

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

**DIFERENCIAÇÃO MORFOMÉTRICA E  
MODULARIDADE CRANIANA DE *Akodon*  
*cursor* WINGE, 1877 (RODENTIA: CRICETIDAE)**

**KAROLYNE DE ALMEIDA SALLES**

São Mateus/ES

Maio/2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**DIFERENCIAÇÃO MORFOMÉTRICA E**  
**MODULARIDADE CRANIANA DE *Akodon***  
***cursor* WINGE, 1877 (RODENTIA: CRICETIDAE)**

**KAROLYNE DE ALMEIDA SALLES**

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS.

**Orientadora: Roberta Paresque**

**Coorientadora: Caroline Raidan Daniel**

**São Mateus/ES**

**Maió/2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO

# FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: **Karolyne de Almeida Salles**

Título: **Diferenciação morfométrica e modularidade craniana de *Akodon cursor* Winge, 1877 (Rodentia: Cricetidae)**

Monografia do Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado)  
Defendida e aprovada em 03/05/2021

Com nota 9,3 pela comissão julgadora:

\_\_\_\_\_  
Orientador(a) e presidente da Comissão Examinadora

\_\_\_\_\_  
Examinador 1

\_\_\_\_\_  
Examinador 2

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus, por me permitir chegar até aqui e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo dessa trajetória.

Agradeço aos meus pais, Marcelo e Rúbia, pelo apoio, carinho e dedicação, por todo esforço para que eu continuasse seguindo meus sonhos, sem vocês eu nada seria. Obrigada por tudo! Amo vocês!

À minha orientadora, Roberta Paresque, por todo ensinamento e apoio. Sou muito grata por ter me acolhido e incentivado durante esses anos. Continue essa orientadora amiga e maravilhosa que você é.

À minha coorientadora, Carolline Raidan, obrigada por todo apoio e carinho, por dividir comigo todo o seu conhecimento, te admiro muito pela amiga e pesquisadora que é.

Aos meus familiares, que sempre me incentivaram e apoiaram. Aos meus avós, Lete, Ramos, Jurema e Roberto, por todo o carinho. Aos meus tios, principalmente à tia Lorryne, que me apresentou ao universo da biologia, o que fez minha paixão pela área aumentar ainda mais. Amo vocês!

Ao meu namorado, Henrique, por estar do meu lado durante esses anos, me apoiando e incentivando sempre, você é muito especial na minha vida! Te amo!

Aos integrantes do Núcleo de Pesquisa em Evolução e Anatomia, principalmente aos meus amigos Acrísio Perini, Haryanne Mabel, Mateus Loss, Tais Barbosa e Tathiane Alves, que fizeram dos nossos dias no laboratório mais alegres e os campos mais divertidos.

Ao Laboratório de Genética Animal por ter disponibilizado os exemplares de *Akodon cursor* para este estudo.

Agradeço a todos que, de qualquer forma, tenham contribuído pro meu crescimento pessoal e profissional durante essa jornada.

À UFES e FAPES pelo apoio, tornando possível a confecção dessa pesquisa.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	4
Amostras, obtenção e tratamento dos crânios.....	4
Diferenciação da forma e tamanho.....	7
Modularidade.....	8
Modularidade removendo a influência do tamanho .....	8
3. RESULTADOS.....	9
Diferenciação da forma e tamanho.....	9
Modularidade.....	13
Modularidade sem variação de tamanho .....	13
4. DISCUSSÃO .....	14
REFERÊNCIAS .....	18

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Número amostral e organização da divisão dos grupos de *Akodon cursor* de acordo com as variáveis: sexo, número diploide (2n) e localização geográfica (S = Sul; N = Norte; e NS = Norte/Sul).  
.....4
- Tabela 2:** Descrição dos 21 pontos obtidos nos crânios de *Akodon cursor* de acordo com a Figura 2. As posições sagital [S] e bilateral [B] representam medidas únicas e localizadas no lado direito e esquerdo, respectivamente (Descrições feitas segundo Costa (2013)).  
.....6
- Tabela 3:** 37 distâncias euclidianas (medidas lineares entre os marcadores) e classificação dos caracteres nos sete grupos funcionais e de desenvolvimento (Descrições feitas segundo Costa (2017)).  
.....7
- Tabela 4:** Resultado do teste ANOVA analisando a diferença entre o tamanho dos crânios dos grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ). (SQ = Soma dos quadrados; MQ = Média dos quadrados; F = Valor de F).  
.....9
- Tabela 5:** Comparação par a par entre os grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16) para analisar a diferença do tamanho dos crânios. Os valores em negrito foram significativos para ANOVA com Teste-t ( $p < 0,05$ ) (Med = Média; DP = Desvio padrão).  
.....10
- Tabela 6:** Resultado do teste ANOVA de Procrustes analisando a forma craniana para diferenciação dos grupos (2n = 14S, 14N, 15 e 16) e dimorfismo sexual de *Akodon cursor*. Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).  
.....10
- Tabela 7:** Correlação par a par da forma craniana entre os grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). Os valores destacados em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).  
.....11
- Tabela 8:** Resultado do teste ANOVA de Procrustes analisando a forma craniana para avaliar o dimorfismo sexual dos grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). Os valores em negritos foram significativos ( $p < 0,05$ ).  
.....11
- Tabela 9:** Índices de modularidade obtidos de acordo com as hipóteses de função/desenvolvimento. Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).  
.....13
- Tabela 10:** Índices de modularidade obtidos de acordo com as hipóteses de função/desenvolvimento para as matrizes sem variação de tamanho. Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).  
.....13

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa de distribuição de *Akodon cursor* (em cinza, segundo a IUCN). Distribuição dos grupos  $2n = 14$  (em azul) e  $2n = 16$  (em rosa) (extraída de Massariol, 2016). Divisão aproximada dos clados Norte e Sul do grupo  $2n = 14$  (linha preta) (Fonte: Elaboração própria)..... 2
- Figura 2:** Crânio de *Akodon cursor* (vista dorsal [A], ventral [B] e lateral [C]) representando os marcadores geométricos. [A] - Região do neurocrânio (vermelho) e do viscerocrânio (verde), que representam os módulos de desenvolvimento; [B] e [C] - Região zigomática (laranja), oral (azul), nasal (verde), base do crânio (roxo) e abóbada craniana (vermelho), que representam os subgrupos funcionais (Fonte: Elaboração própria, adaptado de Raidan (2017)).....5
- Figura 3:** Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis de forma do crânio, em vista dorsal [A] e lateral [B], dos grupos de *Akodon cursor* ( $2n = 14S, 14N, 15$  e  $16$ ). As grades indicam deformação para as formas associadas aos extremos de cada PCA.....12

## RESUMO

*Akodon cursor* pertence a ordem Rodentia, família Cricetidae, subfamília Sigmodontinae. Seus representantes ocorrem ao longo da Mata Atlântica e são caracterizados por apresentarem uma variação no número diplóide ( $2n = 14, 15$  e  $16$ ), de acordo com as análises genéticas e citogenéticas estas formas variantes pertencem a uma única espécie. Sua distribuição é dividida entre Norte e Sul, devido a uma barreira geográfica marcada pelo Vale do Jequitinhonha, localizada entre o sul da Bahia e norte de Minas Gerais. Espécimes com  $2n = 14/15$  são frequentemente encontrados ao Sul (sul da Bahia até o Paraná), enquanto os indivíduos com  $2n = 16$  são frequentemente encontrados ao Norte (norte de Minas até a Paraíba). A população com  $2n = 14$  é dividida entre  $2n = 14S$  (clado Sul) e  $2n = 14N$  (clado Norte). Os descendentes destes grupos gerados em cativeiros foram denominados  $2n = 14NS$ . Este estudo teve como objetivo avaliar as variações morfométricas relacionadas ao tamanho e forma e a presença de módulos nos crânios de *Akodon cursor* ao longo da sua distribuição e entre as populações com formas cariotípicas distintas. O estudo foi realizado com 171 espécimes provenientes da natureza e/ou de cruzamentos experimentais realizados no LGA/UFES. Foram colocados 34 marcos anatômicos com auxílio do digitalizador (MX-Microscribe®). A seguir foram realizadas análises para avaliar as matrizes de covariância/correlação, modularidade e diferenciação da forma e tamanho dos crânios. Os resultados obtidos demonstraram uma diferença significativa de tamanho, do grupo  $2n = 16$  em relação aos outros grupos. Por outro lado, em relação à forma demonstrou que os crânios do grupo  $2n = 14S$  diferem dos demais grupos. Em relação à modularidade, quando considerado o efeito do tamanho, observou-se a presença dos módulos nas seguintes regiões: oral, nasal e face, além da integração total entre os módulos. Por outro lado, ao remover o efeito do tamanho, nota-se a presença dos módulos nas regiões: oral, abóbada, zigomático e neurocrânio, e também a integração total entre os módulos.

**Palavras-chave:** Crânio. Morfometria geométrica. Forma. Modularidade. Evolução.

## ABSTRACT

*Akodon cursor* belongs to the order Rodentia, family Cricetidae, subfamily Sigmodontinae. Their representatives occur throughout the Atlantic Forest and present a variation in the diploid number ( $2n = 14, 15$  and  $16$ ), according to the genetic and cytogenetic analyses, these variant forms belong to a single species. Its distribution is divided between North and South, due to a geographical barrier marked by the Vale do Jequitinhonha, located between the south of Bahia and the north of Minas Gerais. Specimens with  $2n = 14/15$  are often found in the South (south of Bahia to Paraná), while individuals with  $2n = 16$  are often found in the North (north of Minas to Paraíba). The population with  $2n = 14$  is divided between  $2n = 14S$  (South clade) and  $2n = 14N$  (North clade). The descendents of these groups generated in captivity were called  $2n = 14NS$ . This study aimed to evaluate the morphometric variations related to the size and shape and the presence of modules in the skulls of *Akodon cursor* along its distribution and among populations with distinct karyotypic forms. The study was carried out with 171 specimens from nature and/or from experimental crossings carried out at LGA/UFES. 34 landmarks were placed with the aid of the digitizer (MX-Microscribe ®). Then, analyses were performed to evaluate the covariance/correlation matrices, modularity and differentiation of the shape and size of the skulls. The results obtained showed a significant difference in size, in the  $2n = 16$  group in relation to the other groups. On the other hand, in relation to the shape, it demonstrated that the skulls of the  $2n = 14S$  group differ from the other groups. Regarding modularity, when considering the effect of size, the presence of modules in the following regions was observed: oral, nasal and face, in addition to the overall integration between modules. On the other hand, when removing the effect of size, the presence of the modules is noted: oral, vault, zygomatic and neurocranium, and also the overall integration between the modules.

**Keywords:** Skull. Geometric morphometry. Shape. Modularity. Evolution.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Akodon* Meyen, 1833, pertence à ordem Rodentia, família Cricetidae, subfamília Sigmodontinae (Pardiñas *et al.*, 2015). Atualmente, 39 espécies são reconhecidas para o gênero, ocorrendo na América do Sul e apresentando uma taxonomia complexa e instável, devido às espécies crípticas e simpátricas (Astúa *et al.*, 2015; Pardiñas *et al.*, 2015; Brandão *et al.*, 2021).

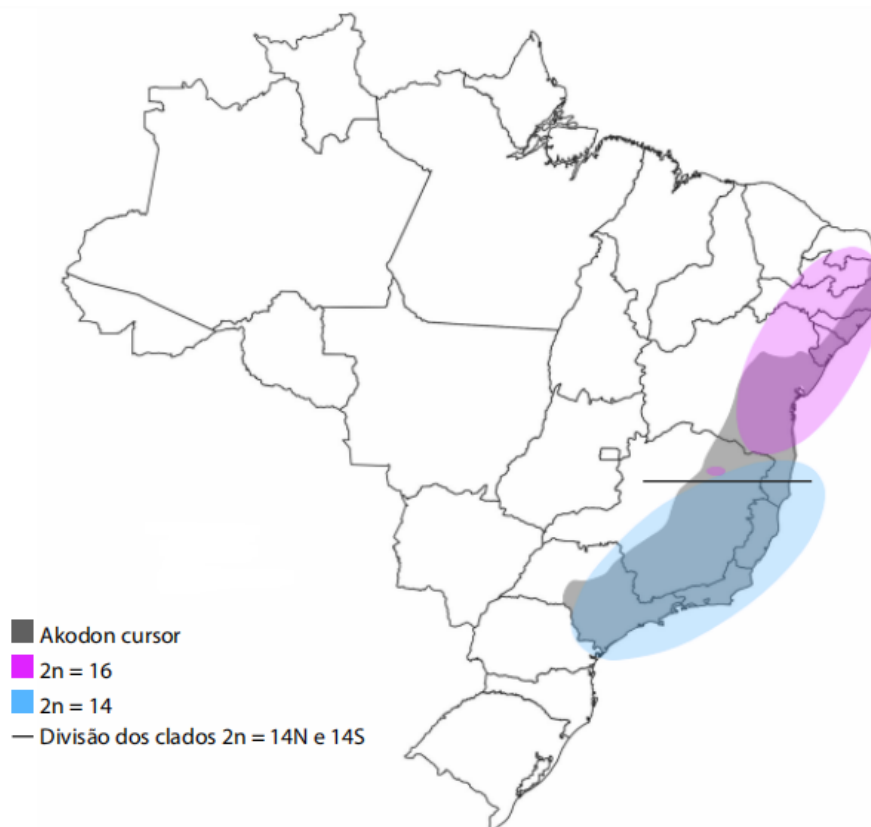
Uma das espécies do gênero, *Akodon cursor* Winge, 1877, apresenta uma grande variação cromossômica (Fagundes *et al.*, 1998; Geise *et al.*, 2005). Morfologicamente, a espécie apresenta grande similaridade interna e externa com outras espécies do gênero (Manduca, 2008), no entanto, citogeneticamente, caracteriza-se por apresentar número diplóide ( $2n$ ) variando entre 14, 15 e 16 e número autossômico (NA) entre 21 a 28, um dos maiores polimorfismos cromossômicos conhecidos dentre os mamíferos (Fagundes *et al.*, 1998; Manduca, 2008). Segundo análises genéticas e citogenéticas, apesar da grande variação, estes três grupos diplóides pertencem à espécie *A. cursor*, com polimorfismos inter e intrapopulacionais (Fagundes *et al.*, 1998).

*Akodon cursor* ocorre ao longo da Mata Atlântica, percorrendo a parte leste brasileira, desde a Paraíba até o Paraná (Geise, 2012; Massariol, 2016). A espécie é dividida em clados norte e sul, devido a uma barreira geográfica marcada pelo Vale do Jequitinhonha, localizada entre o sul da Bahia e norte de Minas Gerais (Massariol, 2016). Espécimes com  $2n = 14/15$  são frequentemente encontrados ao sul da distribuição, desde o sul da Bahia até o Paraná, enquanto os indivíduos com  $2n = 16$  são frequentemente encontrados ao norte, desde o norte de Minas até a Paraíba (Massariol, 2016).

Há registros de simpatria envolvendo as três variações cariotípicas na Bahia (clado Norte), São Paulo e Paraná (clado Sul) (Sbalqueiro & Nascimento, 1996; Fagundes *et al.*, 1998). As formas cariotípicas  $2n = 14$  e  $15$  ocorrem em simpatria nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro (Yassuda, 1979; Fagundes *et al.*, 1998), e as formas  $2n = 14$  e  $16$  em Minas Gerais (Manduca, 2008; Colombi, 2010). Até o presente momento, no Espírito Santo ocorre apenas a forma  $2n = 14$  (Paresque *et al.*, 2004; Nogueira & Fagundes, 2008; Colombi *et al.*, 2010), enquanto que para os estados da Paraíba e Pernambuco ocorre apenas a forma  $2n = 16$  (Maia & Langguth, 1981; Fagundes *et al.*, 1998; Rieger *et al.*, 1995; Oliveira & Langguth, 2004).

Ainda, a população com  $2n = 14$  está dividida entre um clado Sul, denominado como grupo  $2n = 14S$ , que engloba espécimes provenientes de São Paulo, Paraná, Espírito Santo, Rio de Janeiro, sul da Bahia e sul de Minas Gerais e um clado norte, denominado  $2n = 14N$ , que

engloba espécimes da Bahia e norte de Minas Gerais. Descendentes destes grupos foram gerados em cativeiros e foram denominados  $2n = 14NS$  (Figura 1).



**Figura 1:** Mapa de distribuição de *Akodon cursor* (em cinza, segundo a IUCN). Distribuição dos grupos  $2n = 14$  (em azul) e  $2n = 16$  (em rosa) (extraída de Massariol, 2016). Divisão aproximada dos clados Norte e Sul do grupo  $2n = 14$  (linha preta) (Fonte: Elaboração própria).

Segundo hipóteses sobre a evolução cariotípica de *A. cursor*, o grupo com  $2n = 16$  seria a forma ancestral, enquanto  $2n = 14$  seria a forma derivada (Fagundes *et al.*, 1997).

Espécimes híbridos com  $2n = 15$ , foram coletados na natureza em 1997 provenientes das localidades São Paulo (Fagundes *et al.*, 1997), além disso foram obtidos espécimes híbridos em cativeiros (Massariol, 2016) do cruzamento entre as formas  $2n = 14$  e 16. Testes de meiose mostraram que os indivíduos portadores dos cariótipos híbridos são férteis, mesmo possuindo uma acentuada redução na fertilidade, afetando com maior impacto as fêmeas do grupo (Massariol, 2016).

*Akodon cursor* apresenta questões taxonômicas controversas (Yonenaga *et al.*, 1975; Geise *et al.*, 1998; Fagundes & Nogueira, 2007; Cordeiro-Júnior, 2009; Araújo, 2014), pois embora os dados moleculares sugiram dois clados distintos ( $2n = 14/15$  e  $2n = 16$ ), os caracteres da morfologia externa e crânio-dentária não apresentaram diferenças entre os grupos (Christoff, 1997). Entretanto, a falta de evidências de diferenças morfológicas entre esses grupos mantém

essa questão em aberto (Massariol, 2016). Nesta perspectiva, neste estudo empregou-se a técnica de morfometria geométrica para se avaliar as variações cranianas e relacioná-las às variações moleculares, geográficas e cariotípicas de *A. cursor*, analisando se há correspondência entre elas.

A morfometria geométrica pode ser definida como um conjunto de métodos de aquisição, processamentos e análises de variáveis de forma que se preserva toda a informação geométrica contida nos dados originais (Slice, 2005). Os dados utilizados em morfometria geométrica não se baseiam em medidas ou ângulos, mas sim em coordenadas cartesianas obtidas a partir de “marcos anatômicos” ou “*landmarks*” (Rohlf, 1990; Rohlf & Marcus, 1993; Monteiro & Reis, 1999). Essas coordenadas podem ser definidas em um plano e ter duas dimensões ( $x, y = 2D$ ) ou em um espaço de três dimensões ( $x, y$  e  $z = 3D$ ) (Fornel & Cordeiro-Estrela, 2012). A variável de tamanho utilizada na morfometria geométrica é chamado de tamanho do centróide, que é a raiz quadrada da soma das distâncias ao quadrado entre cada marco anatômico e o centróide ou o centro de gravidade do conjunto de marcos anatômicos (Bookstein, 1991; Fornel & Cordeiro-Estrela, 2012).

Os organismos devem ser considerados como um conjunto de caracteres independentes entre si, pode-se imaginar que essa interdependência influencie como cada carácter evolua ao longo desse tempo. Essa interdependência constitui o conceito de integração morfológica (Olson & Miller, 1958). Sabe-se que a integração não é uniforme por todo o organismo, mas sim que está concentrada em complexos com partes altamente integradas entre si e relativamente independentes de outras partes fora do complexo, sendo chamados de módulos as partes integradas entre si e modularidade o padrão resultante entre caracteres fortemente integrados e relativamente independentes (Berg, 1960; Klingenberg, 2013).

Diante disso, o objetivo principal foi avaliar as variações morfométricas relacionadas ao tamanho e forma e a presença de módulos nos crânios de *Akodon cursor* ao longo da sua distribuição. E como objetivos específicos: (1) descrever a variação morfológica observada entre os grupos de *A. cursor* ( $2n = 14N, 14S, 15$  e  $16$ ) e comparar os dados obtidos com os dados de análises genéticas e citogenéticas; (2) avaliar a variação morfométrica da forma e tamanho do crânio de *A. cursor* e relacionar os achados com a variação cariotípica; e (3) testar a presença de módulos nos crânios de *A. cursor*, a partir de hipóteses de função/desenvolvimento compartilhada nos crânios de mamíferos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras, obtenção e tratamento dos crânios

Foi conduzido um estudo morfológico com exemplares de *A. cursor* provenientes da natureza e/ou de cruzamentos experimentais realizados no Laboratório de Genética Animal da UFES (LGA/UFES). Todos os animais foram cariotipados antes do sacrifício e devidamente etiquetados. Os exemplares encontram-se no Núcleo de Pesquisa em Evolução e Anatomia (NUPEA) do CEUNES.

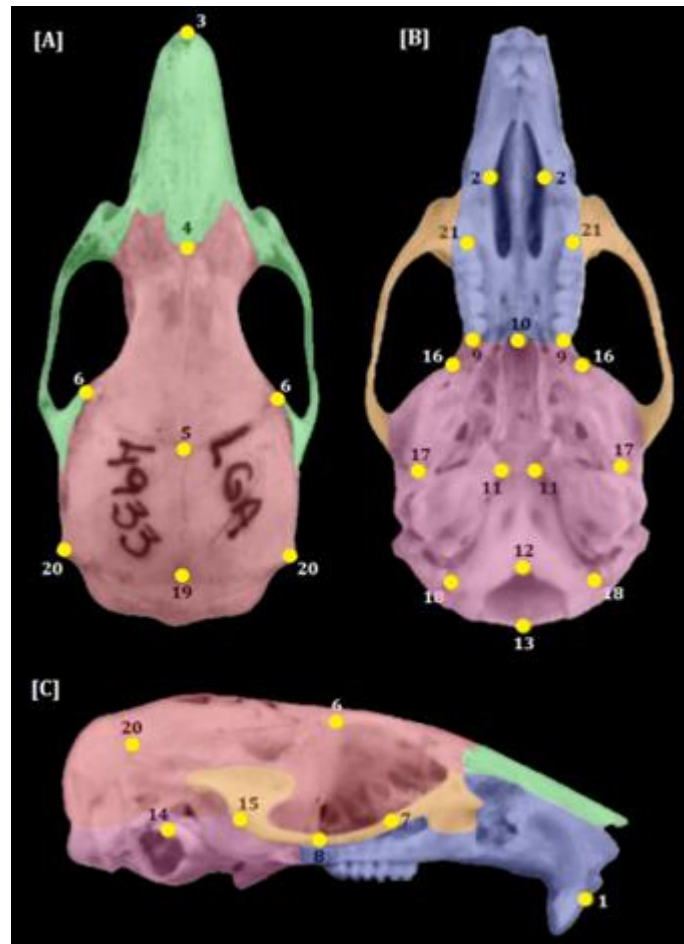
Para obtenção dos esqueletos foram realizados os procedimentos, segundo Gomes & Oliveira (2015). Foi feita a dissecação dos indivíduos (retirando pele e vísceras do animal) e as amostras foram preservadas em álcool 70%, por no mínimo 48 horas. Após este tempo, as amostras foram lavadas em água corrente e levadas à estufa a 100-120°C até a secagem total. Em seguida, cada amostra foi levada à uma colônia de besouros do gênero *Dermestes* (Coleoptera: Dermestidae), contida em um recipiente de material plástico, com tampa contendo uma abertura coberta por uma tela de nylon (1mm) e o interior do recipiente coberto por uma camada de algodão hidrófilo que foi mantido úmido. As amostras foram colocadas no algodão com uma “cama” feita de garrafa PET, para que não houvesse perda de partes dos esqueletos. Após a limpeza, as amostras foram retiradas da colônia e deixadas de molho no álcool 70% por meia hora (os *Dermestes* que permaneceram nos esqueletos foram retirados com pinça). Depois de secos, os esqueletos foram guardados em potes e/ou saquinho plásticos, devidamente etiquetados. No total, foram obtidos 171 crânios de *A. cursor*, os quais foram divididos em 5 grupos, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1:** Número amostral e organização da divisão dos grupos de *Akodon cursor* de acordo com as variáveis: sexo, número diplóide (2n) e localização geográfica (S= Sul; N= Norte; e NS=Norte/Sul).

	GRUPOS (2n)					Total
	14 S	14 N	14 NS	15	16	
<b>Fêmeas</b>	21	13	23	11	12	80
<b>Machos</b>	28	16	20	14	13	91
<b>Total</b>	49	29	43	25	25	171

Com o auxílio de uma lupa, foi realizada a marcação nos crânios para a obtenção dos pontos de interseção, segundo técnica proposta por Raidan *et al.* (2019). Foram obtidas coordenadas de 34 marcadores geométricos (*landmarks*), com o auxílio do digitalizador MX-Microscribe®, associados aos pontos homólogos entre suturas observadas em mamíferos (Cheverud, 1982; Costa, 2013; Marroig & Cheverud, 2001; Oliveira *et al.*, 2009; Porto *et al.*, 2009) (Figura 2, Tabela 2). A partir dessas coordenadas foram estimadas 37 distâncias

euclidianas, as quais foram agrupadas em sete regiões funcionais e de desenvolvimento do crânio (Tabela 3). Cada crânio foi digitalizado duas vezes. Os valores discrepantes (*outliers*) foram identificados através de boxplots feitos no programa SPSS Statistics.



**Figura 2:** Crânio de *Akodon cursor* (vista dorsal [A], ventral [B] e lateral [C]) representando os marcadores geométricos. [A] - Região do neurocrânio (vermelho) e do viscerocrânio (verde), que representam os módulos de desenvolvimento; [B] e [C] - Região zigomática (laranja), oral (azul), nasal (verde), base do crânio (roxo) e abóbada craniana (vermelho), que representam os subgrupos funcionais (Fonte: Elaboração própria, adaptado de Raidan (2017)).

**Tabela 2:** Descrição dos 21 pontos obtidos nos crânios de *Akodon cursor* de acordo com a Figura 2. As posições sagital [S] e bilateral [B] representam medidas únicas e localizadas no lado direito e esquerdo, respectivamente (Descrições feitas segundo Costa (2013)).

	Pontos	Posição	Descrição
1	IS	S	Interincisivo superior
2	PM	B	Sutura pré-maxila-maxila
3	NSL	S	Extremidade rostral do osso nasal
4	NA	S	Extremidade caudal do osso nasal (junção com o osso frontal)
5	BR	S	“Bregma” – sutura entre o frontal e o parietal (posição medial)
6	PT	B	Sutura entre frontal e parietal
7	ZS	B	Zigomaxilar superior
8	ZI	B	Zigomaxilar inferior
9	MT	B	Tuberosidade maxilar – caudal ao terceiro molar
10	PNS	S	Espinha caudal do nasal
11	APET	B	Petrous temporal
12	BA	S	“Basion” – ponto ventral do forame magno
13	OPI	S	“Opisthion” – ponto dorsal do forame magno
14	EAM	B	Meato auditivo externo rostral
15	ZYGO	B	Sutura entre o zigomático e o temporal
16	TSP	B	Sutura entre o temporal, esfenoidal e o frontal
17	TS	B	Sutura entre o temporal e o esfenoidal
18	JP	B	Processo jugular
19	LD	S	Ponto médio de encontro entre supraoccipital e parietal
20	AS	B	“Asterion” – sutura entre o parietal e occipital
21	M1	B	Primeiro molar

**Tabela 3:** 37 distâncias euclidianas (medidas lineares entre os marcadores) e classificação dos caracteres nos sete grupos funcionais e de desenvolvimento (Descrições feitas segundo Costa (2013); Raidan (2017)).

<b>Distância</b>	<b>Grupo funcional/desenvolvimento</b>	<b>Região</b>
IS.PM	Oral	Face
IS.NSL	Nasal	Face
IS.PNS	Oral / Nasal	Face
PM.ZS	Oral	Face
PM.ZI	Oral	Face
PM.MT	Oral	Face
NSL.NA	Nasal	Face
NSL.ZS	Nasal	Face
NSL.ZI	Oral / Nasal	Face
NA.BR	Abóbada craniana	Neurocrânio
NA.PNS	Nasal	Face
BR.PT	Abóbada craniana	Neurocrânio
BR.APET	Abóbada craniana	Neurocrânio
PT.APET	Abóbada craniana	Neurocrânio
PT.BA	Abóbada craniana	Neurocrânio
PT.EAM	Abóbada craniana	Neurocrânio
PT.ZYGO	Zigomático	Face
PT.TSP	Abóbada craniana / Zigomático	Neurocrânio / Face
ZS.ZI	Oral / Zigomático	Face
ZI.MT	Oral	Face
ZI.ZYGO	Zigomático	Face
ZI.TSP	Zigomático	Face
MT.PNS	Oral	Face
PNS.APET	Base do crânio	Neurocrânio
APET.BA	Base do crânio	Neurocrânio
APET.TS	Base do crânio	Neurocrânio
BA.EAM	Base do crânio	Neurocrânio
EAM.ZYGO	Zigomático	Face
ZYGO.TSP	Zigomático	Face
LD.AS	Abóbada craniana	Neurocrânio
BR.LD	Abóbada craniana	Neurocrânio
OPI.LD	Abóbada craniana	Neurocrânio
PT.AS	Abóbada craniana	Neurocrânio
JP.AS	Base do crânio	Neurocrânio
BA.OPI	Base do crânio	Neurocrânio
PMe.PMd	Oral	Face
MT.MI	Oral	Face

### **Diferenciação da forma e tamanho**

Ao igualar os tamanhos dos centróides a 1, caracterizados como a raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada ponto de referência e o centróide (Bookstein, 1991), as *landmarks* foram submetidas a uma superimposição de Procrustes e os efeitos do

tamanho isométrico foram removidos, removendo as informações não relacionadas à forma, gerando assim uma matriz de variáveis de forma independente do tamanho.

Diferenças relacionadas à forma craniana foram testadas através de uma ANOVA Procrustes, uma Análise de Componentes Principais (PCA) e grades de deformação para ilustrar a variação da forma ao longo dos componentes principais.

As diferenças no tamanho absoluto foram testadas através da comparação do tamanho do centróide através de uma análise de variância (ANOVA). Todas as análises foram realizadas na plataforma R (R Core Team, 2020) com o pacote *evolqg* (Melo *et al.*, 2016).

### **Modularidade**

Com o intuito de testar a presença de módulos cranianos de *Akodon cursor*, foram utilizadas as hipóteses já testadas em outros estudos com mamíferos (Porto *et al.*, 2009; Shirai & Marroig, 2010), baseadas em relações de função/desenvolvimento entre os caracteres (Raidan, 2017) (Tabela 3). Foram testados sete subgrupos hipotéticos funcionais e de desenvolvimento compartilhado (oral, nasal, abóbada, zigomático, base do crânio, face e neurocrânio).

Para acessarmos esse aspecto, foram estimadas matrizes de variância/covariância e correlação a partir das 37 distâncias para cada população. Utilizou-se uma matriz teórica binária representando os caracteres presentes (1) ou ausentes (0) nos módulos. As matrizes hipotéticas e de correlação foram correlacionadas e a significância avaliada através do teste de Mantel.

Foi avaliado o índice de modularidade (razão  $AVG+/AVG-$ , onde  $AVG+$  = valores de correlação dentro do módulo e  $AVG-$  = valores fora do módulo), que representa a comparação entre a força de associação dos caracteres existentes dentro do módulo e fora dele (Melo & Marroig, 2015).

No intuito de excluir variações indesejáveis dentro das matrizes de covariância, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) em cada grupo para verificar variações intraespecíficas como dimorfismo sexual e variação geográfica. As diferenças detectadas foram controladas e a estimativa das matrizes controladas foram estimadas a partir de resíduos. Na atual pesquisa, a variação entre os sexos e distribuição foram controladas nas matrizes do grupo  $2n = 14$ .

### **Modularidade removendo a influência do tamanho**

O efeito de tamanho alométrico foi removido nas matrizes de correlação através da exclusão do primeiro componente principal, o qual era responsável por abrigar a variação

relacionada ao tamanho (vetores inclinados na mesma direção). E novamente foi realizada a comparação entre a matriz de correlação (sem efeito do tamanho) e a matriz com módulos hipotéticos. O índice de modularidade removendo o tamanho foi calculado através da diferença absoluta entre AVG+ e AVG- dividido pelo coeficiente de magnitude geral de integração ( $r^2$ ), o que resultará em valores positivos, sendo possível avaliar a existência de módulos sem efeito do tamanho.

### 3. RESULTADOS

#### Diferenciação da forma e tamanho

A ANOVA mostrou que há diferença no tamanho do crânio entre os grupos de *A. cursor* ( $2n = 14S, 14N, 15$  e  $16$ ) (Tabela 4). Ao analisar o teste de comparações múltiplas nota-se que o grupo  $2n = 16$  é diferente dos outros três grupos (Tabela 5). Sendo os crânios do grupo  $2n = 14$  maiores e os do grupo  $2n = 16$  menores entre eles.

**Tabela 4:** Resultado do teste ANOVA analisando a diferença entre o tamanho dos crânios dos grupos de *Akodon cursor* ( $2n = 14S, 14N, 15$  e  $16$ ). Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ). (SQ = Soma dos quadrados; MQ = Média dos quadrados; F = Valor de F).

	SQ	MQ	F	Sig
2N	138.5	46.16	8.69	<b>0.00</b>

**Tabela 5:** Comparação par a par entre os grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16) para analisar a diferença do tamanho dos crânios. Os valores em negrito foram significativos para ANOVA com Teste-t ( $p < 0,05$ ) (Med = Média; DP = Desvio Padrão).

Comparação Múltipla (Csize)				
(I) 2N	(J) 2N	Med (I-J)	DP	Sig
14S	14N	-0,05	0,53	1,00
	15	0,75	0,56	0,54
	16	2,68	0,56	<b>0,00</b>
14N	14S	0,05	0,53	1,00
	15	0,80	0,62	0,57
	16	2,73	0,62	<b>0,00</b>
15	14S	-0,75	0,56	0,54
	14N	-0,80	0,62	0,57
	16	1,92	0,65	<b>0,01</b>
16	14S	-2,68	0,56	<b>0,00</b>
	14N	-2,73	0,62	<b>0,00</b>
	15	-1,92	0,65	<b>0,01</b>

Com relação à variação da forma, o teste ANOVA de Procrustes apresentou uma diferenciação significativa entre os grupos de *A. cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). A existência de dimorfismo sexual não foi detectada para *Akodon cursor* (Tabela 6). No teste de comparações múltiplas, observa-se que houve diferença significativa na forma do grupo 2n = 14S, onde este grupo diferencia-se de todos os outros (Tabela 7). Analisando o dimorfismo sexual para cada grupo, pode-se notar a existência de dimorfismo para os grupos 2n = 14S e 16 (Tabela 8).

**Tabela 6:** Resultado do teste ANOVA de Procrustes analisando a forma craniana para diferenciação dos grupos (2n = 14S, 14N, 15 e 16) e dimorfismo sexual de *Akodon cursor*. Os valores em negritos foram significativos ( $p < 0,05$ ).

	Sig
2N	<b>0.001</b>
Sexo	0.054

**Tabela 7:** Correlação par a par da forma craniana entre os grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). Os valores destacados em negrito foram significativos (p<0.05).

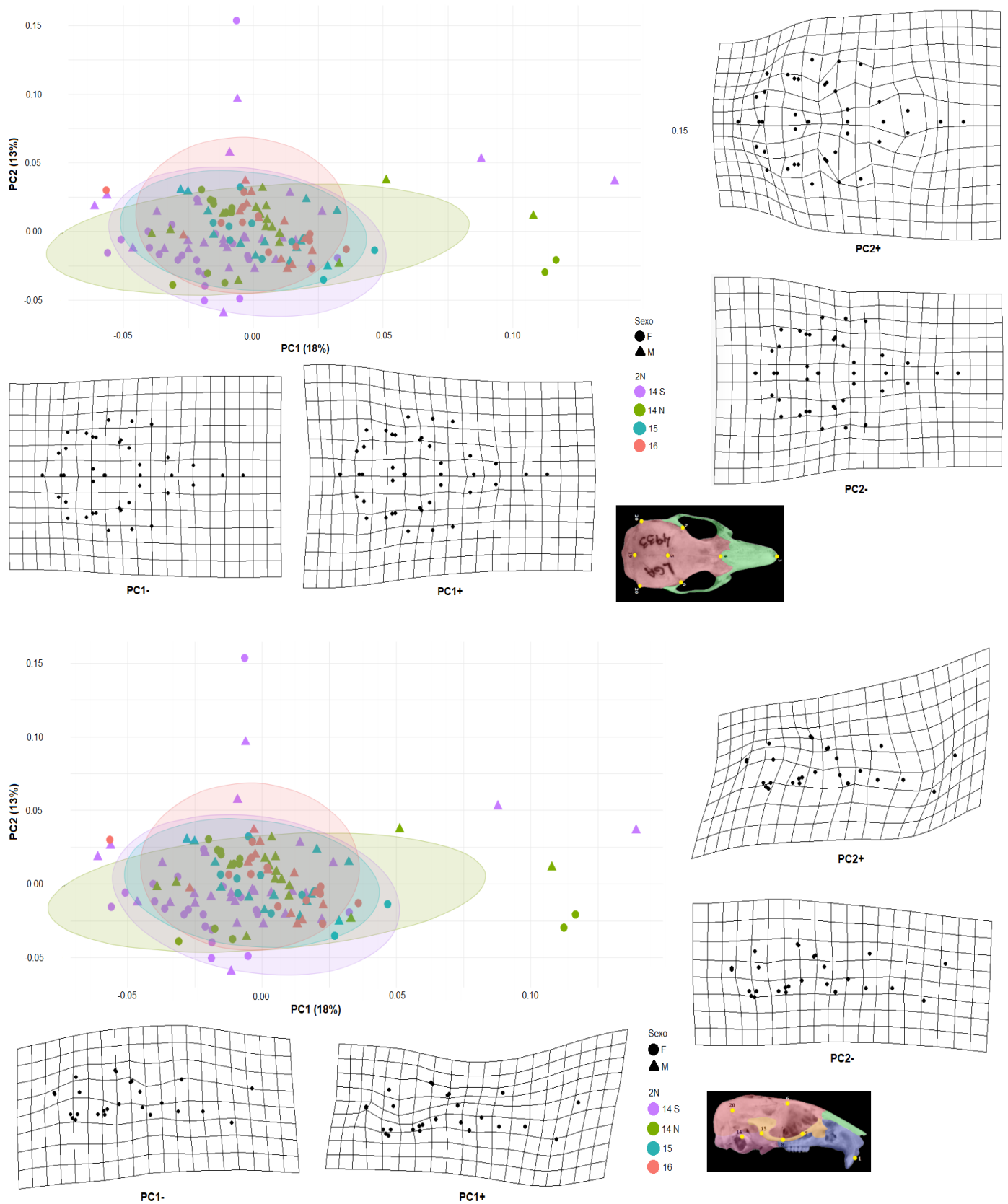
Comparação Múltipla (Forma)		
2N (I)	2N (J)	Sig
16	14N	0.442
	15	0.901
	14S	<b>0.001</b>
14N	15	0.413
	14S	<b>0.001</b>
15	14S	<b>0.001</b>

**Tabela 8:** Resultado do teste ANOVA de Procrustes analisando a forma craniana para avaliar o dimorfismo sexual dos grupos de *Akodon cursor* (2n = 14S, 14N, 15 e 16). Os valores em negrito foram significativos (p<0.05).

2n	Sig
<b>14S</b>	<b>0.001</b>
14N	0.373
15	0.446
<b>16</b>	<b>0.025</b>

A análise de componentes principais (PCA) demonstra uma sobreposição entre os grupos analisados (2n = 14S, 14N, 15 e 16).

A região da abóbada craniana foi a que mais se alterou na grade de deformação. No PC1+, a região da abóbada fica mais expandida, com os arcos zigomáticos mais largos, em comparação ao PC1-. Já no PC2 ocorre ao contrário, região mais expandida no PC2- e mais contraída no PC2+. A região oral também se alterou, ocorrendo uma expansão no PC1+, enquanto que no PC1- a região fica contraída. Ocorrendo o mesmo efeito para o PC2 (+ e -) (Figura 3).



**Figura 3:** Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis de forma do crânio, em vista dorsal [A] e lateral [B], dos grupos de *Akodon cursor* ( $2n = 14S, 14N, 15$  e  $16$ ). As grades indicam deformação para as formas associadas aos extremos de cada PCA.

## Modularidade

O subgrupo funcional nasal demonstrou estar presente em todos os grupos (2n = 14, 15 e 16), sendo que o grupo 2n = 16 apresentou o maior índice (2.01), enquanto o grupo 2n = 14 apresentou o menor (1.88). O módulo oral esteve presente apenas no grupo 2n = 16 (1.89). Os outros grupos funcionais (abóbada craniana, zigomático e base do crânio) não foram detectados nessa avaliação, ou seja, não apresentaram resultados significativos. Em relação aos grupos de desenvolvimento, os módulos da região da face e integração total demonstraram estar presentes nos grupos 2n = 14 e 16, sendo que, para a região da face, o índice de maior valor (1.75) foi no grupo 2n = 16, e para integração total foi para o grupo 2n = 14 (1.39) (Tabela 9).

**Tabela 9:** Índices de modularidade obtidos de acordo com as hipóteses de função/desenvolvimento. Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).

Modularidade Razão AVG (AVG+ / AVG-)								
Grupos	Oral	Nasal	Abóbada	Zigomático	Basal	Neurocrânio	Face	Integração Total
2n = 14	1.54	<b>1.88</b>	0.90	1.16	0.85	0.84	<b>1.58</b>	<b>1.39</b>
2n = 15	1.20	<b>1.97</b>	0.94	1.19	0.71	0.78	1.28	1.08
2n = 16	<b>1.89</b>	<b>2.01</b>	0.78	0.78	0.83	0.67	<b>1.75</b>	<b>1.36</b>

## Modularidade sem variação de tamanho

Após a remoção do tamanho, o módulo da região da abóbada foi detectado para todos os grupos, sendo o grupo 2n = 15 com maior índice (0.10). Os módulos oral e zigomático foram detectados apenas no grupo 2n = 14 (0.04 e 0.08, respectivamente).

Em relação aos grupos de desenvolvimento, a região do neurocrânio foi detectada para todos os grupos, sendo o maior índice do grupo 2n = 14 (0.06). E a integração total foi detectada apenas para o grupo 2n = 14 (0.03) (Tabela 10).

**Tabela 10:** Índices de modularidade obtidos de acordo com as hipóteses de função/desenvolvimento para as matrizes sem variação de tamanho. Os valores em negrito foram significativos ( $p < 0,05$ ).

Modularidade Sem Variação de Tamanho (MHI)								
Grupos	Oral	Nasal	Abóbada	Zigomático	Basal	Neurocrânio	Face	Integração Total
2n = 14	<b>0.04*</b>	-0.04	<b>0.08</b>	<b>0.08</b>	0.02	<b>0.06</b>	-0.00	<b>0.03</b>
2n = 15	0.02	-0.01	<b>0.10</b>	0.03	-0.04	<b>0.03</b>	-0.01	0.01
2n = 16	0.00	-0.06	<b>0.09</b>	0.02	-0.01	<b>0.05</b>	-0.02	0.01

#### 4. DISCUSSÃO

A principal descoberta realizada neste estudo é a diferença existente entre os indivíduos pertencentes aos grupos  $2n = 14S$  e  $14N$ . Os dados obtidos neste estudo demonstraram que, levando-se em consideração o tamanho, o grupo  $2n = 16$  é diferente de todos os outros grupos ( $2n = 14S$ ,  $14N$  e  $15$ ), possuindo os menores crânios. Além disso, quando analisados em relação à forma, os crânios do grupo  $2n = 14S$  mostraram-se diferentes dos demais grupos estudados, apesar da análise de componentes principais demonstrar uma sobreposição entre os grupos. Estes resultados corroboram os achados de Geise *et al.* (2005), que, utilizando morfometria tradicional, demonstraram que há algum nível de divergência morfométrica entre os grupos denominados *A. cursor* ( $2n = 14/15$ ) e os indivíduos que os autores definiram como *A. aff. cursor* ( $2n = 16$ ).

Nas grades de deformação de forma percebeu-se que as regiões que mais sofreram alterações foram a abóbada craniana, oral e zigomática. Astúa *et al.* (2015) demonstraram variação da forma de *A. cursor* nas regiões nasal, zigomática e abóbada craniana, em comparação a sua espécie irmã *A. montensis*. Assim como sugerido por Astúa *et al.* (2015), nossos resultados de morfometria geométrica forneceram, com mais clareza, a distinção entre os grupos de *A. cursor*, tanto para tamanho, quanto para forma, em comparação à aplicação de técnicas tradicionais de morfometria crânio-dentária (Christoff, 1997).

A distribuição geográfica ampla de *A. cursor* pode sofrer influência da disponibilidade de recursos alimentares, em cada uma das localidades onde se encontram suas populações ao longo da costa atlântica e, este fator, pode influenciar nas diferenças cranianas existentes entre os grupos  $2n = 14$  e  $16$ , que são encontrados ao sul e ao norte da sua distribuição, respectivamente, e entre os grupos  $2n = 14S$  e  $14N$ . Assim, caberia incluir a variação sazonal de temperatura como uma das principais influências na distribuição de *A. cursor*, sugerindo uma segregação entre os grupos (*i.*  $2n = 14/15$ ; *ii.*  $2n = 16$ ), segundo Geise *et al.* (2005) e Maestri *et al.* (2015). Além da história evolutiva, desempenho funcional e de desenvolvimento, as condições ambientais também são exemplos de fatores que influenciam na variação morfológica de determinados grupos de mamíferos (Olson & Miller, 1958; Cheverud, 1984; Arnold, 1992; Polly, 2008; Garcia, 2010).

Os espécimes híbridos ( $2n = 15$ ) apresentaram características intermediárias entre seus parentais. Em relação ao tamanho se mostraram diferentes de  $2n = 16$  e iguais ao grupo  $2n = 14$ , sendo os crânios do grupo  $2n = 15$  maiores em comparação com os do grupo  $2n = 16$ , enquanto em relação à forma foram diferentes de  $2n = 14S$  e semelhante à  $2n = 14N$  e  $2n = 16$ . Os dados de híbridos de *A. cursor* apresentados aqui reúnem, pela primeira vez na literatura, análises da morfologia craniana com um número amostral que permitiu-se obter inferências

capazes de compreender o mecanismo da herança parental da forma híbrida com  $2n = 15$ . Outros mamíferos também apresentaram características intermediárias entre seus parentais, por exemplo, híbridos do gênero *Equus* que possuem diferenças no comprimento da cabeça e tamanho das orelhas (Ribeiro *et al.*, 2017), apresentando características intermediárias entre os asininos (jumento) e equino (égua) (Miranda & Palhares, 2017).

Para as matrizes de modularidade, entre as oito hipóteses de integração testadas, foram observados módulos distintos e significativos, principalmente para as subregiões oral e nasal, mas também para a região da face e integração total. A subregião nasal estava presente em todos os grupos analisados. Enquanto os módulos da face e integração total estavam presentes nos grupos  $2n = 14$  e  $16$  e o módulo oral foi evidente apenas para o grupo  $2n = 16$ . As hipóteses das subregiões oral e nasal detectadas neste trabalho também estão presentes entre espécies de outros grupos de mamíferos já testados como marsupiais neotropicais e morcegos (Hubbe, 2013; Porto *et al.*, 2009; Shirai & Marroig, 2010; Silva, 2010).

A região oral inclui a cavidade oral e o suporte para os dentes entre os mamíferos, que está relacionada ao músculo masseter, que está associado à mastigação/alimentação, o que permite que tenham tanto plasticidade quanto uma alimentação especializada. Já na região nasal encontra-se o órgão olfatorial (vomeronasal) que auxilia tanto na busca por alimentos quanto nas comunicações química (feromônios) e física (fezes e urinas) (Carleton & Musser, 2005; Myers & Hall, 2000; Perez *et al.*, 2009; Poor, 2005). Em geral, essas regiões detectadas formando módulos (oral e nasal) são altamente especializadas, sendo caracterizadas por compreenderem os caracteres relacionados ao modo de vida e de alimentação nos roedores (Klingenberg, 2008). Segundo Cerqueira *et al.* (2003), as preferências alimentares de *A. cursor* variam de acordo com seu habitat, o que pode estar relacionado às variações e à presença de módulos na região oral.

Na ordem Rodentia, a musculatura da mastigação está entre as mais especializadas entre todos os mamíferos (Nowak & Paradiso, 1999; Cox & Jeffery, 2011) e a subordem Myomorpha (a qual pertencem os sigmodontíneos) possuem uma das maiores expansões das camadas do músculo masseter no crânio (Cox & Jeffery, 2011; Cox *et al.*, 2012). A orientação e posição desse músculo no arco zigomático, junto com a posição dos incisivos e molares (na região oral), podem contribuir de formas diferentes para a mastigação, tanto para força quanto para a direção do movimento, podendo estar associado ao uso de diferentes recursos alimentares (Rinker, 1954; Voss, 1988).

Os únicos módulos presentes nas duas matrizes foram a oral e integração total, que neste caso, foram detectados apenas para o grupo  $2n = 14$ . As regiões da abóbada e neurocrânio foram detectadas para todos os grupos, as quais não foram detectadas na matriz com variação do

tamanho, assim como a região zigomática, detectada apenas para o grupo  $2n = 14$ . A variação de tamanho influencia na detecção dos módulos, em geral, ao se remover o vetor alométrico (variação do tamanho), novos módulos são detectados (Shirai & Marroig, 2010). A região da abóbada craniana está relacionada à proteção do cérebro (Perez et al., 2009). Espera-se que a abóbada tenha pouca interação com o meio ambiente, pois atinge o tamanho e a forma adulta precocemente durante a ontogenia (Perez et al., 2009).

A região da base do crânio não foi reconhecida como módulo em nenhuma matriz observada, sendo esta região responsável por fornecer a “base” sob a qual o resto do crânio irá se desenvolver e serve também como proteção dos meios de conexão do cérebro com a face e o restante do corpo (Lieberman et al., 2000).

Segundo a definição biológica de espécie (Mayr, 1942), considera-se a mesma espécie indivíduos que tenham a capacidade de cruzarem e gerarem descendentes férteis. Christoff (1997) e Massariol (2016) consideram os grupos de *A. cursor* ( $2n = 14, 15$  e  $16$ ) como sendo uma única espécie, por não apresentarem diferenciação morfológica entre os grupos e gerarem descendentes férteis (mesmo que com acentuada redução da fertilidade dos híbridos). Porém as análises morfológicas deste estudo contradizem as considerações de Christoff (1997) e Massariol (2016), pois os grupos  $2n = 14/15$  e  $16$  se diferem morfológicamente em tamanho, evidenciando a hipótese de que os dois clados distintos morfológicamente. Nas observações de Massariol (2016) pode-se notar a ação da seleção disruptiva (quando ambos os extremos são favorecidos em relação aos tipos intermediários) em *A. cursor*, imposta por um valor adaptativo distinto de cada cariótipo em cada região. A fixação de  $2n = 14$  ao sul e  $2n = 16$  ao norte sugere um mecanismo de isolamento reprodutivo, resultando em uma especiação alopátrica, o mesmo pode estar ocorrendo entre os indivíduos portadores do cariótipo  $2n = 14$ , pertencentes aos clados norte e sul.

No caso de *A. cursor*, dados moleculares, como os de Rieger et al. (1995) utilizando aloenzimas e os de Geise et al. (2001) utilizando as sequências do gene Cit-b associadas a dados cariotípicos, recuperaram dois clados denominados de *A. cursor* ( $2n = 14$ ) e *A. aff. cursor* ( $2n = 16$ ). Massariol (2016) sugeriu que a especiação alopátrica estaria atuando sobre as populações isoladas da Paraíba e Pernambuco ( $2n = 16$ ). Nesse tipo de especiação, o isolamento das populações acontece devido ao surgimento de barreiras geográficas (no caso de *A. cursor*, o Vale do Jequitinhonha) e passam a sofrer diferentes pressões seletivas, desenvolvendo novas características, que atuam como isolamento reprodutivo (Mayr, 1942; Mayr, 1963).

A variação morfológica observada aqui pode estar ocorrendo devido a um processo de especiação dentro de “*A. cursor*”, ao longo da sua distribuição geográfica. Apoiamos a ideia de que as pressões seletivas que ocorrem nas diferentes regiões habitadas pelas formas cariotípicas

distintas  $2n = 14S$ ,  $2n = 14N/15$  e  $2n = 16$  estão atuando nos indivíduos, principalmente em relação a disponibilidade de recursos relacionada à alimentação e reprodução. Através do conceito morfológico de espécie, podemos sugerir então três grupos taxonômicos distintos para “*A. cursor*”: *A. cursor* ( $2n = 14N/15$ ), *A. aff. cursor* ( $2n = 16$ ) e uma nova entidade taxonômica ( $2n = 14S$ ), sendo os dois primeiros nomenclaturas já sugeridas por Rieger *et al.* (1995).

Este estudo gerou duas abordagens distintas, variação morfométrica e integração morfológica, que serão discutidas mais a fundo futuramente.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, N. Genômica comparativa de roedores Akodontinos *Akodon cursor*, *A. montensis* e *Necomys lasiurus* (Cricetidae: Rodentia). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil. 2014.
- ARNOLD, S. Constraints on phenotypic evolution. *The american naturalist*. 140:85-107. 1992.
- ASTÚA, D., BANDEIRA, I. & GEISE, L. Cranial morphometric analyses of the cryptic rodents species *Akodon cursor* and *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae). *Oecologia Australis*. 19(1):143-157. 2015.
- BERG, R. The Ecological significance of Correlation Pleiades. *Evolution*. 14:171-180. 1960.
- BOOKSTEIN, F. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge. 455p. 1991.
- BRANDÃO, M., PERCEQUILLO, A., D'ELÍA, G., PARESQUE, R. & CARMIGNOTTO, A. A new species of *Akodon* Meyen, 1833 (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) endemic from the Brazilian Cerrado. *Journal of Mammalogy*. 102(1):101-122. 2021.
- CARLETON, M. & MUSSER, G. Order rodentia. *Mammal species of the world*. p.745-752. 2005.
- CERQUEIRA, R., SANTORI, R., GENTILE, R. & GUAPYASSU, S. Morphological ecological differences between two populations of *Akodon cursor* (Rodentia: Sigmodontinae) in a brazilian restinga. *J. Adv. Zool*. 24:46-52. 2003.
- CHEVERUD, J. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution*. p.499-516. 1982.
- CHEVERUD, J. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of theoretical biology*. 110(2):155-171. 1984.

CHRISTOFF, A. Contribuição à sistemática das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) do leste do Brasil: estudos anatômicos, citogenéticos e de distribuição geográfica. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 1997.

COLOMBI, V. Diversidade cariotípica em *Akodon cursor* (Rodentia, Sigmodontinae). Monografia. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil. 2010.

COLOMBI, V., LOPES, S. & FAGUNDES, V. Testing the Rio Doce as a riverine barrier in shaping the Atlantic rainforest population divergence in the rodent *Akodon cursor*. *Genetics and Molecular Biology*. 33(4):785-789. 2010.

CORDEIRO-JÚNIOR, D. Estrutura e função testiculares em roedores silvestres das Famílias Echimyidae (*Trinomys moojeni*) e Cricetidae (*Akodon cursor*, *Akodon montensis*, *Necomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes*), da Reserva Particular do Patrimônio Natural do Caraça – MG. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil. 2009.

COSTA, B. Evolução e integração morfológica do crânio de roedores da subfamília Sigmodontinae Wagner, 1843 (Cricetidae, Rodentia). Tese de doutorado, Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo. 195p. 2013.

COX, P. & JEFFERY, N. Reviewing the Morphology of the Jaw-Closing Musculature in Squirrels, Rats, and Guinea Pigs with Contrast-Enhanced MicroCt. *The Anatomical Record*, 294(6):915-928. 2011.

COX, P., RAYFIELD, E., FAGAN, M., HERREL, A., PATAKY, T. & JEFFERY, N. Functional evolution of the feeding system in rodents. *PloS one*. 7(4), e36299. 2012.

FAGUNDES, V., VIANNA-MORGANTE, A. & YONENAGA-YASSUDA, Y. Telomeric sequences localization and G-banding patterns in the identification of a polymorphic chromosomal rearrangement in the rodent *Akodon cursor* (2n = 14, 15 and 16). *Chromosome research*. 5:228-232. mar/1997.

FAGUNDES, V., CHRISTOFF, A. & YONENAGA-YASSUDA, Y. Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ( $2n = 16, 15$  and  $14$ ). *Hereditus*. 129:263-274. dec/1998.

FAGUNDES, V. & NOGUEIRA, C. The use of PCR-RFLP as an identification tool for three closely related species of rodents of the genus *Akodon* (Sigmodontinae, Akodontini). *Genetics and Molecular Biology*. 30(3):698-701. 2007.

FORNEL, R. & CORDEIRO-ESTRELA, P. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. In: Marinho *et al.* (Org). *Temas em Biologia: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim*. 1ed.Erechim: EDIFAPES. p.101-120. 2012.

GARCIA, G. Análise comparativa dos padrões de covariação genética e fenotípica no crânio e mandíbula de *Calomys expulsus* (Rodentia: Muridae). Dissertação de mestrado na área de genética e biologia evolutiva. Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo. 95p. 2010.

GEISE, L. *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae). *Mammalian species*. 44(893):33-43. jun/2012.

GEISE, L., ÁSTUA, D. & SILVA, H. Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the Atlantic Coastal area of Brazil. *Arquivos do Museu Nacional*. 63:63-74. 2005.

GEISE, L., CANAVEZ, F. & SEUÁNEZ, H. Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from southeastern Brazil. *Journal of Heredity*. 89(2):158-163. 1998.

GEISE, L., SMITH, M. & PATTON, J. Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in southeastern South America: mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Mammalogy*. 82(1):92-101. 2001.

GOMES, L. & OLIVEIRA, A. Montagem e manutenção de colônias de besouros do gênero *Dermestes* (Coleoptera: Dermestidae) Linnaeus, 1758 para preparação de esqueletos usados em coleções biológicas. *Boletim da sociedade brasileira de mastozoologia*. 73:37-41. 2015.

HUBBE, A. Análise morfológica craniana de *Xenarthra* atuais e extintos: inferências evolutivas e funcionais. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo. 267p. 2013.

IUCN (International Union for Conservation of Nature) 2008. *Akodon cursor*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1.

KLINGENBERG, C. Morphological Integration and Developmental Modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 39(1):115–132. 2008.

KLINGENBERG, C. Cranial integration and modularity: Insights into evolution and development from morphometric data. *Hystrix, The Italian Journal of Mammalogy*. 24:43–58. DOI 10.4404/hystrix-24.1-6367. 2013.

LIEBERMAN, D., PEARSON, O. & MOWBRAY, K. Basicranial influence on overall cranial shape. *Journal of Human Evolution*. 38:291–315. DOI 10.1006/jhev.1999.0335. 2000.

MAESTRI, R., FORNEL, R., GALIANO, D. & FREITAS, T. Niche suitability affects development: skull asymmetry increases in less suitable areas. *Plos one*. 10(4):15p. 2015.

MAIA, V. & LANGGUTH, A. New karyotypes of Brazilian akodont rodents with notes on taxonomy. *Sonderdruck-Zeitschrift fur Säugetierkunde*. 4:241-289. 1981.

MANDUCA, E. Estudo das variações morfológica craniana e citogenética em *Akodon cursor* (Rodentia: Sigmodontinae) no estado de Minas Gerais. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa. 68p. 2008.

MARROIG, G. & CHEVERUD, J. 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. 2001.

MASSARIOL, C. Especiação em *Akodon cursor* (Winge, 1887): uma abordagem multidisciplinar. Tese de doutorado em Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo. 205p. 2016.

MAYR, E. Systematics and the origin of species from the viewpoint of a zoologist. Columbia University Press. New York. 372p. 1942.

MAYR, R. Animal species and evolution. Cambridge MA: The Belknap Press of Harvard University Press. 1963.

MELO, D. & MARROIG, G. Directional selection can drive the evolution of modularity in complex traits. *PNAS*. 112:470-475. DOI doi.org/10.5061/dryad.3cb81. 2015.

MELO, D., PORTO, A., CHEVERUD, J. & MARROIG, G. Modularity: Genes, Development, and Evolution. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 47:463–486. DOI 10.1146/annurev-ecolsys-121415-032409. 2016.

MIRANDA, A. & PALHARES, M. Mueares: Características, origem e particularidades clínico-laboratoriais. *Revista Científica De Medicina Veterinária*. ISSN 1679-7353. Ano XIV. n.29. jul/2017.

MONTEIRO, L. & REIS, J. Princípios de Morfometria Geométrica. Holos, Ribeirão Preto. 1999.

MYERS, K. & HALL, W. Conditioned changes in appetitive and consummatory responses to flavors paired with oral or nutrient reinforcement among adult rats. *Physiology & Behavior*. 68(5):603-610. 2000.

NOGUEIRA, C. & FAGUNDES, V. *Akodon cursor* Winge, 1887 (Rodentia: Sigmodontinae): one or two species? New evidences based on molecular data. *Zootaxa*. 1768:41-51. 2008.

NOWAK, R. & PARADISO, J. Walker's Mammals of the World. Baltimore. 1:1-642. 1999.

OLIVEIRA, F. & LANGGUTH, A. Pequenos mamíferos (Didelphimorphia e Rodentia) de Paraíba e Pernambuco, Brasil. *Revista Nordestina de Biologia*. 18(2):19-86. 2004.

OLIVEIRA, F., PORTO, A. & MARROIG, G. Covariance structure in the skull of Catarrhini: a case of pattern stasis and magnitude evolution. *Journal of human evolution*. 56(4):417-430. 2009.

OLSON, E. & MILLER, R. *Morphological integration*. University of Chicago Press. 1958.

PARDIÑAS, U., TETA, P., ALVARADO-SERRANO, D., GEISE, L., JAYAT, J., ORTIZ, P., GONÇALVES, P. & D'ELÍA, G. Genus *Akodon* Meyen, 1833. In PATTON *et al.* *Mammals of South America, Vol.2, Rodents*. The University of Chicago Press. p.144-204. 2015.

PARESQUE, R., SOUZA, W., MENDES, S. & FAGUNDES, V. Composição cariotípica da fauna de roedores e marsupiais de duas áreas de Mata Atlântica do Espírito Santo, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*. 17:5-33. 2004.

POLLY, P. Developmental dynamics and G-Matrices: can morphometric spaces be used to model phenotypic evolution?. *Evolutionary biology*. 35(2):83-96. 2008.

POOR, A. "Sigmodontinae", *Animal Diversity Web*. {on line}. Disponível na internet via <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Sigmodontinae/>. Arquivo capturado em 09 de Setembro de 2020. 2005.

PORTO, A., OLIVEIRA, F., SHIRAI, L., CONTO, V. & MARROIG, G. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*. 36(1):118-135. 2009.

R Core Team (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RAIDAN, C. Integração morfológica e modularidade craniana em roedores pertencentes à família Echimyidae Gray, 1825. Dissertação em mestrado de Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo. 75p. 2017.

- RAIDAN, C., ASSIS, A., SILVA, F., LESSA, G. & PARESQUE, R. Geographical variation and sexual dimorphism in cranial size and shape of *Kannabateomys amblyonyx* (Rodentia: Echimyidae). *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*. 85:31-39. 2019.
- RIBEIRO, P., COIMBRA, R., ROCHA, E., GONÇALVES, G., ALVES, G., EUSTÁQUIO, V & CASTRO, L. Principais diferenças fenotípicas e genéticas entre bardotos e muares. *Sinapse Múltipla*. 6(2):301-305. dez/017.
- RIEGER, T., LANGGUTH, A. & WEIMER, T. Allozymic characterization and evolutionary relationships in the brazilian *Akodon cursor* Species Group (Rodentia-Cricetidae). *Biochemical Genetics*. 33:283-295. 1995.
- RINKER, G. The comparative myology of the mammalian genera *Sigmodon*, *Oryzomys*, *Neotoma*, and *Peromyscus* (Cricetinae), with remarks on their intergeneric relationships. 1954.
- ROHLF, F. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21:299-316. 1990.
- ROHLF, F. & MARCUS, L. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*. 8(4):129-132. 1993.
- SBALQUEIRO, I. & NASCIMENTO, A. Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*. 19(4):565-569. 1996.
- SHIRAI, L. & MARROIG, G. Skull modularity in neotropical marsupials and monkeys: size variation and evolutionary constraint and flexibility. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 314(8):663-683. 2010.
- SILVA, H. Evolução morfológica em marsupiais (Mammalia, Didelphimorphia) do Novo Mundo. Tese de doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 223p. 2010.
- SLICE, D. Modern morphometrics em slide, D.E (ed) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. p.1-45. 2005.

VOSS, R. Systematics and ecology of ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bulletin of the AMNH*. v.188. article 2. 1988.

YONENAGA, Y. New karyotypes and somatic and germ-cell banding in *Akodon arviculoides* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetic and Cell Genetic*. 23:241-249. 1979.

YONENAGA, Y., KASAHARA, S., ALMEIDA, E. & PERACCHI, A. Chromosome banding patterns in *Akodon arviculoides* (2n=14), *Akodon* sp. (2n=24 and 25), and two male hybrids with 19 chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics*. 15:388-399. 1975.