de Didelphidae de grande porte, incluindo a divergência de *P. frenatus* respeito das outras formas de *Philander*, data da época pre-pleistocênica, um período muito dinâmico na história da América do Sul (Marroig & Cerqueira, 1997). As populações de *P. frenatus* na Mata Atlântica provavelmente sofreram os efeitos das contrações e expansões das florestas no período das glaciações pleistocênicas, mas provavelmente devido a sua capacidade de dispersão entre fragmentos florestais e a seus hábitos não territorialistas, as populações dos fragmentos do interior da Mata Atlântica como a bacia do Rio Paraná, e áreas de ecotono com o Cerrado, mantiveram uma dispersão em épocas favoráveis, e um fluxo gênico com populações das florestas da Serra do Mar, e florestas litorâneas. Por sua parte, estas populações provavelmente mantiveram fluxo gênico mais recente com as populações vizinhas do Corredor Central da Mata Atlântica e áreas do Cerrado-Zona da Mata. No entanto, as populações do Corredor Central da Mata Atlântica e as populações do interior da Mata Atlântica apresentaram uma divergência na variação morfológica, enquanto as populações mais próximas, apresentaram sobreposição na variação da forma do crânio.

O crânio, é uma estrutura que evolui sob constante pressão ambiental devido a sua relação com as funções sensitivas e de alimentação (Voss *et al.*, 1990). As diferenças na variação morfológica, e as diferenças das fitofisionomias as quais pertencem os indivíduos, sugerem que

as pressões ambientais sob as quais as populações do ES estão submetidas, diferem das pressões ambientais das populações do interior de SP, PR e sul de GO. Como já foi mencionado antes, as condições ambientais do bioma Mata Atlântica são bastante heterogêneas, e assim as pressões ambientais em diferentes regiões da Mata Atlântica são também heterogêneas mesmo atuando sobre a mesma espécie. Em ambiente heterogêneos, as respostas genéticas das populações ocorrem diretamente, via processos de seleção, ou indiretamente, via eventos estocásticos ou demográficos (p. ex. tamanhos efetivos populacionais). Estas respostas produzem variação genética nas espécies (Pamilo, 1988). A variação fenotípica subsequente entre populações resulta da variação genética, seleção natural, e plasticidade fenotípica (Adkinson, 1995).

A divergência morfológica observada no crânio das populações dos blocos A e D, é respaldada pela separação no espaço geográfico, e pela separação atual devido á fragmentação das florestas pelo desmatamento intensivo nos últimos 100 anos. Entretanto, provavelmente as diferenças na variação morfológica apresentadas entre os blocos D e A seja devido a fatores históricos e ambientais próprios das fitofisionomias que governam o Corredor Central da Mata Atlântica, florestas de ecotono com o Cerrado, e florestas próximas à Bacia do Paraná. Ou seja, anterior a degradação antrópica das ultimas décadas.

Vale considerar que foram necessárias análises estatísticas de maior poder de separação para identificar as variações morfológicas existentes entre os blocos geográficos avaliados. Estas análises concluíram que os indivíduos das florestas do interior de SP, PR, e sul de GO, apresentam variações morfológicas cranianas diferentes as evidenciadas nas populações do Corredor Central da Mata Atlântica, mas estas populações mantem um grau de sobreposição morfológica com as populações do corredor da Serra do Mar, evidenciando um gradiente de sobreposição morfológica associado a localização geográfica das amostras.

Os resultados das análises na vista dorsal e lateral concluíram que os indivíduos do interior de SP, PR, e sul de GO apresentam as variações morfológicas que os afastam da forma media. Através das análises de CVs da vista dorsal, as principais variações da forma do crânio dos indivíduos do bloco D, com respeito da forma media foram associadas a uma constrição antero-posterior do pre-maxilar, expansão anterior do maxilar, uma leve expansão do arco zigomático, e um deslocamento posterior dos parietais. As análises da vista lateral do crânio indicaram que as principais variações do crânio dos indivíduos do bloco D, consistentes em machos e fêmeas respeito da forma media, foram a compressão do pre-maxilar e maxilar indicando um rosto levemente mais curto. Análises morfológicas utilizando um número maior de amostras do sul do Brasil, e abrangendo a totalidade da distribuição de *P. frenatus* seriam necessários para

confirmar os padrões de variação morfológica aqui reportados. Entretanto, os resultados permitem identificar que há, mesmo que não muito acentuada, uma diferenciação morfológica entre o bloco D e as demais populações, o que pode ser reflexo de um início de isolamento reprodutivo deste bloco populacional, provavelmente relacionado à formação de um refúgio de Mata Atlântica mais interiorando em períodos glaciais passados.

Apartir das consultas realizadas nas bases de dados disponíveis na internet e as coleções científicas, foi possível observar uma insuficiência amostral da região sul da distribuição de *P. frenatus*, e em contraste, uma sobre amostragem de localidades da parte media e norte da distribuição da espécie. A maioria dos espécimes de *P. frenatus* depositados nas coleções científicas são provenientes de algumas regiões da Mata Atlântica, em particular da costa leste do Brasil, nos estados de Espírito Santo, Minas Gerais, e principalmente do Rio de Janeiro e São Paulo. Estes dois últimos estados possuem as maiores coleções científicas de mamíferos da Mata Atlântica, o Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro e o Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. As florestas ao redor das cidades do Rio de Janeiro e São Paulo tem sido as mais amostradas desde que os primeiros naturalistas chegaram no Brasil (Gardner *et al.*, 2009), onde maiores esforços amostrais intensivos tem sido realizados enquanto a inventários da fauna de pequenos mamíferos (Costa *et al.*, 2000). Particularmente em esta espécie, deficiências amostrais no Brasil, no sul da BA, sul e interior do estado de SP, PR, SC, e sul de GO são evidentes. A Mata Atlântica da Argentina e Paraguai conta com relativamente poucos espécimes depositados nos museus, os quais encontram-se nos países de origem e outros em coleções como o *Brithish Museum of Natural History*, *American Museum of Natural History* e o *Museum of Vertebrate Zoology*. Este estudo sugere que amostragens em áreas com deficiência de espécimes coletados sejam priorizadas para avaliar a variação morfológica evidenciada nos resultados, e verificar com amostras maiores e de maior abrangência geográfica os padrões aqui encontrados.

## 5. - CONCLUSÕES

- (1) Utilizando o tamanho do centroide como medida do tamanho, foi possível observar que o crânio de *P. frenatus* apresentou dimorfismo sexual em relação ao tamanho, tanto ao nível intrapopulacional como intraespecífico, sendo que os machos apresentaram crânios maiores que as fêmeas.
- (2) O dimorfismo sexual na forma do crânio de *P. frenatus* foi confirmado através de PCA e DA. Embora a forma do crânio de machos e fêmeas tenha apresentado uma ampla sobreposição nas análises, de forma geral, os machos apresentam um crânio com rosto mais curto, arco zigomático mais alto com processo frontal do jugal mais proeminente, crista sagital e processo pós-orbital mais desenvolvidos, e caixa craniana levemente mais estreita.
- (3) Através de CVA foi possível identificar a variação geográfica na forma do crânio de *P. frenatus*, sendo possível observar os seguintes padrões:
  - As análises por macrolocalidades<sup>1</sup> apresentaram uma sobreposição parcial dos blocos geográficos, com o bloco C (Corredor da Serra do Mar) associado a forma média da amostra, os blocos A (Corredor Central da Mata Atlântica) e B (Cerrado-Zona da Mata) sobrepostos ao bloco C, mas com direções de variação morfológica divergentes entre si. Já o bloco D (interior de SP, PR, e sul de GO) foi o mais afastado da forma média, constantemente discriminado do bloco A, e obteve os maiores valores das distancias entre formas médias (distancias de Mahalanobis) nas comparações entre pares de blocos. As análises por Macrolocalidades<sup>2</sup> indicaram uma sobreposição entre os blocos geográficos, e confirmaram o bloco D como o mais afastado da forma média, sempre discriminado do bloco A.
  - Os resultados revelaram um padrão geográfico da variação morfológica do crânio, indicando uma sobreposição entre as populações das áreas da Serra do Mar, Cerrado-Zona da Mata e o Corredor Central da Mata Atlântica, com as populações do interior de SP, PR, e sul de GO apresentando variações morfológicas que as afastam da forma média e as discriminam das populações do Corredor Central da Mata Atlântica.
  - As principais variações da forma do crânio dos indivíduos do bloco D (interior de São Paulo, Paraná e sul de Goiás), com respeito da forma media foram associadas a uma constrição antero-posterior do pré-maxilar, expansão anterior do maxilar, uma leve

expansão do arco zigomático, e um deslocamento posterior dos parietais e compressão do pré-maxilar e maxilar indicando um rosto levemente mais curto.

- As divergências observadas na variação morfológica apresentada pelos indivíduos do interior de SP, PR e sul de GO talvez consista em um artefato devido ao menor número amostratal, entretanto, com base nos resultados do presente trabalho podem ser devido a um certo grau de isolamento das populações, que tem permanecido nos remanescentes florestais permanentes do interior da Mata Atlântica e a bacia do Paraná, afastados das populações dos corredores de florestas da Serra do Mar, Zona da mata e do Corredor Central da Mata Atlântica, assim como a diferentes pressões ambientais devido a heterogeneidade ambiental presente neste bioma, como evidenciado pelas diferentes fitofisionomias.

## 6. - Bibliografia

Ab'Saber, A.N., 1977. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. Primeira aproximação Geomorfologia 53, 1-23. Em: Batalha-Filho, H., & Miyaki, 2011. Filogeografia da Mata Atlântica. Phylogeography of the Atlantic Forest. *Revista da Biologia. Vol. Esp. Biogeografia: 31-34*

Adams D. C., Rohlf F. J., Slice D. E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Ital. J. Zool.* 71: 5–16.

Adkins-Regan, E., 2012. Hormonal organization and activation: evolutionary implications and questions. *Gen. Comp. Endocrinol.* 176:279–285.

Adkinson, M.D., 1995. Population differentiation in Pacific salmon: local adaptation, genetic drifts, or the environment? *Can J Fish Aquat Sci* 52: 2762-2777.

Amrine-Madsen, H., M. Scally, M. Westerman, M.J. Stanhope, C. Krajewski, & Springer, M.S., 2003. Nuclear gene sequences provide evidence for the monophyly of australidelphian marsupials. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28: 186–196.

Anderson, S., 1997. Mammals of Bolivia, taxonomy and distribution. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 231, 1–652.

Astúa De Moraes, D., 2003. A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *BIOLETIM- Ano III, número 3.*

Astua De Moraes, D., 2009. Evolution of scapula size and shape in didelphid marsupials (didelphimorphia: didelphidae). *Evolution* 63-9: 2438–2456.

Astúa De Moraes, D. 2010. Cranial sexual dimorphism in New World marsupials and a test of Rensch's rule in Didelphidae. *Journal of Mammalogy*, 91(4):1011-1024.

Astúa, D., & L. Geise. 2006. Early reproductive onset in the white-eared opossum, *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Didelphimorphia, Didelphidae). *Mammalian Biology* 71:299–303.

Astúa De Moraes, D., E. Hingst-Zaher, L. F. Marcus, & R. Cerqueira. 2000. A geometric morphometric analysis of cranial and mandibular shape variation of didelphid marsupials. *Hystrix, Italian Journal of Mammalogy, New Series* 11:115–130.

Astúa De Moraes, D. & Leiner, O. N., 2008. Tooth Eruption Sequence and Replacement Pattern in Woolly Opossums, Genus *Caluromys* (Didelphimorphia: Didelphidae). *Journal of Mammalogy*, 89(1):244-251.

Avise J. C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species.* Harvard University Press, Cambridge.

Badyaev, A. V. 2002. Growing apart: an ontogenetic perspective on the evolution of sexual size dimorphism. *Trends Ecol. Evol.* 17:369–378.

Batalha-Filho, H., Waldschmidt, A. M, Campos, L. A. O., Tavares, M. G. & Fernandes-Salomão, T. M. (2010). Phylogeography and historical demography of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 534-547.

Batalha-Filho, H., & Miyaki, 2011. Filogeografia da Mata Atlântica. Phylogeography of the Atlantic Forest. *Revista da Biologia. Vol. Esp. Biogeografia: 31-34*

Barros, C. S, Crouzeilles, R., & Fernández, F.A.S., 2008 - Reproduction of the Opossums *Micoureus paraguayanus* and *Philander frenata* in a Fragmented Atlantic Forest Landscape in Brazil: Is Seasonal Reproduction a General Rule for Neotropical Marsupials? - *Mammalian Biology* 73: p463-467.

Bennett, C.V., Goswami, A., 2013. Statistical support for the hypothesis of developmental constraint in marsupial skull evolution. *BMC Biology* 11:52

Bergallo, H. G., & Cerqueira, R. 1994. Reproduction and growth of the opossum *Monodelphis domestica* (Mammalia, Didelphidae) in northeastern Brazil. *Journal of Zoology (London)* 232:551–563.

Berta, A. & Sumich, J. L. 1999. *Marine Mammals, Evolutionary Biology*. Academic Press, San Diego, California.

Bertolotto, C.E.V. 2006. *Enyalius* (Leiosauridae, Squamata): o que os dados moleculares e cromossômicos revelam sobre esse gênero de lagartos endêmico do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo.

Bookstein, F.L., 1978. *The measurement of biological shape and shape change*. Springer-Verlag, Berlin.

Bookstein, F. L. 1989. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 11, 567–585.

Bookstein, F. L. 1991 - *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge.

Bookstein, F. L. 1996. Standard formula for the uniform shape component in landmark data. In *Advances in Morphometrics* (L. F. Marcus, M. Corti, A. Loy et al., eds) pp. 153–168. Plenum Press.

Bookstein, F. L. 1998 - A hundred years of morphometrics. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.*, 44: 7-59.

Bornholdt, R., Oliveira, L.R. & Fabián, M. E. 2008 Size and shape variability in the skull of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera: Vespertilionidae) from two geographic areas in Brazil. *Braz. J. Biol.*, 68(3): 623-631.

Butler, M. A., & J. B. Losos. 2002. Multivariate sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in Greater Antillean *Anolis* lizards. *Ecol. Monogr.* 72:541–559.

Braun, J.K, Mares, M.A. 1995. The Mammals of Argentina: An Etymology – Mastrozoologia Neotropical 2: p173-206.

Brown, K.S. & Ab'sáber, A. N. 1979. Ice – ages forest refuges and evolution in the neotropics: correlation of paleoclimatological, geomorphological, and pedological data with modern biological endemism. *Paleoclimas* 5, 1-30.

Brown, B.E. 2004. Atlas of New World marsupials. *Fieldiana Zoology (New Series)* 102: i–vii, 1–308.

Brown, J. H. & Lomolino, M. V., 2006. *Biogeografia*. 2ª ed. Trad: Iulo Feliciano Afonso. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora.

Cabanne G. S, Santos F. R, & Miyaki C. Y. 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society* 91: 73–84.

Cabanne, G. S., D'horta, F. M., Sari, E. H. R., Santos, F. R. & Miyaki, C. Y. (2008). Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49, 760-773.

Cabrera, A. 1958 (“1957”). Catálogo de los mamíferos de América del Sur [part 1]. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (Ciencias Zoológicas)* 4(1): i–iv, 1–307. Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.

Cáceres, N. C. 2006. Uso do espaço por marsupiais: fatores influentes, comportamento e heterogeneidade espacial. Pp. 203– 215 in *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução* (N. C. Cáceres & Monteiro-Filho E. L. A., eds.). Editora da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil.

Cardini, A., Jansson, Anna-Ulla, & Elton, S. 2007. A geometric morphometric approach to the study of ecogeographical and clinal variation in vervet monkeys. *J. Biogeogr.* 34, 1663–1678.

- Carnaval A. C., & Moritz C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Biogeography* 35: 1187–1201.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F. B., Rodrigues, M. T. & Moritz, C., 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science* 323, 785-789.
- Castro-Arellano, I., Zarza, H., & Medellín, R.A. 2000. *Philander opossum*. *Mamm. Sp.* 638, 1–8.
- Chapman, R.E., 1990. Conventional Procrustes approaches. In: Rohlf F.J., Bookstein F.L. (Eds.) *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, MI. 251–267.
- Cheverud, J. M. 1995. Morphological Integration in the Saddle-Back Tamarin (*Saguinus fuscicollis*) Cranium. *The American Naturalist*, 145: 63-89.
- Cerqueira, R., & B. Lemos. 2000. Morphometric differentiation between Neotropical black-eared opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). *Mammalia* 64: 319–327.
- Cimardi, A.V., 1996 - Mamíferos de Santa Catarina - FATMA, Florianópolis.
- Clark, C.T., Smith, K.K. 1993. Cranial osteogenesis in *Monodelphis domestica* (Didelphidae) and *Macropus eugenii* (Macropodidae). *J Morphol*, 215:119–149.
- Costa L. P., 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography* 30: 71–86.
- Costa L. P, Leite Y. L. R., Da Fonseca G. A. B., Da Fonseca M. T., 2000. Biogeography of South American forest mammals: endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica* 32: 872–881.
- Costa, L.P. & Patton, J.L., 2006. Diversidade e limites geográficos e sistemáticos de marsupiais brasileiros. *Em: Cáceres N. C. & Monteiro Filho E. L. A. (Eds.), Os Marsupiais do Brasil. Biologia, Ecologia e Evolução*. Editora UFMS, Campo Grande, pp. 321–341.
- Cox, R. M., Stenquist, D. & Calsbeek, R., 2009. Testosterone, growth and the evolution of sexual size dimorphism. *J. Evol. Biol.* 22:1586–1598.
- Charles-Dominique, P., 1983. Ecology and social adaptations in didelphid marsupials: comparison with eutherians of similar ecology. Pp. 341–435 in *Advances in the study of mammalian behavior* (J. F. Eisenberg & D. G. Kleiman, eds.). Special Publication 7, The American Society of Mammalogists. *Em: Astúa De Moraes, D. 2010. Cranial sexual dimorphism in New World marsupials and a test of Rensch's rule in Didelphidae. Journal of Mammalogy*, 91(4):1011-1024.

- Chemisquy, M. A. & Flores, D., A., 2012. Taxonomy of the southernmost populations of *Philander* (Didelphimorphia, Didelphidae), with implications for the systematics of the genus. *Zootaxa* 3481: 60–72.
- Costa, L., Brito, D., de la Sancha, N. & Flores, D., 2011. *Philander frenatus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 24 March 2014
- Cunha, A.A, & Vieira, M.V., 2002. Support Diameter, Incline and Vertical Movements of Four Didelphid Marsupials in the Atlantic Forest of Brazil - *Journal of Zoological Society of London* 258: p419-426.
- Crisci, J.V., Katinas, L. & Posadas, P., 2003. *Historical Biogeography: an introduction*. Cambridge, Harvard University Press.
- Davis, D. E. 1947. Notes on the life histories of some Brazilian mammals. *Bol. Mus. Nac., Rio de Janeiro, n. ser., zool.* 76:1–8. Em: Gardner, 2009. *Mammals of South América*.
- Diaz, M. M., & D. A. Flores., 2008. Early reproduction onset in four species of *Didelphimorphia* in the Peruvian Amazonia. *Mammalia* 72:126–130.
- Ditchfield, A.D., 2000. The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. *Molecular Ecology* 9: 1.307-1.318.
- Dos Reis M, Inoue J, Hasegawa M, Asher RJ, Donoghue PCJ, Reis M, & Yang Z., 2012. Phylogenomic datasets provide both precision and accuracy in estimating the timescale of placental mammal phylogeny. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 279:3491–3500.
- Dryden I. L., & Mardia K. V., 1998. *Statistical shape analysis*. John Wiley & Sons, New York.
- Eizirik, E., Kim J-H., Menotti-Raymond M., P. G. CraWshaw J. R., S. J. O'brien, & Johnson, W. E. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Molecular Ecology* 10: 65-79.
- Emlen, D. J., Q. Szafran, L. S. Corley, & I. Dworkin., 2006. Insulin signaling and limb-patterning: candidate pathways for the origin and evolutionary diversification of beetle 'horns'. *Heredity* 97:179–191.
- Emmons, L.H., & Feer, F., 1997. *Neotropical Rainforest Mammals: A Field Guide*. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Flores, D.A., Díaz, M.M.& Barquez, R.M., 2007. Systematics and distribution of marsupials in Argentina: a review. *University of California Publications in Zoology* 134: 579–669.

Flores, D.A., Barquez, R. & Díaz, M., 2008. A new species of *Philander* Brisson, 1762 (Didelphimorphia, Didelphidae). *Mammalian Biology*, 73, 14–24.

Flower, W.H., 1867. On the development and succession of the teeth in the Marsupialia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 157: 631–641 + pls. 29, 30.  
Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.

Fonseca, S.D. & Cerqueira, R., 1991. Water and Salt Balance in a South American Marsupial, the Gray Four-eyed Opossum *Philander opossum*. *Mammalia* 55: p421-432.

Fonseca, G.A.B., & Kierulff, M.C.M., 1989. Biology and natural history of Brazilian Atlantic Forest small mammals. *Bull. Fla. Mus. Nat. Hist.* 34, 99–152.

Fonseca, G.A.B. da, Herrmann, G. & Leite Y.L.R., 1999. Macrogeography of Brazilian mammals. In : J. F. Eisenberg & K.H. Redford (eds.). *Mammals of the Neotropics: the central Neotropics*. Vol. 3, Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. pp 549-563. The University of Chicago Press, Chicago, EUA.

Fruciano, C., Tigano C, & Ferrito V., 2011. Traditional and geometric morphometrics detect morphological variation of lower pharyngeal jaw in *Coris julis* (Teleostei, Labridae). *Italian Journal of Zoology* 78(3), 320-327.

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística., 1988. Mapa de vegetação do Brasil. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística., 1993. Recursos naturais e meio ambiente: uma visão do Brasil. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Galindo-Leal, C. & Câmara, I. G., 2005. Status do hotspot Mata Atlântica: uma síntese. Capítulo 1. In: Galindo-Leal, C. & Câmara, I.G. (Eds). *Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 3-11 pp.

Galindo-Leal, C., Jacobsen, T. R., Langhammer, P. F. & Olivieri, S. (2005). Estado dos hotspots: a dinâmica da perda de biodiversidade. Capítulo 2. In: Galindo-Leal, C. e Câmara, I. G. (Eds). *Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 12-23 pp.

Gardner, A. L., 1973. The systematics of the genus *Didelphis* (Marsupialia: Didelphidae) in North and Middle America. *Special Publications, The Museum, Texas Tech University* 4:4–81.

Gardner, A.L., 1981. The Mammals of Suriname (review). *J. Mamm.* 62, 445–448.

- Gardner, A.L., 1993. Order Didelphimorphia. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.), *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, second ed. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 15–27.
- Gardner, A.L., 2007 - *Mammals of South America Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats* - University of Chicago Press.
- Gardner, A.L., Patton, J.L., 1972. New species of Philander (Marsupialia: Didelphidae) and Mimon (Chiroptera: Phyllostomidae) from Perú. *Occas. Pap. Mus. Zool.* 43, 1–11.
- Gidaszewski, N. A., M. Baylac, & C. P. Klingenberg., 2009. Evolution of sexual dimorphism of wing shape in the *Drosophila melanogaster* subgroup. *BMC Evol. Biol.* 9:110.
- Grazziotin, F. G, Monzel M, Echeverrigaray, S. Bonatto, S. 2006. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology* 15: 3969–3982.
- Gardner, A. L. 2007. *Mammals of South America, Vol. 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats*. Chicago: The University of Chicago Press, 690 p.
- Goodall, C. R., 1991. Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *J. R. Stat. Soc. B*, 53: 285-339.
- Gower J.C., 1975. Generalized Procrustes analysis. *Psychometrika* 40: 33–51. Em: Klingenberg, C. P. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*. Vol. 24 (1): 15–24.
- Hall, E.R., 1981. *The mammals of North America*. 2nd ed. New York: Wiley, 2 vols. Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.
- Hammer, Ø., 2011. PAST ver. 3.0 Available: <http://norges.uio.no/past/> download.html.
- Hamilton, W.J., Jr. 1958. Life history and economic relations of the opossum (*Didelphis marsupialis virginiana*) in New York State. *Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir* 354: 1–48. Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.
- Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165, 131-137.
- Hedrick A. V., & Temeles J. E. 1989. The Evolution of Sexual Dimorphism in Animals: Hypotheses and Tests. *Tree*. Vol. 4,5.

- Herskovitz, P., 1949. Generic names of the four-eyed pouch opossum and the woolly opossum (Didelphidae). Proc. Biol. Soc. Wash. 62, 11–12.
- Herskovitz, P., 1976. Comments of generic names of four-eyed opossums (Family Didelphidae). Proc. Biol. Soc. Wash. 89, 295–304.
- Herskovitz, P., 1981. Philander and four-eyed opossum once again. Proc. Biol. Soc. Wash. 93, 943–946.
- Herskovitz, P., 1992. The South American gracile mouse opossums, genus *Gracilinanus* Gardner and Creighton, 1989 (Marmosidae, Marsupialia): a taxonomic review with notes on general morphology and relationships. Field. Zool. (n. ser.) 70, 1–56.
- Herskovitz, P. 1997. Composition of the Family Didelphidae Gray 1821 (Didelphoidea: Marsupialia) with a Review of the Morphology and Behaviour of the Included Four-eyed Pouched Opossums of the Genus *Philander* Tiedemann 1808 - Fieldiana 86.
- Herring, S.W. 1993 Epigenetic and functional influences on skull growth. In: The Skull, Vol. 1. J. Hanken and B.K. Hall, eds. Univ. of Chicago Press, Chicago, pp. 153-206.
- Hingst, E, D'Andrea, P.S, Santori, R., Cerqueira, R., 1998 - Breeding of *Philander frenata* (Didelphimorphia, Didelphidae) in Captivity - Laboratory Animals 32: p434-438.
- Husson, A.M., 1978. The Mammals of Suriname. Rijk. Nat. Hist. Monogr. 2, 1–569.
- Kirsch J.A.W. 1977. Biological aspects of the marsupial-placental dichotomy: a reply to Lillegraven. Evolution, 31:898–900.
- Kendall, D.G. 1984. Shape-manifolds, Procrustean metrics, and complex projective spaces. Bull. London Math. Soc. 16, 81-121.
- Kelly, E.M., & Sears, K.E., 2011. Limb specialization in living marsupial and eutherian mammals: constraints on mammalian limb evolution. J Mammal, 92:1038–1049.
- Kelly E.M, & Sears K,E. 2011. Reduced phenotypic covariation in marsupial limbs and the implications for mammalian evolution. Biol J Linn Soc Lond, 102:22–36.
- Klingenberg, C.P., McIntyre G.S., 1998 - Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. Evolution, 52: 1363-1375.
- Klingenberg, C.P., Zaklan, S.D., 2000. Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. Evolution, 54, 1273–1285.
- Klingenberg, C. P., Badyaev, V. A., Sowry, M. S., & Beckwith, J. N. 2001. Inferring Developmental Modularity from Morphological Integration: Analysis of Individual Variation and Asymmetry in Bumblebee Wings. Am. Nat. Vol. 157, pp. 11–23.

- Klingenberg, C.P., Barluenga, M., Meyer, A., 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56: 1909–1920.
- Klingenberg, C.P., Barluenga, M., Meyer, A., 2003. Body shape variation in cichlid fishes of the *Amphilophus citrinellus* species complex. *Biol. J. Linn. Soc.* 80: 397–408.
- Klingenberg, C.P., Monteiro, L.R., 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Syst. Biol.* 54: 678–688.
- Klingenberg, C.P., 2008. Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 39, 115–132.
- Klingenberg, C. P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357
- Klingenberg, C. P. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*. Vol. 24 (1): 15–24.
- Lemos, B., & R. Cerqueira. 2002. Morphological differentiation in the white-eared opossum group (Didelphidae: Didelphis). *Journal of Mammalogy* 83: 354–369.
- Lemos, B., Marroig, G., Cerqueira R. 2001. Evolutionary rates and stabilizing selection in large-bodied opossum skulls (Didelphimorphia: Didelphidae). *J. Zool., Lond.* 255, 181-189.
- Lew, D., Pérez-Hernández, R., Ventura, J., 2006. Two new species of *Philander* (Didelphimorphia, Didelphidae) from Northern South America. *J. Mamm.* 87, 224–237.
- Lillegraven, J. A. 1974. Biogeographical considerations of the marsupial-placental dichotomy. *Annu Rev Ecol Syst*, 5:263–283. Em: Bennett, C. V., Goswami, A. 2013. Statistical support for the hypothesis of developmental constraint in marsupial skull evolution. *BMC Biology* 11:52
- Linares, O.J. 1998. *Mamíferos de Venezuela*. Caracas: Sociedad Conservacionista Audubon de Venezuela.
- Lindenfors, P., Tullberg, B. & Biuw, M., 2002. Phylogenetic analyses of sexual selection and sexual size dimorphism in pinnipeds. *Behavior, Ecology and Sociobiology* 52: 188-193.
- Lira, P.K., Fernandez, F.A.S., Carlos, H.S.A., Curzio, P.L., 2007. Use of a fragmented landscape by three species of opossum in south-eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 23, 427–435.

- Lira, P. K, Dos Santos Fernandez F. A. 2009. A comparison of trapping-and radio telemetry based estimates of home range of the neo tropical opossum *Philander frenatus* Mamm. biol. 74, 1–8.
- López-Fuster, M. J., R. Perez-Hernandez, J. Ventura, & M. Salazar. 2000. Effect of environment on skull-size variation in *Marmosa robinsoni* in Venezuela. *Journal of Mammalogy* 81:829.
- López-Fuster, M. J., M. Salazar, R. Pérez-Hernández, & J. Ventura. 2002. Craniometrics of the orange mouse opossum *Marmosa xerophila* (Didelphimorphia: Didelphidae) in Venezuela. *Acta Theriologica* 47:201–209.
- Losos, B. J., Schoener, W. T., Warheit, I. K., & Creer, D. 2001. Experimental studies of adaptive differentiation in Bahamian *Anolis* Lizards. *Genetica* 112-113: 399-415.
- Lockett, W. P., & N. Hong. 2000. Ontogenetic evidence for dental homologies and premolar replacement in fossil and extant Caenolestids (Marsupialia). *Journal of Mammalian Evolution* 7:109–127.
- Ladevèze, S, Smith R, Smith T. 2012. Reassessment of the morphology and taxonomic status of the earliest herpetotheriid marsupials of Europe. *J Mamm Evol*, 19:249–261.
- Lillegraven, J.A. 1974. Biogeographical considerations of the marsupial-placental dichotomy. *Annu Rev Ecol Syst*, 5:263–283.
- Lockett, W.P., 1993. An ontogenetic assessment of dental homologies in therian mammals. Em: F.S. Szalay, M.J. Novacek, & M.C. McKenna (editors), *Mammal phylogeny: Mesozoic differentiation, multituberculates, monotremes, early therians, and marsupials*, New York: Springer 182–204.
- Luo, Z-X., Ji, Q., Wible, J.R., Yuan C-X. 2003. An Early Cretaceous tribosphenic mammal and metatherian evolution. *Science*, 302:1934–1940.
- Luo, Z.-X., Kielan-Jaworowska, Z., & Cifelli, R.L., 2004. Evolution of dental replacement in mammals. *Bulletin of the Carnegie Museum of Natural History* 36: 159–175. Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.
- Luo, Z-X, Yuan, C-X, Meng, Q-J, Ji Q. 2011. A Jurassic eutherian mammal and divergence of marsupials and placentals. *Nature*, 476:442–445.
- Macedo, J., Loretto D., Vinícius Vieira M., & Cerqueira R. 2006. Classes de desenvolvimento em marsupiais: um método para animais vivos.

- Macedo, L., Fernandez, F.A.S., & Nessimian, J.L., 2009. Feeding ecology of the marsupial *Philander frenatus* in a fragmented landscape in Southeastern Brazil. *Mamm. biol.* 75: 363–369
- Maier, W. 1993. Cranial morphology of the therian common ancestor, as suggested by the adaptations of neonate marsupials. In *Mammal phylogeny: Mesozoic differentiation, multituberculates, monotremes, early therians, and marsupials*. Edited by Szalay FS, Novacek MJ, McKenna MC. New York: Springer: 165–181.
- Marcus, L. F., Hingst-Zaher, E., Zaher, H., 2000. Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix*, 11: 27-47.
- Mardia, K.V., Bookstein, F.L., Moreton, I.J., 2000. Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. *Biometrika*. 87: 285–300.
- Martins, L.R., Coutinho, P.N., 1981. The Brazilian continental margin. *Earth-Science Reviews* 17: 87–107.
- Martins, De M.F., 2011. Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? *Biological Journal of the Linnean Society*. 104: 499–509.
- Marroig, G., & Cerqueira, R., 1997. Plio-Pleistocene South America history and the Amazon Lagoon hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. *J. comp. Biol.* 2: 103±119.
- Marroig, G. & Cheverud, J. M., 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World monkeys. *Evolution* 55(12): 2576-2600.
- Marroig, G., Shirai, L. T., Porto, A., Oliveira, F. B. & Conto, V., 2009. The evolution of the modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences. *Evolutionary Biology* 36(1): 136-148.
- Martin, K. E. A., & S. Mackay. 2003. Postnatal development of the fore- and hindlimbs in the grey short-tailed opossum, *Monodelphis domestica*. *J. Anatomy* 202:143–152.
- Martins, F. M., Templeton, A. R., Pavan, A. C. O., Kohlbach, B. C. E Morgante, J. S., 2009. Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. *BMC Evolutionary Biology* 9, 294.
- Mcglathlin, J. W., & E. D. Ketterson., 2008. Hormone-mediated suites as adaptations and evolutionary constraints. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 363:1611–1620.
- Mitteroecker, P., Gunz, P., Windhager, S., & Schaefer, K., 2013. A brief review of shape, form, and allometry in geometric morphometrics, with applications to human facial morphology. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*. Vol. 24 (1): 59–66.

- Mikula, O., Macholán, M., 2008. There is no heterotic effect upon developmental stability in the ventral side of the skull within the house mouse hybrid zone. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1055–1067.
- Miyaki, C. Y. 2005. Filogeografia e a descrição da diversidade genética da fauna brasileira. *Megadiversidade*. 5: 1-2
- MMA. (2002). Avaliação e Identificação de Áreas e Ações Prioritárias Para a Conservação, Utilização Sustentável e Repartição dos Benefícios da Biodiversidade nos Biomas Brasileiros. Brasília: MMA/SBF.
- Monteiro L.R., dos Reis S.F., 1999. Princípios de morfometria geométrica. Holos, Ribeirão Preto.
- Moore, W. J., 1981. The mammalian skull. Cambridge: Cambridge University Press.
- Moura M.C, Capparelli A.C, Freitas S.R, Vieira M.V., 2005. Scale Dependent Habitat Selection in Three Didelphid Marsupials Using the Spool and Line Technique in the Atlantic Forest of Brazil - *Journal of Tropical Ecology* 21: p337-342.
- Moraes-Barros, N, Silva J.A.B., Miyaki, C.Y., Morgante, J.M., 2006. Comparative phylogeography of the Atlantic forest endemic sloth (*Bradypus torquatus*) and the widespread three-toed sloth (*Bradypus variegatus*) (Bradypodidae, Xenarthra). *Genetica* 126: 189–198.
- Moritz, C., Patton, J. L., Schneider, C. J. E Smith, T. B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31, 533-563.
- Muizon, C. de., R.L. Cifelli, & R.C. Paz. 1997. The origin of the dog-like borhyaenoid marsupials of South America. *Nature* 389: 486–489.
- Maunz, M., & R. Z. German. 1996. Craniofacial heterochrony and sexual dimorphism in the short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). *Journal of Mammalogy* 77:992.
- Novacek, M. J., Wyss, A. 1986. Higher-level relationships of the recent eutherian orders: morphological evidence. *Cladistics* 2, 257-287. Em: Rose, K. D., 2006. The beginning of the age of mammals. The Johns Hopkins University Press.
- Nuzzo, R., 2014. Statistical Errors. P-values, the gold standard of statistical validity, are not as reliable as many scientists assume. *Nature*. Vol. 506.
- Oliveira, J. A., M. L. Lorini, & V. G. Persson. 1992. Pelage variation in *Marmosa incana* (Didelphidae, Marsupialia) with notes on taxonomy. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 57:129–136.

- Olson, E. C., & Miller, R. L. 1958. Morphological integration. Chicago: University of Chicago Press.
- Pamilo, P. 1988. Genetic variation in heterogeneous environments. *Ann Zool Fenn* 25: 99-106
- Palmer, T.S. 1904. Index generum mammalium: A list of the genera and families of mammals. *North American Fauna*, 23:1-984.
- Patton, J.L., & L.P. Costa. 2003. Molecular phylogeography and species limits in rainforest didelphid marsupials of South America. In M.E. Jones, C.R. Dickman, and M. Archer (editors), *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials*, 63–81. Melbourne: CSIRO Press.
- Patton, J.L. & Da Silva, M.N.F. (1997) Definition of Species of Pouched Four-Eyed Opossums (Didelphidae, Philander). *Journal of Mammalogy* 78, 90–102
- Patton, J.L., & da Silva M.N.F. 2008 (“2007”). Genus *Philander* Brisson, 1762. In A.L. Gardner (editor), *Mammals of South America. Vol. 1. Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*, 27–35. Chicago: Chicago University Press.
- Patton, J.L., da Silva, M.N.F., & Malcolm, J.R. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 244: 1–306.
- Pellegrino, K. C. M, Rodrigues, M. T, Waite A. N, Morando M, Yassuda Y. Y, Sites J. W. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 13–26.
- Perez, S. I., Diniz-Filho, J. A. F., Bernal, V. & Gonzalez, P. N., 2010. Spatial regression techniques for inter-population data: studying the relationships between morphological and environmental variation. *Journal of Evolutionary Biology* 23, 237–248.
- Peres-Neto, P. R., & Bizerril, C.R.S.F. 1994. The jackknifing of multivariate allometric coeficiente (Jolicouer 1963): a case study on allometry and morphometric variation in *Corydoras barbatus* (Quoy & Gaimard, 1824), Em: Peres-Neto, P. R., Valentin, J. L., Fernandez, F. 1995. Tópicos em tratamentos de dados biológicos. Introdução a análises morfométricos. *OECOLOGIA BRASILIENSIS*, p.57-89. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Peres-Neto, P. R., Valentin, J. L., Fernandez, F. 1995. Tópicos em tratamentos de dados biológicos. Introdução a análises morfométricos. *OECOLOGIA BRASILIENSIS*, p.57-89. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Pine, R.H., 1973. Anatomical and nomenclatural notes on opossums. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 86, 391–402.

Pine, R. H., P. L. Dalby, & Matson J. O. 1985. Ecology, postnatal development, morphometrics, and taxonomic status of the short tailed opossum, *Monodelphis dimidiata*, an apparently semelparous annual marsupial. *Annals of Carnegie Museum* 54:195–231.

Pires A. S, Fernandez F. A. S, Schittini G. M, Oliveira L. C 2002 - Frequency of Movements of Small Mammals Along Coastal Atlantic Forest Fragments in Brazil - *Biological Conservation* 108: p229-237.

Porto, A., Oliveira, F. B., Shirai, L. T., Conto, V., & Marroig, G., 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology* 36(1): 118-135.

Posadas, P., Crisci, J.V. & Katinas, L., 2006. Historical biogeography: a review of its basic concepts and critical issues. *Journal of Arid Environments* 66, 389-403.

Pough, F. H.; Janis, C. M.; Heiser, J. B. 2008. *A vida dos vertebrados*. Atheneu editora são Paulo.

Preuschoft H, Witzel U. (2005). Functional shape of the skull in vertebrates: which forces determine skull morphology in lower primates and ancestral synapsids?

Rafferty, K. L, Herring S. W, Artese F. (2000). Three-dimensional loading and growth of the zygomatic arch. *The Journal of Experimental Biology* 203, 2093–3004.

Ranz, J. M., C. I. Castillo-Davis, C. D. Meiklejohn, & D. L. Hartl. 2003. Sex-dependent gene expression and evolution of the *Drosophila* transcriptome. *Science* 300:1742–1745.

Recoder, R. 2011. Biogeografia baseada em eventos: uma introdução. Event-based biogeography: na introduction *Revista da Biologia (2011) Vol. Esp. Biogeografia: 18-25*

Redford, K.H, & Eisenberg, J.F. 1992 - *Mammals of the Neotropics: Volume 2, The Southern Cone* - University of Chicago Press, Chicago.

Reid, F.A. 1997. *A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico*. New York: Oxford University Press.

Reig, O.A., Kirsch, J.A.W., & Marshall, L.G., 1987. Systematic relationships of the living and Neocenoic American opossum-like marsupials (suborder Didelphimorphia) with comments on the classification of these and of the Cretaceous and Paleocene New World and European metatherians. Em: Archer, M. (Ed.), *Possums and Opossums: Studies in Evolution*, vol. I. Surrey Beatty and Sons Pty. Ltd. and Royal Zoological Society of New South Wales, Sydney, pp. 1–92.

Reis, S.F., dos, Duarte, L.C, Monteiro, L.R, & Von Zuben, F.J., 2002. Geografic variation in cranial morphology in *Thricomys apereoides* (Rodentia: Echimydae). I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. *Journal of Mammalogy* 83(2): 333-344.

Reis, S. F. dos, Duarte L. C, Monteiro L. R, & Von Zuben F. J 2002. Geografic variation in cranial morphology in *Thricomys apereoides* (Rodentia: Echimydae). II. Geographic units, morphological discontinuities, and sampling gaps. *Journal of Mammalogy* 83(2): 333-344.

Ribas, C. C., R. Gaban-Lima, C. Y. Miyaki & J. Cracraft, 2005. Historical biogeography and diversification within the Neotropical parrot genus “*Pionopsitta*” (Aves; Psittacidae). *Journal of Biogeography* 32: 1409-1427.

Ribeiro, R. A., Lemos-Filho, J. P., Ramos, A. C. S. & Lovato, M. B., 2010. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity* 1-12.

Rizzini, C. T., 1997. *Tratado de Fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. Âmbito Cultural Edições Ltda., Rio de Janeiro. 747p.

Rohlf, F. J. & Slice, D. E., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39, 40–59.

Rohlf, F. J. & Marcus L. F., 1993 - A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evol.*, 8: 129-132.

Rohlf, F. J., 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic Biology*, 47, 147–158.

Rohlf, F.J., 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J. Classif.* 16: 197–223.

Rohlf, F. J., 2013. TPSDig. Available from the author at Department of Ecology and Evolution, State University of New York at SUNY Stony Brook.

Rohlf, F. J., 2013. Tps Series. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York. Available: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Accessed 2011 June 8.

Rosa De Oliveira, L. Hingst-Zaher E, & Morgante J. S., 2005., Size and shape sexual dimorphism in the skull of the South American fur seal, *arctocephalus australis* (zimmermann, 1783) (carnivora: otariidae). *LAJAM* 4(1): 27-40

Rose, K. D., 2006. *The beginning of the age of mammals*. The Johns Hopkins University Press.

Rossi, R. V., Voss, R. S., Lunde., D. P. 2010. A revision of the Didelphid marsupial genus *Marmosa* part 1. The species in Tate's 'mexicana' and 'mitis' sections and other closely related forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History*.

Rougier, G.W., J.R. Wible, & M.J. Novacek. 1998. Implications of Deltatheridium specimens for early marsupial history. *Nature* 396: 459–463. Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.

Sanger, T. J., Sherratt, E., McGlothlin, J. W., Brodie III, E. D., Losos, J. B., & Abzhanov, A. 2013. Convergent evolution of sexual dimorphism in skull shape using distinct developmental strategies. *Evolution*. doi:10.1111/evo.12100

Santori, R.T., Astúa de Moraes, D., Grelle, C.E.V., Cerqueira, R., 1997. Natural diet at a Restinga Forest and laboratory food preferences of the opossum *Philander frenata* in Brazil. *Stud. Neotrop.FaunaEnviron.*32,12–16.

Sears, K. E., 2004. Constraints on the morphological evolution of marsupial shoulder girdles. *Evolution*, 58:2353–2370. Em: Bennett, C. V., Goswami, A. 2013. Statistical support for the hypothesis of developmental constraint in marsupial skull evolution. *BMC Biology* 11:52

Sebastiao, H, & Marroig, G. 2013. Size and shape in cranial evolution of 2 marsupial genera: *Didelphis* and *Philander* (Didelphimorphia, Didelphidae). *Journal of mammalogy*, 94(6):000-000.

Shirai, L.T., & Marroig, G., 2010. Skull modularity in Neotropical marsupials and monkeys: size variation and evolutionary constraint and flexibility. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution* 314B: 1-21-

Siegel, A.F., Benson, R.H., 1982. A robust comparison of biological shapes. *Biometrics* 38: 341–350.

Simpson, G.G., 1972. Didelphidae from the Chapadmalal Formation in the Museo Municipal de Ciencias Naturales of Mar del Plata. *Pub. Mus. Mun. Cienc. Nat. Mar del Plata*. 2, 1–40.

Slice, D. E., 2001 - Landmark coordinates aligned by Procrustes analysis do not lie in Kendall's shape space. *Syst. Biol.*, 50: 141-149.

Small, C. G., 1996. *The statistical theory of shape*. Springer-Verlag, New York.

Smith, P., 2009 Southeastern four-eyed opossum *Philander frenatus* (Desmarest, 1804). *FAUNA Paraguay Handbook of the Mammals of Paraguay*. 9: 1–11.

Sneath, P.H.A., 1967. Trend-surface analysis of transformatron grids. *Journal of Zoology* 151: 65–122.

Springer, M.S., Kirsch, J.A.W., & Case, J.A., 1997. The chronicle of marsupial evolution. Em: T.J. Givnish and K.J. Sytsma (editors), *Molecular evolution and adaptive radiation*, 129–161. Cambridge: Cambridge University Press. Em: Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.

Steiner, C., & F. M. Catzeflis. 2003. Mitochondrial diversity and morphological variation of *Marmosa murina* (Didelphidae) in French Guiana. *Journal of Mammalogy* 84:822.

Steppan, S. J., Phillips, P. C. & Houle, D., 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17(7); 320-327.

Suguio, K., Ângulo, R.J., Carvalho, A.M., Corrêa, I.C.S., Tomazelli, L.J., Willwock, J.A., Vital, H., 2005. Paleoníveis do mar e paleolinhas de costa. In: Souza C.R.G., Suguio, K., Oliveira, A.M.S., Oliveira, P.E., eds. *Quaternário do Brasil*. Ribeirão Preto: Holos. 114–129.

Timm, N. H., 2002. *Applied multivariate analysis*. New York, Springer.

Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera JR., F. A. & Alexandrino, J. M. B. (2010). Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 55: 1018-1031.

Thompson, D.W., 1917. *On Growth and Form*. Cambridge, London.

Tribe, C. J., 1990. Dental age classes in *Marmosa incana* and other didelphoids. *Journal of Mammalogy* 71: 566–569.

Trussell, C. G., & Etter, J. R. 2001. Integrating genetic and environmental forces that shape the evolution of geographic variation in a marine snail. *Genetica* 112-113: 321-337.

Tyndale-Biscoe, C. H., & R. B. Mackenzie. 1976. Reproduction in *Didelphis marsupialis* and *D. albiventris* in Colombia. *Journal of Mammalogy* 57:249–265.

Tyndale-Biscoe, C. H., & M. B. Renfree. 1986. *Reproductive physiology of marsupials*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Vanzolini, P. E. & Williams, E. E. (1970). South American anoles: The geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). *Arquivos de Zoologia de São Paulo* 19, 1-298.

- Ventura, J., R. Pérez-Hernández, & M.J. López-Fuster. 1998. Morphometric assessment of the *Monodelphis brevicaudata* group (Didelphimorphia: Didelphidae) in Venezuela. *Journal of Mammalogy* 79: 104–117.
- Vieira, E.M., & Monteiro Filho, E., 2003. Vertical stratification of small mammals in the Atlantic rain forest of south- eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 19, 501–507.
- Viscosi, V., & Cardini, A. 2011. Leaf Morphology, Taxonomy and Geometric Morphometrics: A Simplified Protocol for Beginners. *PLoS ONE* 6(10).
- Voss, R.S., A.L. Gardner, & Jansa S.A. 2004. On the relationships of “*Marmosa*” *formosa* Shamel, 1930 (Marsupialia: Didelphidae), a phylogenetic puzzle from the Chaco of northern Argentina. *American Museum Novitates* 3442: 1–18.
- Voss, R.S., 1988. Systematics and ecology of ichthyomyine rodents (Muroidea): Patterns of morphological evolution in a small adaptative radiation. *Bull Am Mus Nat Hist* 188: 260-493.
- Voss, R. S, Marcus L. F, Escalante P., 1990. Morphological evolution in muroid rodents I. Conservative patterns of craniometric covariance and their ontogenetic basis in the neotropical genus *Zygodontomys*. *Evolution* 44: 1568-1587
- Voss, R.S. & Jansa, S.A. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, and extant radiation of New World methatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 32, 1–177.
- Webster, M., & Sheets, H. D. 2010. A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. *The Paleontological Society Papers*, Vol. 16, pp. 163-188.
- Williams, T. M., & S. B. Carroll. 2009. Genetic and molecular insights into the development and evolution of sexual dimorphism. *Nat. Rev. Genet.* 10:883–883.
- Wilson, D.E, & Reeder, D.M. 2005. *Mammal Species of the World*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- ZAR, J. H., 1996. *Biostatistical analysis*. 3rd ed. Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L., 2004. *Geometric Morphometrics for Biologist: A Primer*. Elsevier Academic Press, San Diego.

## 7. – ANEXOS

Anexo 1 - Exemplares utilizados nas análises morfométricas, indicando a sigla da coleção científica de procedência, número de tomo do exemplar, sexo, quadrante de localização no mapa, bloco geográfico nas análises por Macrolocalidades1 e Macrolocalidades2, localidade de coleta e estado brasileiro. As siglas das coleções científicas são as seguintes: (MNRJ) Museu Nacional, Universidade Federal de Rio de Janeiro, (MZUSP) Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, (MBML) Museu de Biologia Professor Mello Leitão no Espírito Santo, (UFMG) Universidade Federal de Minas Gerais, (UFES) Coleção de mamíferos da Universidade Federal de Espírito Santo, (MZUFV) Museu de Zoologia da Universidade Federal de Viçosa, (PUC) Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, (UFLA) Museu de Zoologia da Universidade Federal de Lavras.

Coleção e exemplar	sexo	quadrante	bloc o M1	bloco M2	Localidade	Estado
UFMG_2186	m	e2	A	A1	Uma	BA
UFES_2304	m	Z14	A	A2	São José do Calçado	ES
MBML_136	m	b14	A	A2	Itapemirim	ES
MBML_2031	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MBML_210	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MBML_2635	m	a13	A	A2	Castelo	ES
MBML_358	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_29927	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_29928	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_29929	m	c12	A	A2	Vila Velha	ES
MNRJ_29932	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_30161	m	c12	A	A2	ES	ES
MNRJ_5583	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_5691	m	c12	A	A2	Vila Velha	ES
MNRJ_5745	m	c12	A	A2	Vila Velha	ES
MNRJ_5769	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_8301	m	b12	A	A2	Campinho	ES
MZUSP_10416	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MZUSP_6206	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES

UFES_1623	m	b11	A	A2	Itaguaçu	ES
UFES_1662	m	a14	A	A2	Muqui	ES
UFES__546	m	b12	A	A2	Cariacica	ES
UFES__830	m	c12	A	A2	Viana	ES
UFES__897	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
UFES__898	m	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_13450	m	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
MNRJ_13493	m	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
MNRJ_13494	m	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
PUC__2360	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__448	m	X12	B	B1	Jequeri	MG
PUC__608	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__753	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__760	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__863	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
UFMG_1576	m	V11	B	B1	Santa Barbara	MG
UFMG_1926	m	V11	B	B1	Santa Barbara	MG
UFMG_2272	m	W11	B	B1	Joao Monlevade	MG
UFMG__665	m	V11	B	B1	Belo Horizonte	MG
UFMG__704	m	W11	B	B1	São gonçalo de rio abaixo	MG
UFMG__722	m	W11	B	B1	Itabira	MG
UFMG__767	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
UFMG__786	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
UFMG__772	m	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__305	m	X13	B	B2	Teixeiras	MG

PUC__309	m	X13	B	B2	Teixeiras	MG
PUC__418	m	Y14	B	B2	Muriaé	MG
UFMG__741	m	Y11	B	B2	São Joao de jacutinga	MG
UFV__1098	m	X13	B	B2	PESB faz Neblina	MG
UFV__1979	m	X13	B	B2	Viçosa - Mata Paraiso	MG
UFV__2076	m	X13	B	B2	PESB careço	MG
UFV__208	m	X13	B	B2	Viçosa - Mata Paraiso	MG
UFV__2096	m	Z13	B	B2	APAM Alto Taboão	MG
UFV__2097	m	Z13	B	B2	APAM Alto Taboão	MG
UFV__2098	m	Z13	B	B2	APAM Alto Taboão	MG
UFV__2112	m	Z13	B	B2	APAM Alto Taboão	MG
MZUSP10358	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP10674	m	N21	C	C1	Costão dos Engenheiros - Iguape	SP
MZUSP17032	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP17047	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP_1781	m	Q19	C	C1	Paranapiacaba	SP
MZUSP27235	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP27238	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP27239	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP27240	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP27241	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP27242	m	M20	C	C1	Faz. Intervales	SP
MZUSP33080	m	O19	C	C1	Piedade	SP
MZUSP_6543	m	P19	C	C1	Ipiranga	SP
MZUSP_8556	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP_8883	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP

MZUSP_9465	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP_9840	m	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
UFMG__087	m	R19	C	C1	Biritiba mirim	SP
MNRJ_1202	m	X16	C	C2	Teresópolis	RJ
MNRJ_26777	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26778	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26797	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26800	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26805	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26863	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_27824	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28544	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28547	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28550	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28608	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28614	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28807	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28817	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28819	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28821	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28823	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28899	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28902	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28904	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28905	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28906	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28915	m	X17	C	C2	Maricá	RJ

MNRJ_28917	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28930	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28938	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28951	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28952	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_29809	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_30418	m	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30420	m	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30425	m	Y17	C	C2	São Pedro da Aldeia	RJ
MNRJ_30428	m	Y17	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30435	m	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30440	m	Y17	C	C2	São Pedro de Aldeia	RJ
MNRJ_42782	m	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42802	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_42809	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_43751	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_43760	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_43961	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_46915	m	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_46916	m	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_50330	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50331	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50362	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50363	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50364	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50598	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50603	m	X17	C	C2	Maricá	RJ

MNRJ_50605	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50611	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50615	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50623	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50635	m	Z16	C	C2	Macaé	RJ
MNRJ_50642	m	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_51886	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_51889	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_51892	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_51893	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_51911	m	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ__5690	m	U17	C	C2	Mangaratiba	RJ
MNRJ__5698	m	U17	C	C2	São Joao Marcos	RJ
MNRJ__5753	m	U17	C	C2	São Joao Marcos	RJ
MNRJ__5778	m	U17	C	C2	Mangaratiba	RJ
MNRJ__5804	m	W17	C	C2	Duque de Caxias	RJ
MNRJ_59583	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_59585	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_59588	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_59589	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_60210	m	V17	C	C2	Itaguaí	RJ
MNRJ_61823	m	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ__6242	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ__6420	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ__6421	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ__7215	m	X16	C	C2	Teresópolis	RJ
MNRJ__7291	m	X16	C	C2	Teresópolis	RJ

MNRJ_73377	m	U17	C	C2	Rio Claro	RJ
MNRJ_73471	m	Y17	C	C2	Silva Jardim	RJ
MNRJ__8221	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ__8223	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ__8224	m	T18	C	C2	Paratí	RJ
MNRJ_29810	m	Y15	C	C3	Sta Maria Madalena	RJ
MZUSP20209	m	T16	C	C3	Itatiaia	RJ
MZUSP29211	m	V15	C	C3	Lima Duarte	MG
MZUSP29212	m	V15	C	C3	Lima Duarte	MG
MZUSP_7425	m	T16	C	C3	Itatiaia	RJ
UFLA__539	m	T15	C	C3	Aiuruoca	MG
UFLA__540	m	Q17	C	C3	Camanducaia	MG
UFLA__634	m	T15	C	C3	Aiuruoca	MG
UFMG_1825	m	U16	C	C3	Sta. Rita Jacutinga	MG
MNRJ_72302	m	M17	D	D	Botucatu	SP
MZUSP17623	m	E17	D	D	Teodoro Sampaio	SP
UFMG__769	m	_K8	D	D	Itumbiara	GO
UFMG__854	m	_K8	D	D	Itumbiara	GO
MBML_2078	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MBML__229	f	b12	A	A2	Cariacica	ES
MBML_2782	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_29933	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_29934	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ__3998	f	c12	A	A2	Vila Velha	ES
MNRJ__5584	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ__5587	f	c12	A	A2	Vila Velha	ES
MNRJ__5588	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES

MZUSP20210	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
UFES_1628	f	b11	A	A2	Itaguaçu	ES
UFES_1834	f	b12	A	A2	Santa Teresa	ES
UFES__251	f	_b9	A	A2	Águia Branca	ES
UFES_252	f	_b9	A	A2	Águia Branca	ES
UFES__896	f	b11	A	A2	Santa Teresa	ES
MNRJ_13498	f	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
MNRJ_13499	f	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
MNRJ_13500	f	W10	B	B1	Conceição do Mato dentro	MG
MNRJ_73510	f	_Z7	B	B1	Teófilo Otoni	MG
PUC__100	f	V11	B	B1	Caeté	MG
PUC__2845	f	W12	B	B1	Catas Altas	MG
PUC__622	f	V11	B	B1	Nova Lima	MG
PUC__754	f	V11	B	B1	Nova Lima	MG
UFMG__695	f	W11	B	B1	Itabira	MG
PUC__308	f	X13	B	B2	Teixeiras	MG
PUC__310	f	Y12	B	B2	Abre Campos	MG
PUC__429	f	Y14	B	B2	Muriaé	MG
UFMG__298	f	Y11	B	B2	Caratinga	MG
UFMG__720	f	Y11	B	B2	São Joao de jacutinga	MG
UFMG__725	f	Y11	B	B2	Caratinga	MG
UFMG__770	f	Y11	B	B2	Caratinga	MG
UFV__1135	f	X13	B	B2	PESB faz Neblina	MG
UFV__1306	f	X13	B	B2	PESB faz Neblina	MG
UFV__1307	f	X13	B	B2	PESB faz Neblina	MG

UFV__1907	f	X13	B	B2	PESB faz Neblina	MG
UFV__2095	f	Z13	B	B2	APAM Alto Taboao	MG
UFV__2100	f	Z13	B	B2	APAM Alto Taboao	MG
UFV__2101	f	Z13	B	B2	APAM Alto Taboao	MG
MZUSP10203	f	P19	C	C1	Cotia	SP
MZUSP17034	f	R19	C	C1	Casa Grande - Salesopolis	SP
MZUSP17039	f	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP17046	f	R19	C	C1	Casa Grande - Salesopolis	SP
MZUSP17055	f	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP17599	f	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP22813	f	R19	C	C1	Casa Grande - Salesopolis	SP
MZUSP27231	f	M20	C	C1	Faz Intervales	SP
MZUSP27232	f	M20	C	C1	Faz Intervales	SP
MZUSP27243	f	M20	C	C1	Faz Intervales	SP
MZUSP29205	f	R19	C	C1	Salesópolis	SP
MZUSP29207	f	S19	C	C1	Ilha Bela	SP
MZUSP31116	f	O19	C	C1	Piedade	SP
MZUSP_9471	f	R19	C	C1	Boraceia-Salesopolis	SP
MZUSP_9843	f	P19	C	C1	Cotia	SP
UFMG_2667	f	S19	C	C1	Ilha são sebastiao	SP
MNRJ_10382	f	W17	C	C2	Rio de Janeiro	RJ
MNRJ_10383	f	W17	C	C2	Rio de Janeiro	RJ
MNRJ_26629	f	W17	C	C2	Rio de Janeiro	RJ
MNRJ_26781	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26786	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_26831	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_27823	f	X17	C	C2	Maricá	RJ

MNRJ_28597	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28598	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28599	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28610	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28612	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28615	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28803	f	W17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28816	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28918	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28936	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28940	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_28954	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_30136	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_30422	f	Y17	C	C2	São Pedro de Aldeia	RJ
MNRJ_30427	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30429	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30432	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30434	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30438	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_30461	f	Y16	C	C2	Casimiro de Abreu	RJ
MNRJ_42779	f	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42783	f	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42785	f	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42786	f	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42788	f	W17	C	C2	Magé	RJ
MNRJ_42803	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_42807	f	X17	C	C2	Maricá	RJ

MNRJ_43960	f	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_46595	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_46596	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_46908	f	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50376	f	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_50607	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50609	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50616	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50617	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50619	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50621	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50625	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_50636	f	Z16	C	C2	Macaé	RJ
MNRJ_50637	f	Z16	C	C2	Macaé	RJ
MNRJ_51890	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_51926	f	X17	C	C2	Maricá	RJ
MNRJ_5596	f	U17	C	C2	Mangaratiba	RJ
MNRJ_5750	f	U17	C	C2	São Joao Marcos	RJ
MNRJ_5807	f	W17	C	C2	Duque de Caxias	RJ
MNRJ_74417	f	X16	C	C2	Sumidouro	RJ
MNRJ_7716	f	T18	C	C2	Paratí	RJ
UFES_2287	f	S18	C	C2	São Luís do Paraitinga	SP
UFES_2288	f	S18	C	C2	São Luís do Paraitinga	SP
MNRJ_30410	f	V16	C	C2	Vassouras	RJ
MNRJ_732	f	X15	C	C3	Além Paraíba	MG
MZUSP_123	f	S17	C	C3	Piquete	SP
MZUSP_124	f	S17	C	C3	Piquete	SP

UFPA__410	f	T15	C	C3	Aiuruoca	MG
UFPA__541	f	T15	C	C3	Aiuruoca	MG
UFPA__636	f	T15	C	C3	Aiuruoca	MG
MZUSP_2843	f	J14	D	D	Avanhandava	SP
MZUSP31616	f	H20	D	D	Ortigueira	PR
MZUSP_6190	f	F17	D	D	Monte Alegre Faz. St. Maria	SP
UFMG_2666	f	A22	D	D	Parque Nacional do Iguaçu	PR

Anexo 2 - Tabelas do teste de distribuição normal multivariada dos resíduos de Procrustes das configurações de marcos anatômicos das vistas dorsal, ventral e lateral do crânio de *P. freantus*.

#### Vista Dorsal

Multivariate	Coefficient	Statistic	df	p(normal)
Skewness:	875,3	4,624E04	4,166E04	2,848E-53
Skewness corrected:		4,669E04	4,166E04	1,881E-63
Kurtosis:	4051	8,316		0
Dornik and Hansen omnibusEp: 588				1,916E-61

#### Vista ventral

Multivariate	Coefficient	Statistic	df	p(normal)
Skewness:	1108	5,856E04	4,576E04	0
Skewness corrected:		5,913E04	4,576E04	0
Kurtosis:	4509	27,62		0
Dornik and Hansen omnibusEp: 1527				5,455E-238

#### Vista lateral

Multivariate	Coefficient	Statistic	df	p(normal)
Skewness:	624,4	3,268E04	2,772E04	1,263E-88
Skewness corrected:		3,3E04	2,772E04	0
Kurtosis:	3130	12,07		0
Dornik and Hansen omnibusEp: 437,2				3,552E-41

Anexo 3. Gráfico mostrando a configuração media de marcos anatômicos com pontos azuis (esquerda), e diagrama da distribuição cumulativa das distancias de amostras individuais da forma média da amostra total (direita). A linha azul indica a curva esperada para uma distribuição multivariada normal ajustada aos dados, e a linha vermelha a distribuição das distancias nos dados. Diagramas da vista A) dorsal, B) ventral e C) lateral.

