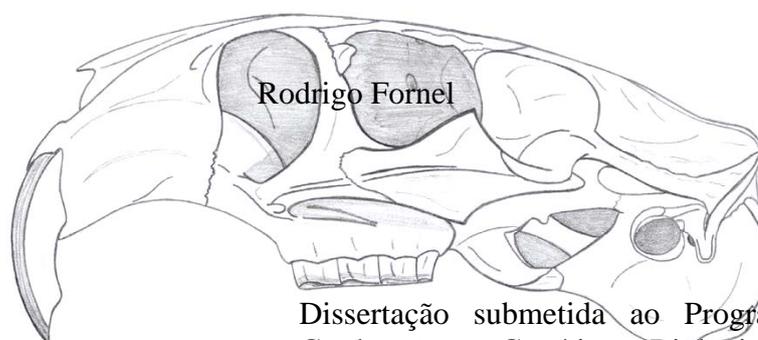
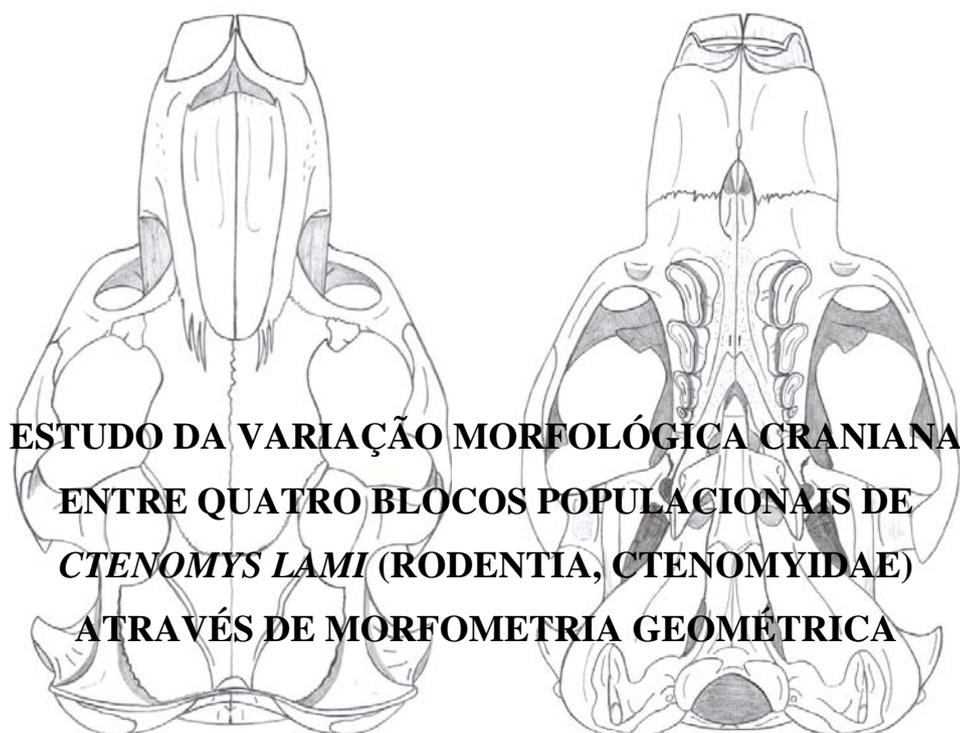


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL



Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.
Orientador: Prof. Dr. Thales Renato O. de Freitas.

Porto Alegre
Março, 2005

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética e Evolução de Vertebrados do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, subvencionado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Aos meus pais Paulo e Isolde.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Thales Renato O. de Freitas pelo apoio, orientação e incentivo.

A Daniela Sanfelice, pela paciência e ajuda com os programas de morfometria geométrica sendo praticamente Co-orientadora deste trabalho... muito obrigado Dani.

A Daniza Molina Shiller, pelas discussões sobre os métodos morfométricos e pelo empréstimo da câmera que utilizei para fotografar os crânios.

A minha amada Tatiane pela paciência, carinho e incentivo em todos os momentos (te amo guria).

A todos os colegas da sala 103 do Departamento de Genética, em especial aos “tucólogos”. Agradecer ao amigo Fabiano Araujo Fernandes por todo o apoio e pelas agradáveis conversas no RU. Ao colega José F. B. Stolz pela amizade e por me levar em uma de suas coletas no Taim onde peguei meu primeiro tuco-tuco. A Gabriela P. Fernández pelo carinho e amizade. A Gisele S. Rebelato pelo auxílio na tomada das fotos dos crânios. A Lígia Tchaicka e a Gislene L. Gonçalves por todas as “aulas” que me deram. A Eunice M. Matte, Elise H. Giacomoni, Tatiane C. Trigo e Cristine S. Trinca pela amizade e carinho.

Aos colegas de pós-graduação Renata Coura, Ernesto, Fábio, Gustavo, Martin, Tiago e Rafael, além de colegas, amigos.

Aos incansáveis: Elmo, Ellen e Lucia por todo o auxílio e apoio que me deram.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e aos professores do departamento de Genética pela dedicação dentro e fora da sala de aula.

Aos meus ex-professores da UNIJUÍ, professora Lenice Medeiros, por me apresentar a morfometria geométrica e ao professor Telmo Uriarte, por todo o incentivo para fazer o mestrado na genética da UFRGS.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida durante todo o mestrado.

Por último, mas talvez o mais importante agradecer aos meus pais Paulo e Isolde por tudo que fizeram por mim, pela educação, carinho e apoio incondicional. Pai, Mãe... muito obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
I INTRODUÇÃO	8
I.1 O Gênero <i>Ctenomys</i>	8
I.1.1 As espécies de <i>Ctenomys</i> do Rio Grande do Sul.....	9
I.1.2 <i>Ctenomys lami</i>	10
I.2 Evolução Cromossômica.....	14
I.3 Evolução Morfológica.....	14
I.4 Morfometria Geométrica.....	16
II OBJETIVOS	19
III MATERIAL E MÉTODOS.....	20
IV RESULTADOS	25
IV.1 Tamanho do Centróide para Machos e Fêmeas.....	25
IV.2 Análise de Componentes Principais	28
IV.3 Análise de Variáveis Canônicas	30
IV.4 Distâncias entre Formas Médias.....	51
IV.5 Diferenças na Forma do Crânio entre Machos e Fêmeas	54
IV.6 Diferenças na Forma do Crânio entre Blocos Populacionais	57
V DISCUSSÃO	66
VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

RESUMO

Este estudo analisa a variação na forma do crânio de *Ctenomys lami*, em relação a machos e fêmeas, diferentes blocos populacionais, diferentes números diplóides, cariótipos e em relação aos pares cromossômicos 1 e 2. Foram utilizados 90 crânios de espécimes adultos, 36 machos e 54 fêmeas, todos provenientes da região da Coxilha das Lombas, Rio Grande do Sul, Brasil. Esta espécie apresenta sete citótipos diferentes distribuídos em quatro blocos populacionais, sendo o bloco A com $2n = 54$, 55a e 56a; bloco B com $2n = 57$ e 58; bloco C com $2n = 54$ e 55a; e o bloco D com $2n = 55b$ e 56b. A variação morfométrica foi estudada nas vistas dorsal, ventral e lateral dos crânios, sendo determinados marcos anatômicos em cada uma delas. Os marcos foram posicionados com o programa TPSDig, totalizando 14 marcos para a vista dorsal, 14 para a ventral e 15 para a lateral. Para as análises de morfometria geométrica foi utilizado o método de sobreposição de Procrustes com as coordenadas dos marcos para diferentes vistas foram feitas análises de componentes principais (PCA), análises de variáveis canônicas (CVA), análise das distâncias de Procrustes entre as formas médias. Os resultados confirmam a presença de diferentes blocos populacionais com formas específicas para cada um deles, variação da forma em relação aos diferentes números cromossômicos e presença de dimorfismo sexual para a espécie, sendo este mais intenso no bloco B. Estes dados nos levam a sugerir que existe associação entre variação cromossômica e variação morfológica.

ABSTRACT

This study examine the shape variation in the skull of *Ctenomys lami*, in relation to males and females, different population blocks, different diploid numbers, karyotypes and in relation to chromosomal pairs 1 and 2. We used 90 skulls of adults specimens (36 males and 54 females), all of them deriving from Coxilha das Lombas, Rio Grande do Sul, Brazil. This species have seven different cytotypes distributed in four population blocks, block A with $2n = 54$, 55a and 56a; block B with $2n = 57$ and 58; block C with $2n = 54$ and 55a; and block D with $2n = 55b$ and 56b. The morphometric variation was studied in the dorsal, ventral and lateral views of the skull. We established landmarks in each view. Landmarks were located with TPSDig software, 14 in the dorsal view, 14 in the ventral view and 15 for lateral view. For the geometric morphometric analysis we used Procrustes superimposition method based in the coordinates of landmarks for different views. We made Principal Component Analysis (PCA), Canonical Variate Analysis (CVA), comparisons between distances between means shape. The results confirm the presence of different population blocks with specific shapes for each one, shape variation in relation to different chromosome number and existence of sexual dimorphism for this species, been more intense in block B. This data led us to suggest the existence of association between chromosome variation and morphological variation.

I INTRODUÇÃO

I.1 O Gênero *Ctenomys*

Charles Darwin, em julho de 1832 quando passava pelo Brasil, em uma de suas paradas na América do Sul em sua famosa viagem ao redor do Mundo escreveu que o tuco-tuco (*Ctenomys brasiliensis*) é um curioso animal, roedor, pequeno e com hábitos de toupeira (Darwin, 1832).

O gênero *Ctenomys* foi descrito por Blainville em 1826. E é representado por pequenos roedores fossoriais, portanto, animais que vivem em galerias no solo escavadas por eles próprios. O nome científico *Ctenomys* vem do grego, onde “*Ctenus*” significa pente e “*mys*” significa rato. Este nome “rato dos pentes” se deve aos pêlos modificados em cerdas nas patas que aumentam a superfície de contato destas, auxiliando assim na escavação. Além das patas, estes roedores também fazem uso dos dentes incisivos para escavar o solo. Estes dentes são grandes, fortes, apresentam um esmalte alaranjado no bordo anterior e mesmo quando o animal está com a boca fechada, os incisivos permanecem expostos. Além das patas robustas e dentes incisivos proeminentes, estes animais apresentam outras adaptações ao estilo de vida fossorial, como pavilhão auditivo externo reduzido, cabeça maciça, cauda curta e corpo robusto e cilíndrico. São conhecidos popularmente como “tuco-tucos”, devido aos sons graves e fortes que emitem (Reig, 1989; Reig *et al.*, 1990; Nowak & Paradiso, 1991; Lacey *et al.*, 2000).

Estes animais desenvolvem boa parte de suas atividades (e. g. reprodução, alimentação e cuidado com a prole) dentro das galerias. Eventualmente esses roedores vêm à superfície para limpar a toca e buscar alimento. Sendo este último constituído basicamente de raízes e folhas de gramíneas que se encontram ao redor das aberturas das tocas (Reig, 1989; Nowak & Paradiso, 1991).

Os tuco-tucos atualmente são representados por aproximadamente 60 espécies. A maioria destas são solitárias, com cada indivíduo ocupando um sistema de túneis (Nowak & Paradiso 1991; Lacey *et al.*, 2000). A exceção está no período de reprodução quando podem ser encontrados casais ocupando um mesmo sistema de túneis ou quando a fêmea está lactante e cuidando da prole que varia de dois a quatro filhotes. As galerias podem ter até nove metros de extensão, com várias ramificações, câmaras para estocar alimento e

diferentes aberturas para a superfície, geralmente cobertas com um tampão de areia fresca. São na maioria políginos, apresentam pequeno número efetivo e sistema de cruzamento estruturado socialmente (Reig *et al.*, 1990; Gastal, 1994; Altuna *et al.*, 1999; Zenuto *et al.*, 1999; Lacey *et al.*, 2000). Ambos os sexos são territoriais, sendo os machos mais agressivos. Quando os juvenis atingem a idade aproximada de cinco semanas (Nowak & Paradiso, 1991; Altuna *et al.*, 1999) constroem seu próprio sistema de túneis e eventualmente migram, neste momento são altamente vulneráveis à predação (Pearson *et al.*, 1968; Altuna *et al.*, 1999).

A distribuição de *Ctenomys* é ampla, ocupando a região meridional da América do Sul, indo da Bolívia e sul do Peru até à Terra do Fogo no extremo sul (Pearson, 1959; Reig *et al.*, 1990). Em geral habitam campos abertos, arenosos ou semi-arenosos. A origem mais provável deste grupo pode ter ocorrido onde hoje é a Argentina, durante o Plioceno tardio – Pleistoceno, passando depois por uma explosiva cladogênese (Nevo, 1979; Reig, 1986; 1989; Contreras *et al.*, 1987; Reig *et al.*, 1990; 1992; Lessa & Cook, 1998).

Este gênero possui a mais ampla variação cariotípica entre os mamíferos, de $2n = 10$ até $2n = 70$ (Reig *et al.*, 1990). Assim como outros roedores fossoriais, possuem um baixo poder de dispersão (Reig *et al.*, 1990; Malizia *et al.*, 1995; Freitas, 1995), o que resulta em baixo fluxo gênico (Pearson *et al.*, 1968), contribuindo possivelmente para a fixação de novos arranjos cromossômicos nas populações ao longo de sua evolução (Patton & Sherwood, 1983; Reig, 1989).

Várias espécies de *Ctenomys*, devido à modificação antrópica de seus habitats, estão hoje reduzidas em seu número ou até mesmo ausentes em regiões onde antes eram abundantes (Nowack & Paradiso, 1991).

I.1.1 As espécies de *Ctenomys* do Rio Grande do Sul

No Estado do Rio Grande do Sul, são encontradas atualmente cinco espécies de tuco-tucos: *Ctenomys flamarioni* Travi 1981, *C. torquatus* Lichtenstein 1830, *C. minutus* Nehring 1887, *C. lami* Freitas 2001 e *Ctenomys sp.*

Ctenomys flamarioni, apresenta uma distribuição restrita à primeira linha de dunas da região Costeira do Rio Grande do Sul, desde Chuí até aproximadamente 25 km a sul do município de Arroio Teixeira, limite norte. Possui coloração clara e tem corpo bastante

robusto em relação aos tuco-tucos de distribuição mais interior ao continente. Apresenta apenas um cariótipo $2n = 48$ (Freitas, 1994; 1995).

Ctenomys torquatus, ocupa a porção centro-sul do Estado, ocorrendo em campos abertos arenosos. Apresenta um colar branco que parte do pavilhão da orelha contornando o pescoço ventralmente até o lado oposto (Travi, 1983). No Rio Grande do Sul são descritos dois citótipos diferentes $2n = 44$ e 46 (Freitas & Lessa, 1984).

Ctenomys minutus, distribui-se pelos campos arenosos, paralelamente à Planície Costeira, sendo o limite da distribuição ao norte o município de Jaguaruna em Santa Catarina e ao sul o município de São José do Norte no Rio Grande do Sul (Freitas, 1995; Gava & Freitas, 2002). Dados citogenéticos, aloenzimáticos e morfológicos, sugerem que *C. minutus* seria derivada de *C. lami* (Moreira *et al.*, 1991; Freitas, 2001). Nesta espécie são encontrados onze cariótipos distintos ao longo de sua distribuição geográfica, $2n = 42$, $46a$, $46b$, $47a$, $47b$, $48a$, $48b$, $49a$, $49b$, $50a$ e $50b$ (Freygang *et al.*, 2004).

Ctenomys lami, entre as espécies do Estado que se encontram na Planície Costeira, é a que ocupa a região mais antiga, denominada Coxilha das Lombas, que vai de Porto Alegre até a Lagoa dos Barros. É morfológicamente semelhante a *C. minutus* com coloração em geral marrom. Apresenta sete cariótipos diferentes $2n = 54$, $55a$, $55b$, $56a$, $56b$, 57 e 58 (Freitas, 1990; 2001).

Ctenomys sp. está sendo descrita por Jorge R. Marinho e Thales R. O de Freitas. Foi encontrada na Reserva Biológica do Ibirapuitã, próxima de Alegrete no oeste do Estado. Possui uma coloração diferente das outras espécies, apresentando um padrão malhado em preto e branco ou marrom e branco. Até o momento, foi registrado um padrão cromossômico de $2n = 40$ (Thales R. O. de Freitas, comunicação pessoal).

1.1.2 *Ctenomys lami*

O nome “lami”, refere-se a praia do Lami as margens do Lago Guaíba na Grande Porto Alegre, onde está a localidade tipo da espécie: Beco dos Cegos (Fig. 1). Essa espécie ocupa a região denominada Coxilha das Lombas, indo desde o nordeste do Lago Guaíba, ao sul de Porto Alegre, até a margem sudoeste da Lagoa dos Barros no município de Osório. Formando uma estreita faixa de 78 por 10 quilômetros, tendo como limite noroeste o Banhado dos Pachecos e à sudeste, o Banhado dos Touros (Freitas, 1995). Esta área

originou-se durante o Pleistoceno Inferior (1,8 milhão de anos atrás) e é resultado do primeiro evento transgressional – regressional marinho, através de depósitos eólicos. Portanto, a Coxilha das Lombas é uma faixa arenosa alongada que constitui a linha de dunas mais antiga e interiorizada da Província Costeira do Estado (Vilcock, 1989). Atualmente esta área é caracterizada por apresentar pastagens e vegetação antrópica que ocorre em solos arenosos (Freitas, 1990; 2001).

A espécie *C. lami* apresenta cinco números diplóides distribuídos em sete cariótipos, $2n = 54, 55a, 55b, 56a, 56b, 57$ e 58 . O cariótipo básico e mais freqüente é o de $2n = 54$, que possui os pares cromossômicos 1 e 2 formados por cromossomos grandes metacêntricos. No citótipo $2n = 55$, um dos cromossomos do par 1 ($2n = 55a$), ou do par 2 sofre fissão ($2n = 55b$). A fissão dos cromossomos homólogos do par 1 forma o citótipo $2n = 56a$ e a fissão dos cromossomos homólogos do par 2, forma o citótipo $2n = 56b$. Na forma $2n = 57$ foi observado somente um metacêntrico no par 1, e no par 2 fissionado formando quatro acrocêntricos. Finalmente, no citótipo $2n = 58$ observa-se a fissão dos dois homólogos do par 1 e 2 dando origem a oito cromossomos acrocêntricos (Freitas, 1990).

Devido a topografia da região e ao padrão de distribuição geográfica dos diferentes citótipos, foi proposto a separação em quatro blocos populacionais ao longo dos 78 km na Coxilha das Lombas (Fig.1). Em um transecto sudoeste-nordeste, identificam-se os blocos A, com $2n = 54, 55a$ e $56a$; o bloco B, com $2n = 57$ e 58 ; o bloco C, com $2n = 54$ e $55a$, e o bloco D, com $2n = 55b$ e $56b$. O bloco A encontra-se parcialmente isolado do bloco B por elevações graníticas, o bloco B está separado do bloco C por uma barreira formada pela conexão dos banhados dos Pachecos e dos Touros. Entre os blocos C e D, não existe nenhuma barreira geográfica efetiva, apenas se verifica a mudança nos tipos cromossômicos entre os dois blocos populacionais (Freitas, 1990). *Ctenomys lami* pode ser considerada como a mais antiga espécie de *Ctenomys* da Província Costeira do Rio Grande do Sul, apresentando a maior variabilidade cariotípica na menor distribuição geográfica (Freitas, 1990; 1995).

Estudos craniométricos com esta espécie (através de morfometria tradicional), mostraram a existência de dimorfismo sexual, com machos em média maiores do que as fêmeas e também diferenças na forma do crânio (Freitas, 1990). Também foram realizados estudos sobre polimorfismos protéicos e os resultados indicaram uma separação em dois

grandes grupos quanto aos Coeficientes de Similaridade Genética; um formado pelos blocos A e B e o outro pelos blocos C e D (Moreira *et al.*, 1991). Por outro lado, El Jundi (2003), através de marcadores moleculares (microssatélites) observou que apesar da grande diversidade cariotípica e molecular, estes dados não apoiam nenhum padrão de subdivisão da espécie *C. lami* em blocos.

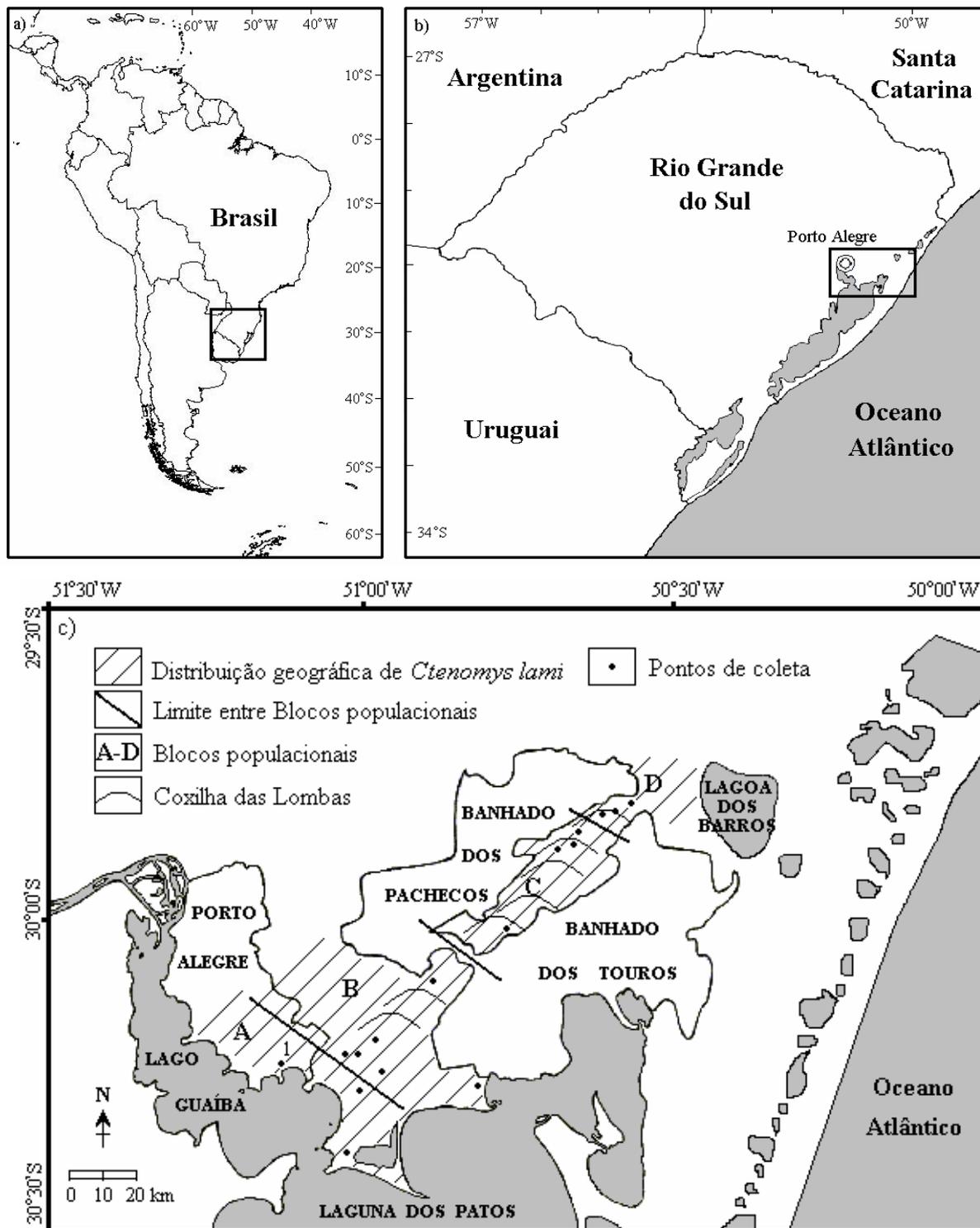


Figura 1 - Distribuição geográfica de *C. lami*. a) América do Sul; b) Rio Grande do Sul; e c) Região da Coxilha das Lombas com os quatro blocos populacionais A, B, C e D. O ponto 1 refere-se à localidade tipo de Beco dos Cegos.

I.2 Evolução Cromossômica

Diferenças cromossômicas substanciais entre populações são frequentemente observadas em organismos como gafanhotos ápteros e roedores subterrâneos, onde as populações são pequenas e existe um pequeno fluxo gênico (Futuyma, 2003). Fusões Robertsonianas formam o tipo mais comum de rearranjo estrutural encontrado entre espécies ou raças cromossômicas. Estas compreendem a fusão de dois cromossomos acrocêntricos formando um metacêntrico, ou a fissão de um metacêntrico em dois cromossomos acrocêntricos (King, 1993). Segundo Reig & Kiblicky (1969), as fusões ou fissões Robertsonianas podem ter sido um mecanismo ativo importante na evolução cromossômica do gênero *Ctenomys*, assim como pela proliferação deste grupo de roedores. A maioria dos tipos de fusões e fissões nos cromossomos incluem Rearranjos Robertsonianos. Como foi descrito antes, *C. lami* apresenta tal tipo de rearranjos somado a inversões pericêntricas e os primeiros se mostram associados à distribuição geográfica da espécie (Freitas, 1990; 2001).

Aparentemente alguns genomas têm um maior potencial para mudar, enquanto outros permanecem inertes no tempo. Rearranjos cromossômicos se formam de processos não aleatórios onde elementos transponíveis e quebras em sítios particulares podem levar a certos tipos de rearranjos. Cascatas de eventos podem levar a uma série de mudanças nos rearranjos promovendo rápida evolução cromossômica e a formação de um decisivo isolamento reprodutivo aumentando com o gradual acúmulo de diferenças individuais. Aparentemente os rearranjos de heterose negativa são capazes de produzir mecanismos de isolamento pós-copulatórios e podem ser estabelecidas em situações em que o isolamento, endocruzamento, gradientes de seleção, populações pequenas e eventos de colonização estejam incluídos (King, 1993).

I.3 Evolução Morfológica

A evolução de morfologias complexas, como o crânio dos mamíferos, no qual muitas características interagem para construir um organismo funcional e morfológicamente integrado, é um tema importante que trás conceitos de várias áreas da biologia evolutiva. Principalmente a partir das idéias de Darwin, o entendimento de como

morfologias complexas se desenvolvem e evoluem tem sido um tema central mas pouco entendido em biologia evolutiva. Um organismo não é uma simples “impressão” do genoma. Para compreender inteiramente a evolução precisamos de informações sobre o mapa do genótipo (em última instância o DNA) que leva ao fenótipo via o processo de desenvolvimento (Atchley & Hall, 1991; Raff, 1996). Por exemplo, o crescimento coordenado do cérebro e crânio de um mamífero é alcançado através de uma série de interações de tecidos entre o desenvolvimento do cérebro, o crescimento dos ossos do crânio e as suturas que unem os ossos, unindo a expansão do cérebro com o crescimento dos ossos e das suturas (Kim *et al.*, 1998).

Para melhor compreender a variação morfológica de um organismo, é necessário conhecer a sua morfogênese. O desenvolvimento de um organismo a partir da célula ovo fertilizada inclui processos de citodiferenciação, pelos quais as células adquirem diferentes características bioquímicas e estruturais e a morfogênese, que é aquisição da forma tridimensional de tecidos, órgãos e estruturas. O que acontece entre a ação gênica primária e o desenvolvimento de fenótipos complexos tem relação profunda com a evolução morfológica. A forma tridimensional de uma estrutura é influenciada em parte por fatores que controlam a taxa de divisão celular, de modo que células se multiplicam mais rapidamente em alguns sítios ou dimensões que em outros; a morte celular localizada também influencia na forma (Futuyma, 2003).

A variação fenotípica poucas vezes tem a ver com alterações na estrutura cromossômica. A mudança morfológica raramente envolve a evolução de enzimas ou proteínas inteiramente novas. Ao contrário, a maior parte da evolução morfológica parece estar relacionada a mudanças na organização espacial dos tipos celulares do organismo que estão em desenvolvimento, no tempo durante o qual os tipos celulares e tecidos se diferenciam e na forma geométrica de tecidos e órgãos. Ainda, o fenótipo em qualquer estágio da ontogenia é a consequência de interações entre tecidos e células, fatores genéticos e entre o organismo e fatores físicos (Futuyma, 2003).

I.4 Morfometria Geométrica

Possivelmente um dos temas biológicos mais antigos de interesse seja o estudo da forma dos organismos (Oxnard, 1980a, 1980b). Tanto que a própria palavra espécie tem sua origem em uma raiz indo-européia muito antiga, “*spek*”, que significa “aquilo que se vê” (Monteiro & Reis, 1999). O estudo da forma recebeu por muito tempo pouca importância dentro da biologia ou perante a filosofia desde a época de Aristóteles, permanecendo assim até o desenvolvimento das idéias de Charles Darwin (Mayr, 1998). Durante o período de Darwin, o estudo da forma foi progressivamente inserido dentro da biologia e situado juntamente com áreas como a embriologia e a ecologia. Darwin dimensionava a forma, ou seu estudo aplicado aos mais distintos organismos, como ponto central do entendimento da história natural e dos mecanismos geradores da variabilidade e conseqüente seleção natural (Darwin, 1859; Mayr, 1998). Suas idéias sobre recapitulação da filogenia pela ontogenia reuniram ainda argumentos para o parentesco único da vida, bem como a expressão de novas formas no decorrer do surgimento de linhagens em novos ambientes, aliando desta maneira os fatores variação, descendência, desenvolvimento, forma e função (McKinney, 1988).

O estudo da forma foi retomado de maneira substancial por D’Arcy W. Thompson (1917), que fez isto ao estudar a forma do ponto de vista funcional. Nos anos sessenta o estudo da forma esteve intimamente associado à ecologia, principalmente ao que se refere a teorias de tamanho de nicho (Van Valen, 1965; Hespeneide, 1973). Na mesma época do surgimento da ecomorfologia, cresce a importância do estabelecimento de morfotipos para o entendimento dos processos macroevolutivos (Galis, 1996; Foote, 1997). Em 1965, Blackith utiliza o termo morfometria para designar métodos que serviam para medir distâncias de forma entre espécies e, a partir destas, constituir fenogramas (Monteiro & Reis, 1999).

Dentro de um ponto de vista adaptacionista, forma é sinônimo de função. Desta maneira, estudos da forma podem se tornar instrumentos relevantes para estudos de sistemática filogenética, podendo também ser a base para estudos biogeográficos, ontogenéticos, morfométricos e genéticos. Além disso, estudos deste tipo podem auxiliar no entendimento de fenômenos de especiação e de interações entre organismos (Lauder, 1990).

A morfometria pode ser conceituada como o estudo estatístico das mudanças e variações na forma e no tamanho, ou a análise e mensuração de um componente complexo e multidimensional como a forma (Monteiro & Reis, 1999; Moraes, 2003). A morfometria é subdividida em morfometria tradicional e morfometria geométrica.

A chamada morfometria tradicional, é o estudo da variação e covariação de medidas de distâncias entre pares de pontos, geralmente comprimentos e larguras de estruturas e, as vezes, proporções e ângulos também podem ser utilizados (Rohlf & Marcus, 1993; Moraes, 2003).

A morfometria geométrica abrange uma série de técnicas que visam descrever e representar a geometria das formas estudadas. É capaz de descrever e localizar mais claramente as regiões de mudanças na forma, e de reconstruir e reconstituir graficamente estas mudanças. Esta descrição é feita através do estabelecimento de pontos anatômicos de referência em estruturas homólogas, os chamados marcos anatômicos. As coordenadas destes pontos, em duas ou três dimensões, são as variáveis que informarão sobre a geometria das estruturas estudadas. A vantagem do uso de coordenadas, é que estas incluem informações sobre suas posições relativas, e desta maneira permitem a reconstrução da forma após as diversas análises uni – e multivariadas. A morfometria geométrica tem maior robustez na análise integrada e exclui fatores de posição, orientação e tamanho na análise da forma (Monteiro & Reis, 1999; Moraes, 2003).

Essa nova abordagem morfométrica começou a ser mais amplamente utilizada no início dos anos noventa, refletindo o resultado da busca dos pesquisadores em morfologia quantitativa por métodos que unissem o caráter geométrico das formas biológicas e a possibilidade de um tratamento estatístico da variação. Ou seja, uma área de pesquisa entre a biologia, a estatística e a geometria (Monteiro & Reis, 1999). Além dos já citados, esta técnica é também utilizada em estudos ontogenéticos, caracterização de dimorfismo sexual e em filogenias de espécies aparentadas (Moraes, 2003).

Reis e cols. (2002), estudaram a morfologia craniana do roedor *Thrichomys apereoides* em relação a variação geográfica desta espécie, em 20 populações do nordeste, centro e sudeste do Brasil. Através de morfometria geométrica, estes autores demonstraram associação entre similaridades morfológicas e continuidade geográfica. Isto, com diferentes níveis de resolução para cada vista do crânio, dorsal, ventral e lateral, sendo que esta última revelou a existência de dois grupos populacionais diferentes.

Mullin e cols. (2004), mostraram a variação na forma do crânio e padrões geográficos em *Dasymys rufulus*, um roedor africano. Foram estudadas populações do oeste, norte, leste e centro da África. Através de morfometria geométrica identificaram cinco possíveis espécies crípticas.

McPhee (2004), demonstrou diferenças morfológicas no roedor *Peromyscus polionotus subgriseus*. Utilizando morfometria geométrica, observou diferenças entre animais provenientes de cativeiro e animais selvagens. O sincrânio mostrou-se diferente no tamanho e na forma indicando a influência do confinado em cativeiro na forma do crânio de mamíferos.

Aguilera & Corti (1994), estudaram roedores do gênero *Proechimys* provenientes da Venezuela, através de morfometria tradicional. Este gênero apresenta grande diversidade cariotípica ($2n = 24 - 62$) e os dados mostraram uma correlação significativa entre a variação morfológica e a distribuição geográfica. Ainda, a variação morfométrica originária de eventos de especiação, pode estar sendo acompanhada de maneira independente por mudanças cromossômicas.

Nicola e cols. (2003), obtiveram dados morfométricos que foram congruentes com a filogenia molecular proposta para *Trinomys*. Apresentando relação entre evolução molecular e evolução morfológica principalmente para a vista lateral do crânio.

II OBJETIVOS

Conhece-se muito a respeito da variação cromossômica do gênero *Ctenomys*, existem estudos morfológicos com este grupo, mas todos com técnicas tradicionais. Então, a pergunta central deste trabalho é a seguinte: existe alguma variação morfológica mensurável em *Ctenomys lami* que possa ser correlacionada com a variação cariotípica?

Este trabalho tem como objetivo principal fazer um estudo sobre a variação morfométrica na forma do crânio de *C. lami* e verificar sua associação com outras variáveis descritas para esta espécie, como a variação cromossômica e a distribuição geográfica. Ainda existem questões em aberto sobre a evolução morfológica deste grupo de roedores e este estudo pode trazer novos dados para uma melhor compreensão do que vem ocorrendo nesta espécie.

Objetivos específicos:

1. Descrever o dimorfismo sexual quanto à forma e quanto ao tamanho do crânio, através de morfometria geométrica de modo a complementar as informações pré-existentes.
2. Investigar a variação morfométrica da forma do crânio de *C. lami*, e verificar a possível correlação desta com a variação cariotípica.
3. Descrever a variação na forma dos crânios desta espécie nos quatro blocos populacionais, comparando os resultados obtidos entre os grupos.
4. Correlacionar os dados morfométricos com a distribuição geográfica da espécie.

III MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 90 crânios de espécimes adultos de *Ctenomys lami* (Fig. 1), provenientes da coleção existente no laboratório de Citogenética do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Tab. 1). Estes animais foram coletados por Freitas, entre os anos de 1985 e 1989. Foram consideradas como fêmeas adultas aquelas com o peso acima de 150 gramas e machos adultos aqueles com peso acima de 222,5 gramas (El Jundi & Freitas, 2004).

Para obtenção das imagens digitais, cada crânio foi posicionado paralelamente ao plano focal de uma câmera digital *SONY DSC-P92* regulada para 3,1 *Mega Pixels* (2048 x 1536) de resolução. Cada crânio foi fotografado nas vistas dorsal, ventral e lateral. As imagens foram salvas no formato *JPEG* (*Joint Photographic Experts Group*) e organizadas em listas pelo programa *TPSUtil* versão 1.31 (Rohlf, 2004).

Os marcos anatômicos bidimensionais usados neste estudo basearam-se naqueles determinados por Reis *et al.* (2002) para *Thrichomys apereoides*. Foram estabelecidos 14 pontos anatômicos para a vista dorsal, 14 pontos para a vista ventral e 15 para a vista lateral de cada crânio (Fig. 2), estes marcos anatômicos foram digitalizados com o programa *TPSDig* versão 3.1 (Rohlf, 2004).

O método de sobreposição utilizado para as análises de morfometria geométrica, foi a sobreposição generalizada de Procrustes, que consiste em alinhar duas ou mais configurações em relação à forma média da população, de modo que a soma dos quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes em ambas as configurações seja a menor possível e exclui fatores de posição, orientação e tamanho (Bookstein, 1991; Rohlf, 1999). Para calcular as coordenadas de cada marco anatômico e o tamanho do centróide de cada espécime, foi utilizado o programa *IMP-CoordGen6f* (Sheets, 2004). O tamanho de centróide foi utilizado como única informação sobre o tamanho global do crânio, trata-se da raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada marco anatômico e o centróide da forma, que corresponde ao ponto médio da configuração (Moraes, 2003). Para comparar as formas geométricas dos crânios sem interferência do efeito do tamanho, foi usado um fator de escala, uma medida conhecida em cada fotografia (papel milimetrado ao fundo dos crânios) em que foram posicionados dois pontos (como se fossem marcos anatômicos) demarcando a distância de um centímetro (1 cm).

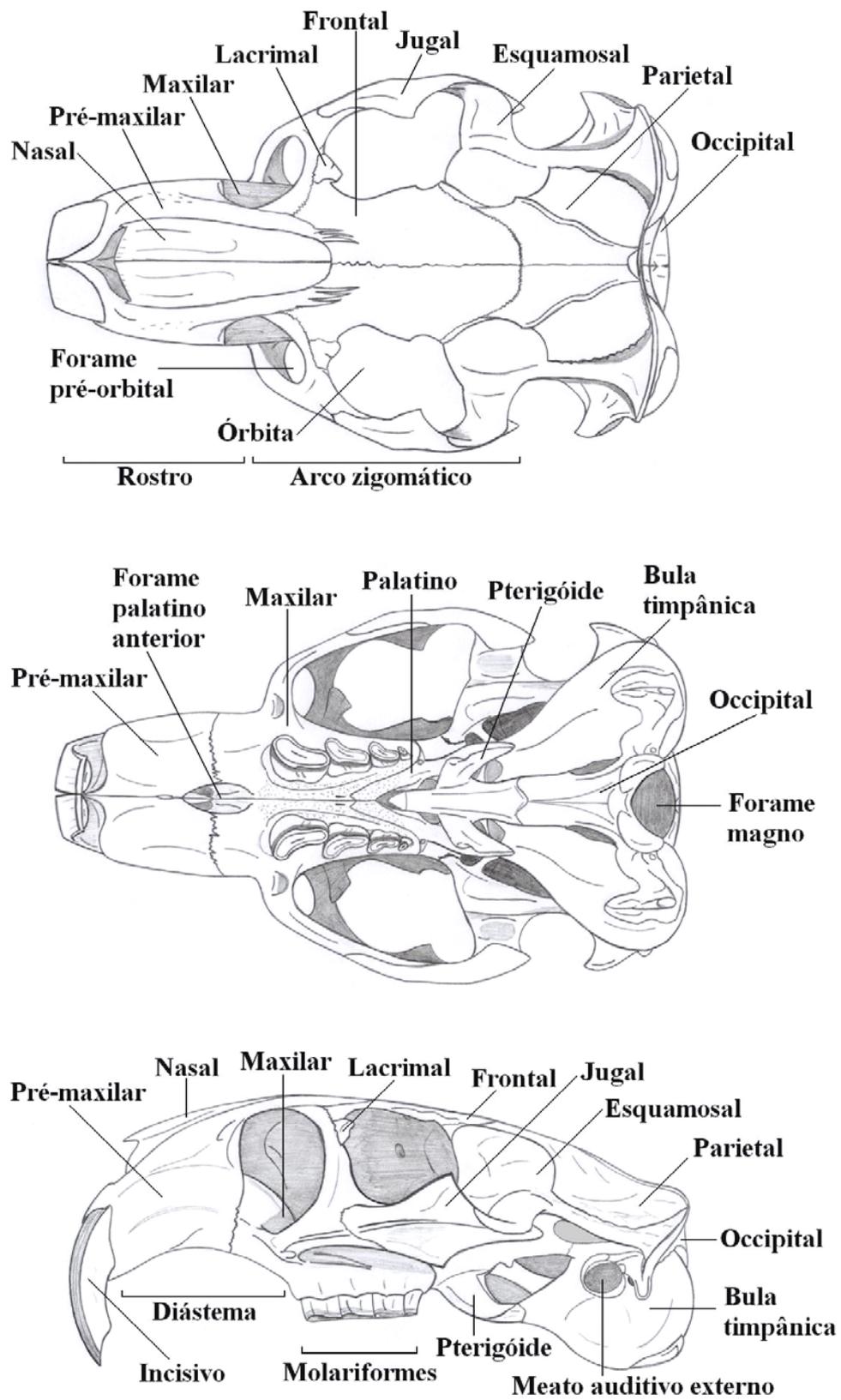


Figura 1 - Crânio de *Ctenomys lami* com indicação de alguns ossos e algumas características anatômicas importantes, nas vistas dorsal, ventral e lateral respectivamente.

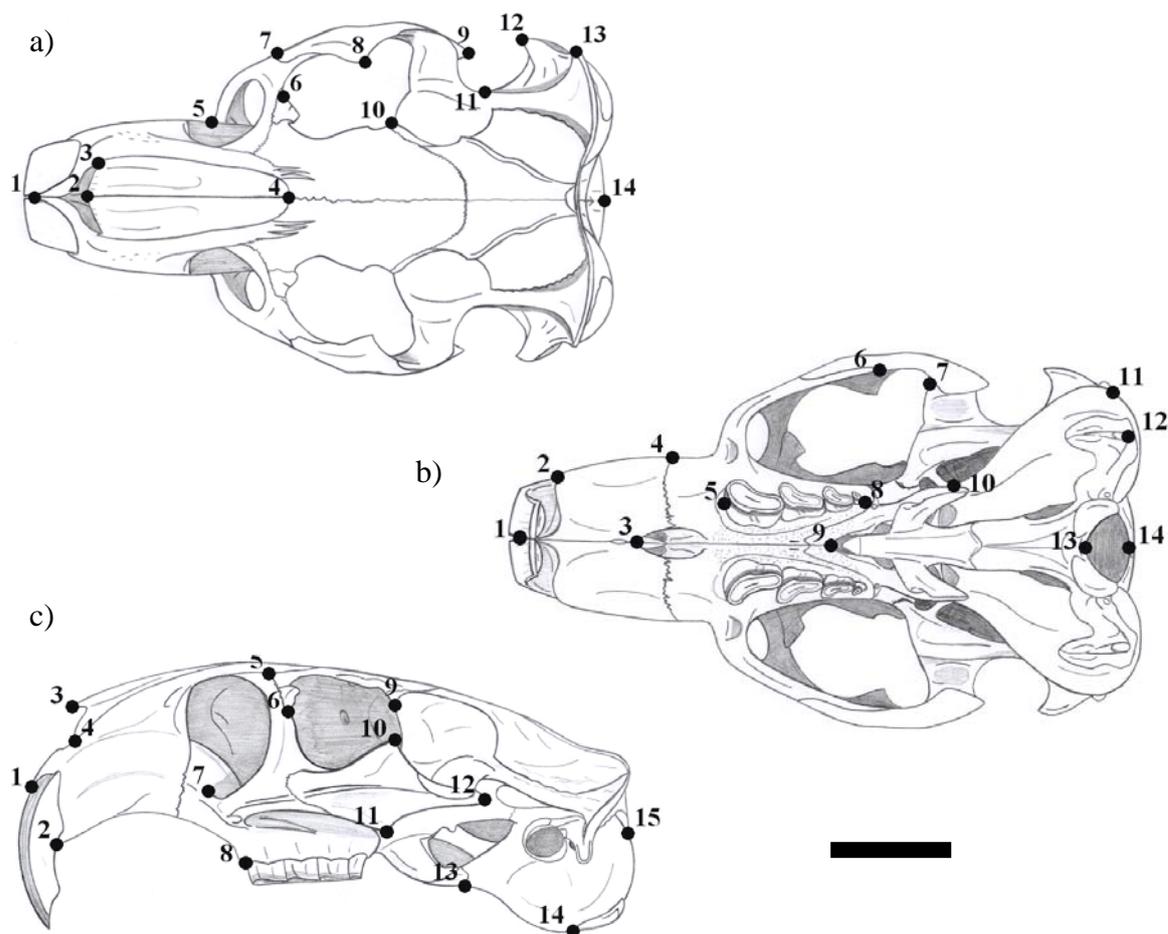


Figura 2 - Desenho de um crânio de *Ctenomys lami* nas vistas dorsal, ventral e lateral com indicação dos marcos anatômicos. A barra de escala tem 10mm. Os marcos anatômicos são os seguintes: a) Vista dorsal: 1- Extremidade anterior do pré-maxilar entre os incisivos; 2- Ponto mais anterior entre a sutura dos nasais; 3- Ponto mais anterior da sutura entre o nasal e o maxilar; 4- Ponto mais posterior da sutura entre os nasais e o frontal; 5- Ponto que liga o maxilar a raiz do processo zigomático; 6- Ponto mais posterior da sutura entre a ponte antero-orbital do maxilar e o frontal; 7- Ponto mais externo da sutura entre o maxilar e o jugal no arco zigomático; 8- Extremidade do processo jugal no arco zigomático; 9- Ponto mais posterior do processo jugal no arco zigomático; 10- Ponto mais anterior da sutura entre o frontal, o parietal e o esquamosal; 11- Ponto entre o meato auditivo externo e o arco zigomático; 12- Extremidade anterior do meato auditivo externo; 13- Ponto mais externo da apófise mastóide; 14- Extremidade posterior do osso occipital seguindo o eixo longitudinal; b) Vista ventral: 1- Ponto mais anterior do pré-maxilar entre os incisivos; 2- Extremidade antero-lateral do alvéolo incisivo; 3- Ponto mais anterior do forame palatino anterior; 4- Extremidade lateral da sutura entre o pré-maxilar e o maxilar; 5- Ponto mais anterior do alvéolo do pré-molar; 6- Ponto mais interno entre a sutura do processo malar (maxilar) e o jugal; 7- Ponto mais anterior na sutura entre o jugal e esquamosal; 8- Ponto mais posterior do alvéolo do terceiro molar; 9- Bordo posterior do palato; 10- Extremidade anterior da bula timpânica; 11- Ponto mais posterior da apófise mastóide, junto a bula timpânica; 12- Ponto mais externo do processo paraoccipital; 13- Ponto mais anterior do forame magno; 14- Ponto mais posterior do forame magno; c) Vista lateral: 1-

Extremidade anterior do alvéolo incisivo; 2- Extremidade inferior do alvéolo incisivo; 3- Ponto mais anterior do nasal; 4- Ponto mais anterior da sutura entre o nasal e o pré-maxilar; 5- Ponto mais superior da sutura entre o pré-maxilar e o frontal; 6- Ponto mais posterior da sutura entre o frontal e o processo malar; 7- Extremidade anterior do arco zigomático; 8- Extremidade anterior do alvéolo do pré-molar; 9- Extremidade inferior entre a sutura do frontal com o esquamosal; 10- Ponto mais superior da porção média do arco zigomático; 11- Ponto mais inferior da porção média do arco zigomático; 12- Extremidade posterior do jugal; 13- Extremidade anterior da bula timpânica; 14- Ponto mais inferior do processo paraoccipital na junção com a bula timpânica; 15- Ponto mais posterior entre o occipital e a bula timpânica.

Tabela 1 - Distribuição da amostra nos quatro blocos populacionais de *Ctenomys lami*.

Bloco	Machos	Fêmeas	Total
A	12	15	27
B	8	9	17
C	9	9	18
D	7	21	28
Total	36	54	90

Para verificar o dimorfismo sexual em *C. lami* quanto ao tamanho, foi usado o valor do tamanho do centróide para machos e fêmeas. Com auxílio do programa estatístico NCSS (*Number Cruncher Statistical System*) foram comparados através de teste-*t* e teste-F os tamanhos dos centróides para machos e fêmeas de diferentes blocos populacionais.

Utilizando as coordenadas geradas pelo programa IMP-CoordGen6f, foram feitas análises de componentes principais com o programa IMP-PCAGen6n (Sheets, 2004). Este também faz teste de Anderson para verificar o grau de significância estatística dos componentes principais. Com esta ferramenta, foi analisada a variação morfométrica entre sexos, entre blocos populacionais, entre diferentes números diplóides, entre diferentes citótipos e entre as diferentes formas cromossômicas dos pares 1 e 2.

Diferenças entre sexos, blocos populacionais, números diplóides, citótipos, formas cromossômicas dos pares 1 e 2, foram verificadas através de análise de variáveis canônicas (CVA). Isto com o programa IMP-CVAGen6j (Sheets, 2004), que também realiza agrupamento por distâncias como uma função discriminante. A análise de variáveis canônicas fornece uma descrição das diferenças entre grupos especificados *a priori*, em um conjunto de dados multivariados (Monteiro & Reis, 1999), ressaltando assim as diferenças entre grupos.

Usando o programa IMP-TwoGroup6h (Sheets, 2004) foram comparadas as médias de forma entre machos e fêmeas dentro de cada bloco populacional e entre blocos. Isto, através das distâncias de Procrustes, que são calculadas como a soma dos quadrados das distâncias entre os marcos anatômicos correspondentes das duas configurações e testam a similaridade das formas analisadas (Moraes, 2003), com a hipótese nula de que as médias estimadas não diferem. Foi utilizado teste-F com 900 *Bootstraps* para esta análise.

Além de medir a diferença entre duas formas, o programa IMP-TwoGroup6h gera grades de deformações, que indicam onde na configuração de marcos estão as diferenças nas formas. Com este programa, foram estimadas grades de deformações com vetores para machos e fêmeas de cada bloco populacional.

Os programas do tipo TPS (*Thin-Plate Splines*), podem ser adquiridos livremente pela internet na página de morfometria <http://life.bio.sunysb.edu/morph>; já os programas do tipo IMP (*Integrated Morphometric Programs*), podem ser encontrados gratuitamente na página <http://www2.canisius.edu/~sheets>.

IV RESULTADOS

IV.1 Tamanho do Centróide para Machos e Fêmeas

Dimorfismo sexual para a espécie - Na figura 1, pode ser visto o diagrama da distribuição do tamanho do centróide para machos e fêmeas de *Ctenomys lami*, para as três diferentes vistas do crânio. Estas mostram que os machos em média, são maiores que as fêmeas quanto ao tamanho do centróide. O teste – t , mostrou diferenças significativas para vista dorsal $t=10,488$; $p<0,0001$ (Fig. 1a), para a vista ventral $t=8,834$; $p<0,0001$ (Fig. 1b), e para a vista lateral $t=9,191$; $p<0,0001$ (Fig. 1c).

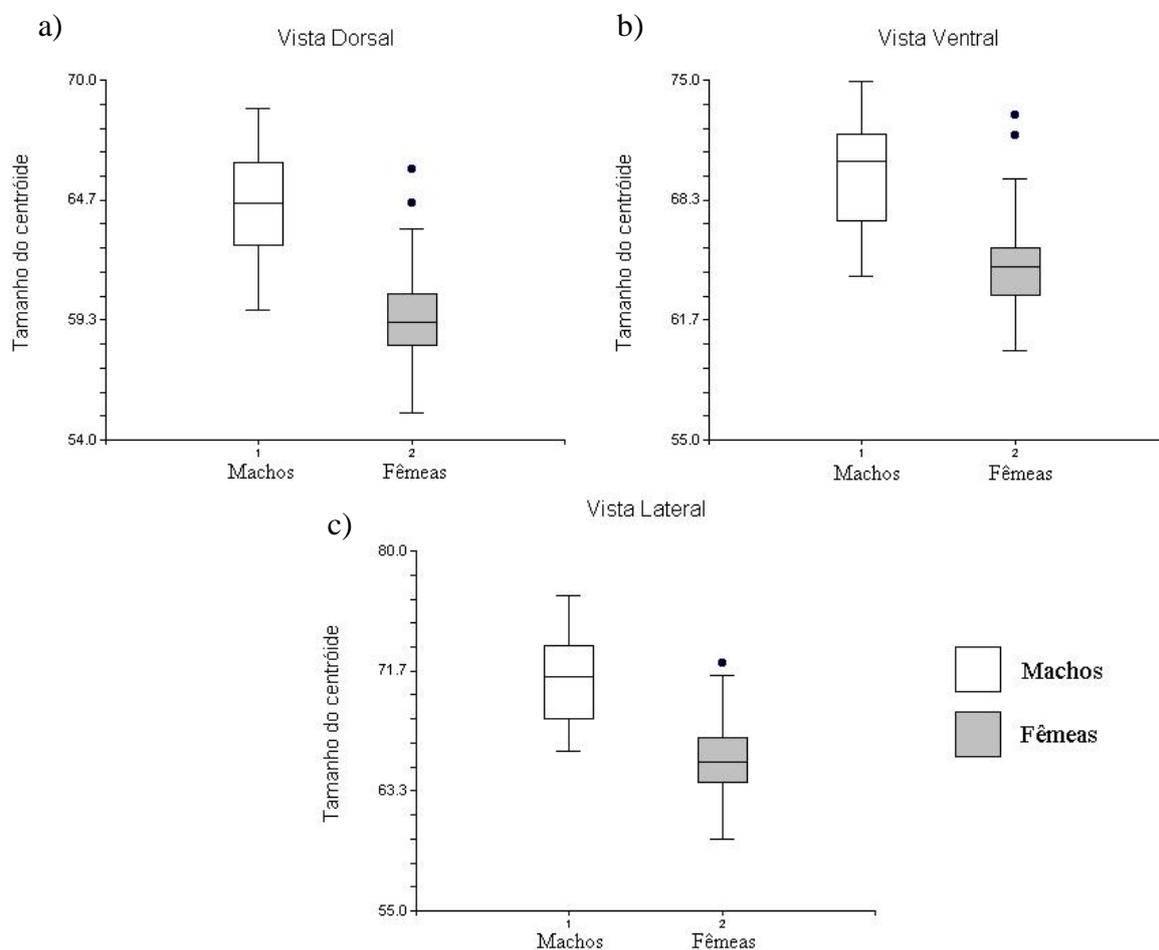


Figura 1 - Gráficos com as distribuições do tamanho do centróide do crânio de *C. lami* para machos e fêmeas. a) vista dorsal, b) ventral, e c) lateral. Linha horizontal, média; linhas verticais, intervalo de confiança de 95%; círculo preto, “outliers”.

Dimorfismo sexual dentro de cada bloco populacional – A figura 2 apresenta os diagramas para a distribuição do tamanho do centróide para machos e fêmeas de cada bloco populacional (A, B, C e D). Machos e fêmeas diferem em média quanto ao tamanho de seus centróides (Fig. 2). A análise da variância desses centróides para a vista dorsal foi de $F=18,26$; $p<0,0001$ (Fig. 2a), para a vista ventral, $F=12,81$; $p<0,0001$ (Fig. 2b), e para a vista lateral do crânio foi $F=14$; $p<0,0001$ (Fig. 2c).

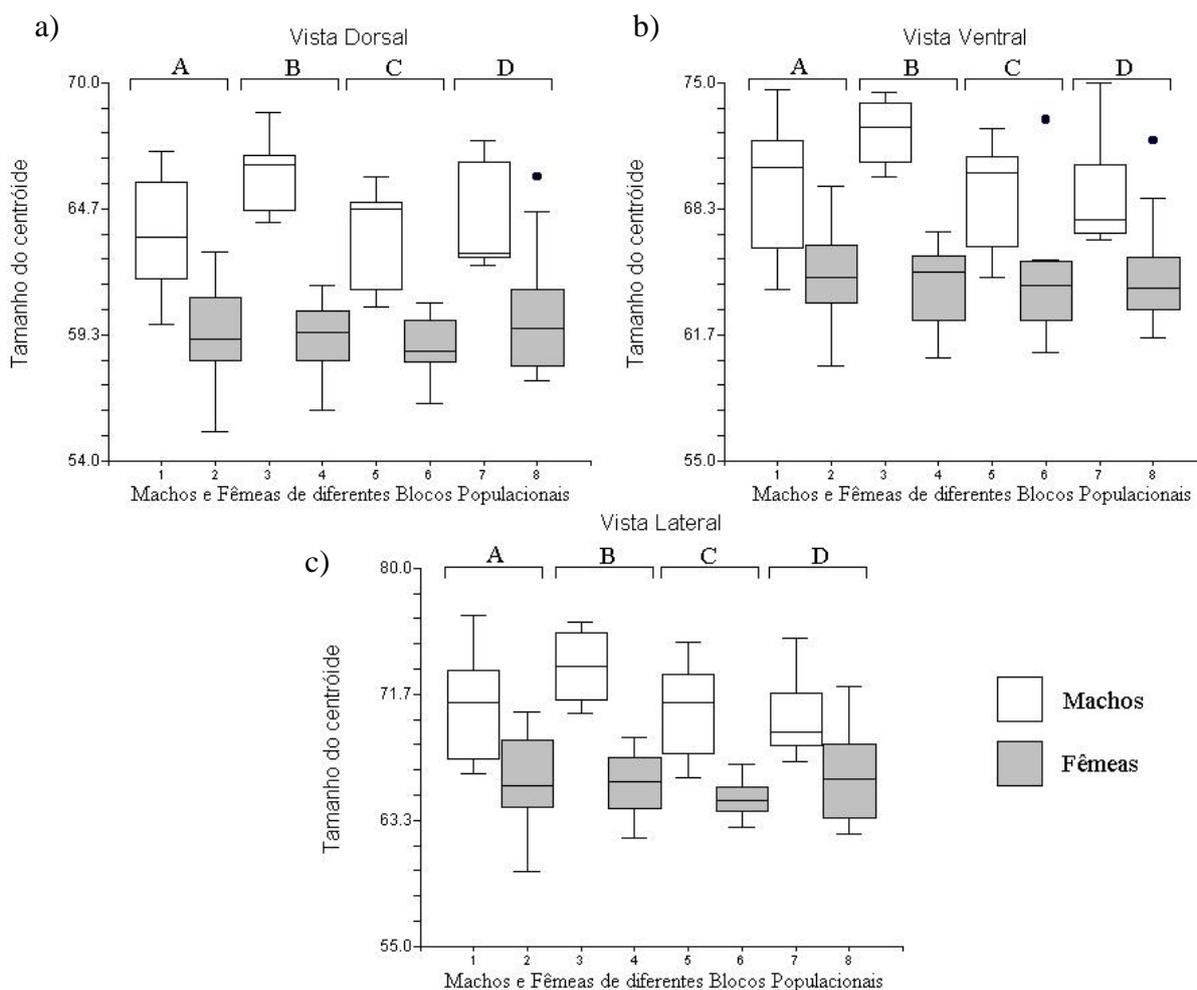


Figura 2 - Gráficos com as distribuições do tamanho do centróide do crânio de *C. lami* para machos e fêmeas dos diferentes blocos populacionais (A, B, C e D). a) vista dorsal, b) ventral, e c) lateral. Linha horizontal, média; linhas verticais, intervalo de confiança de 95%; círculo preto, “outliers”.

Os resultados do teste - t em relação ao tamanho do centróide, entre machos e fêmeas dentro de cada bloco populacional, são apresentados na tabela 1. Os valores mais altos para o teste - t entre machos e fêmeas, foram obtidos pelo bloco populacional B. Isto ocorreu nas três vistas do crânio, indicando maior diferença no tamanho entre machos e fêmeas do bloco populacional B.

Tabela 1 - Valores do teste - t para o tamanho do centróide entre machos e fêmeas de diferentes blocos populacionais para diferentes vistas do crânio (dorsal, ventral e lateral) de *C. lami*. Nível sig. = nível de significância estatística.

Bloco	Vista Dorsal		Vista Ventral		Vista Lateral	
	Teste - t	Nível sig.	Teste - t	Nível sig.	Teste - t	Nível sig.
A	4,963	**	4,055	**	4,025	**
B	9,132	***	8,555	***	7,401	***
C	5,886	**	3,016	*	5,607	**
D	3,929	**	3,709	**	3,171	*

* P<0,01 ** P<0,001 *** P<0,0001

IV.2 Análise de Componentes Principais

Dimorfismo sexual para a espécie – A análise de componentes principais ou PCA (*Principal Component Analysis*), mostrou a variação apresentada pelos indivíduos de *C. lami*. Para a vista dorsal do crânio, machos e fêmeas não apresentaram nenhum padrão de diferenciação entre si para os dois primeiros eixos principais (PC1 e PC2). O teste de Anderson indica que o primeiro eixo principal é estatisticamente significativo, com PC1 explicando 30,76% da variação e PC2 explicando 9,4% da variação (Fig. 3).

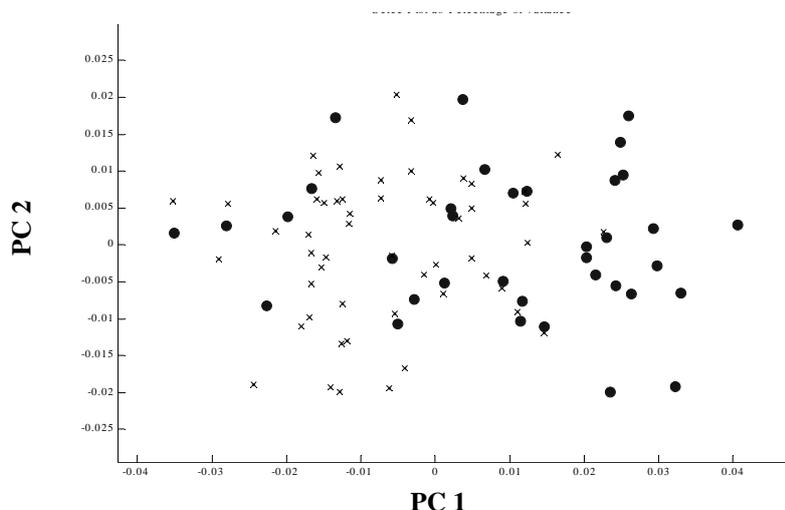


Figura 3 - Gráfico com os escores para os dois primeiros eixos principais para machos e fêmeas de *C. lami* para a vista dorsal. Círculos = machos; x = fêmeas.

Para a vista ventral do crânio, o teste de Anderson indicou que o primeiro eixo principal é estatisticamente significativo, com PC1 explicando 32,84% da variação e PC2 explicando 13,46% da variação. No gráfico de PCA, é possível observar que machos e fêmeas apresentam uma distribuição que não evidencia diferenças entre os sexos (Fig. 4).

Para a vista lateral, não se obteve eixo estatisticamente significativo. Nas vistas dorsal e ventral observa-se que os gráficos de PCA são diferentes, indicando que as diferentes vistas do crânio contribuem de maneira diferente na explicação da variação da forma.

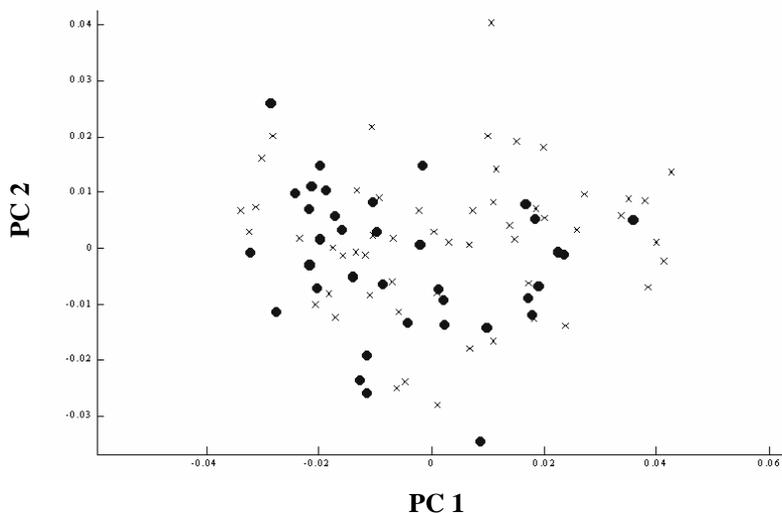


Figura 4 - Gráfico com os escores para os dois primeiros eixos principais para machos e fêmeas de *C. lami* para a vista ventral. Círculos = machos; x = fêmeas.

Outras análises utilizando PCA foram feitas, comparando diferentes blocos populacionais, diferentes números diplóides, diferentes citótipos, diferentes formas cromossômicas dos pares 1 e 2. Em nenhuma se atinge cinquenta por cento de variação explicada para os dois primeiros componentes principais. Em nenhum dos gráficos gerados por PCA obteve-se algum padrão de separação entre os grupos admitidos neste estudo.

IV.3 Análise de Variáveis Canônicas

Dimorfismo sexual para a espécie – A análise de variáveis canônicas ou CVA (*Canonical Variate Analysis*), apresenta de forma gráfica e através de funções discriminantes, as diferenças relativas na forma do crânio de machos e fêmeas de *C. lami*. Para a vista dorsal do crânio, o gráfico de CVA teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo para o teste lambda de Wilk (CV1, $p=6,413 \times 10^{-6}$), separando machos de fêmeas neste eixo (Fig. 5). Os machos apresentando escores mais altos no primeiro eixo canônico em relação as fêmeas. Na função discriminante, 11 indivíduos foram classificados erroneamente (6 machos e 5 fêmeas), ou seja, 12,22% dos 90 espécimes que formam a amostra (Tab. 2).

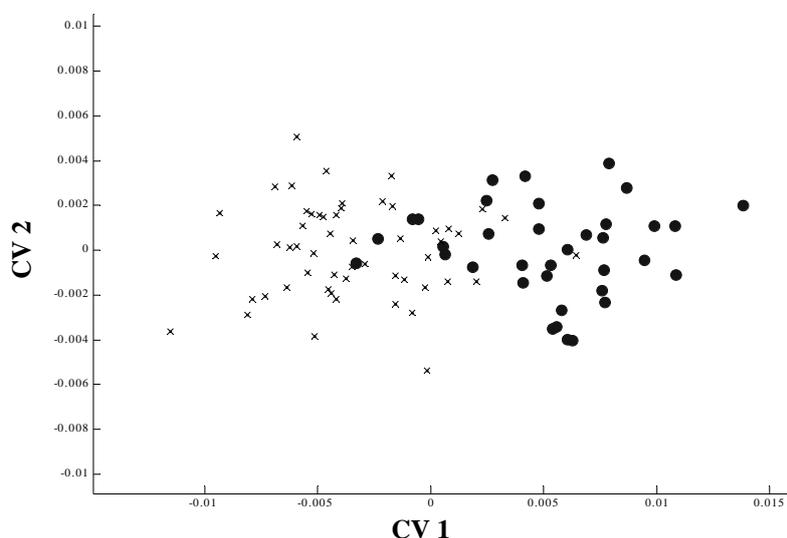


Figura 5 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos e fêmeas de *C. lami* para a vista dorsal do crânio. Círculos = machos, x = fêmeas.

Tabela 2 - Agrupamento por distância de CVA para a vista dorsal do crânio de *C. lami*. Grupos originais nas linhas, agrupamento de CVA nas colunas. Os números sublinhados representam os espécimes que foram classificados erroneamente em outro grupo.

	Machos	Fêmeas
Machos	30	<u>6</u>
Fêmeas	<u>5</u>	49

Para a vista ventral do crânio, o gráfico de CVA teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,023$). Este primeiro eixo, separa machos de fêmeas, onde machos aparecem com escores mais baixos do que as fêmeas para o CV1 (Fig. 6). A função discriminante, teve um erro de classificação de 11,11%, classificando erroneamente 7 machos como fêmeas, e 3 fêmeas como machos (Tab. 3).

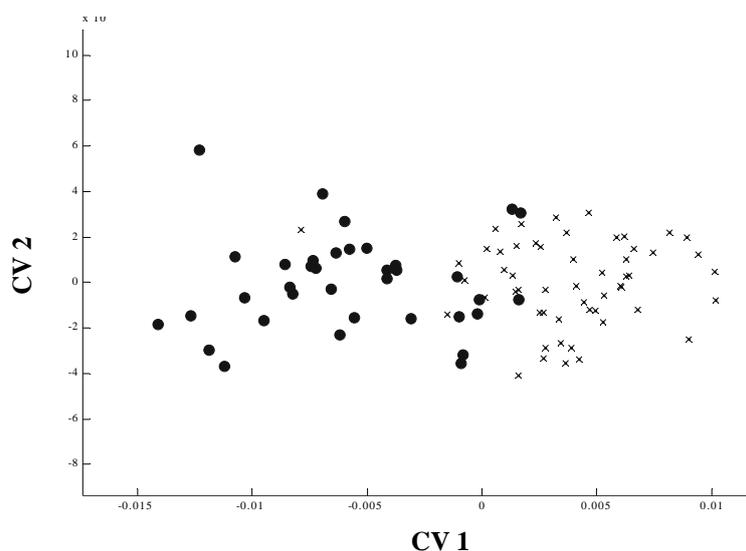


Figura 6 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos e fêmeas de *C. lami* para a vista ventral do crânio. Círculos = machos, × = fêmeas.

Tabela 3 - Agrupamento por distância de CVA para a vista ventral do crânio de *C. lami*. Grupos originais nas linhas, agrupamento de CVA nas colunas. Os números sublinhados representam os espécimes que foram classificados erroneamente em outro grupo.

	Machos	Fêmeas
Machos	29	<u>7</u>
Fêmeas	<u>3</u>	51

Para a vista lateral do crânio, o gráfico de CVA teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=1,846 \times 10^{-8}$). Este primeiro eixo, separa machos de fêmeas, onde machos aparecem com escores mais baixos do que as fêmeas para o CV1 (Fig. 7). A função discriminante, teve um erro de classificação de 5,55%, classificando erroneamente 1 macho como fêmea, e 4 fêmeas como machos (Tab. 4).

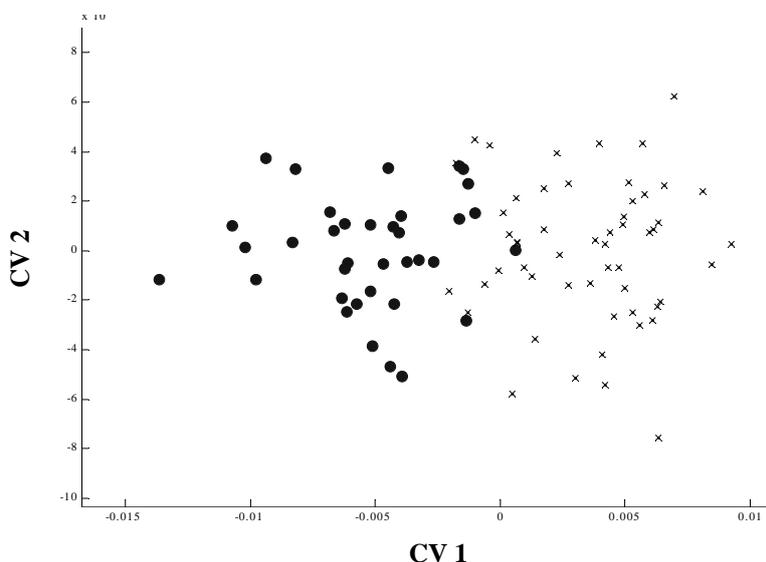


Figura 7 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos e fêmeas de *C. lami* para a vista lateral do crânio. Círculos = machos, x = fêmeas.

Tabela 4 - Agrupamento por distância de CVA para a vista lateral do crânio de *C. lami*. Grupos originais nas linhas, agrupamento de CVA nas colunas. Os números sublinhados representam os espécimes que foram classificados erroneamente em outro grupo.

	Machos	Fêmeas
Machos	35	<u>1</u>
Fêmeas	<u>4</u>	50

Analisando-se o dimorfismo sexual dentro de cada bloco populacional separadamente, as análises de variáveis canônicas agruparam corretamente todos os espécimes sem nenhum erro. No bloco A, o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=3,25 \times 10^{-5}$), para a vista dorsal do crânio. Machos e fêmeas aparecem bem separados no primeiro eixo canônico (Fig. 8). Para as vistas ventral e lateral, também não houveram classificações errôneas, e apenas o primeiro eixo canônico foi significativo (vista ventral CV1, $p<0,0001$ e vista lateral CV1, $p<0,0001$).

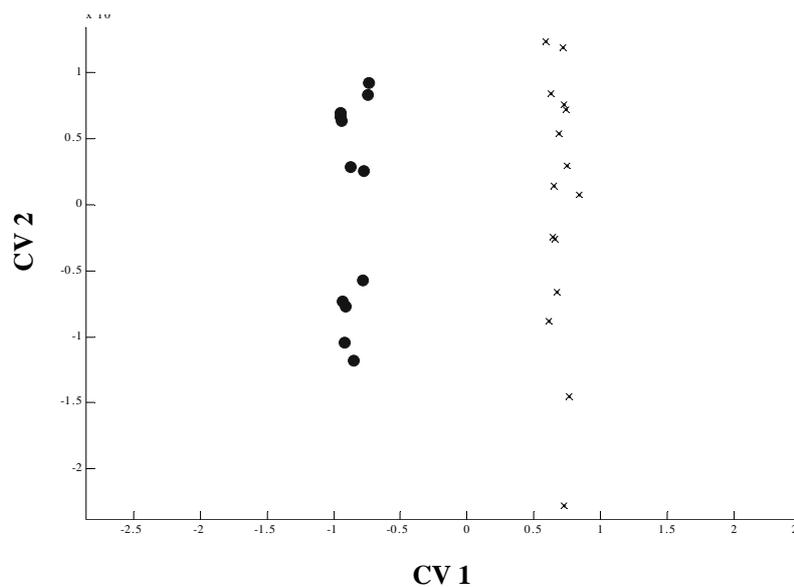


Figura 8 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos e fêmeas do bloco populacional A em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos = machos, × = fêmeas.

O bloco populacional D teve 100% de acerto nos agrupamentos de CVA para as três vistas do crânio. Os três gráficos de CVA tiveram o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (dorsal CV1, $p=6,763\times 10^{-5}$; ventral CV1, $p=0,0008$; e lateral CV1, $p=4,815\times 10^{-9}$). Para a vista lateral o gráfico de CVA pode ser visto na Figura 9.

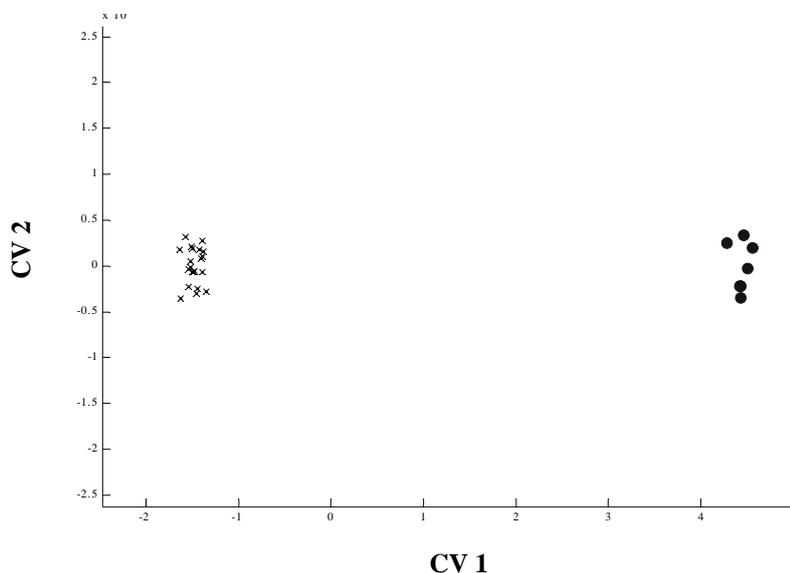


Figura 9 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos e fêmeas do bloco populacional D em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = machos, x = fêmeas.

Os blocos B e C, devido aos seus tamanhos amostrais reduzidos (B $n = 17$ e C $n = 18$), não puderam ser analisados por CVA.

Havendo dimorfismo sexual em relação à forma do crânio de *C. lami*, as demais análises canônicas seguem separadamente para machos e fêmeas.

Diferenças entre blocos populacionais em machos – Para a vista dorsal do crânio, o erro no agrupamento por CVA foi de 19,44%, quatro indivíduos do bloco A foram incorretamente classificados como sendo do bloco B. O gráfico de CVA (Fig. 10), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,006$). Para a vista ventral, o erro foi de 22,22%, três indivíduos do bloco A foram erroneamente classificados como sendo do bloco B. O gráfico de CVA (Fig. 11), com o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,019$). E para a vista lateral, o erro foi de 2,77%, um indivíduo do bloco C, foi erroneamente classificado como pertencente ao bloco D. O gráfico para a vista lateral (Fig.12), apresentou os dois primeiros eixos canônicos significativos (CV1, $p=0,00011$ e CV2, $p=0,0061$).

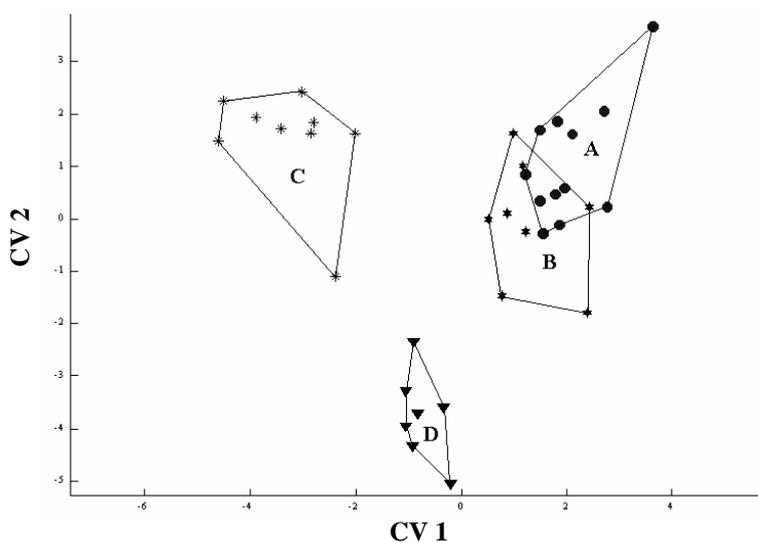


Figura 10 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos = machos de A, estrelas = machos de B, asteriscos = machos de C, e triângulos = machos de D.

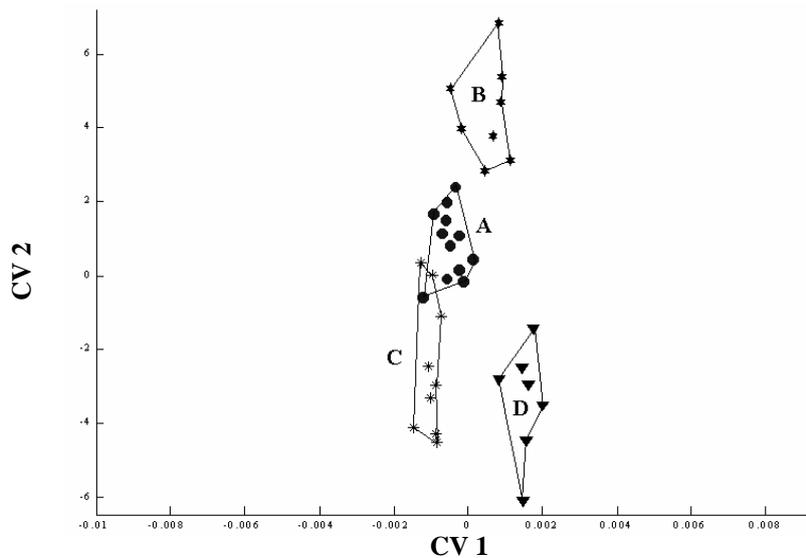


Figura 11 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos = machos de A, estrelas = machos de B, asteriscos = machos de C, e triângulos = machos de D.

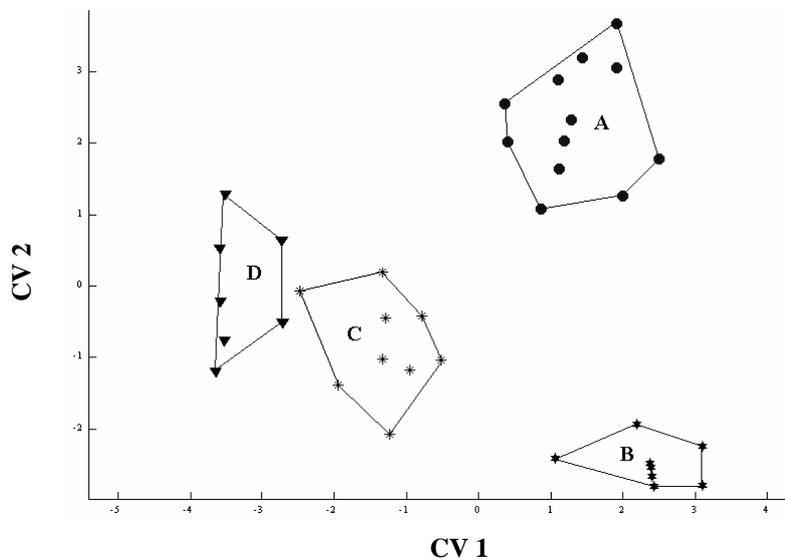


Figura 12 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = machos de A, estrelas = machos de B, asteriscos = machos de C, e triângulos = machos de D.

Diferenças entre blocos populacionais em fêmeas – Para a vista dorsal, o agrupamento por CVA classificou erroneamente 7,40% dos espécimes, um indivíduo de cada bloco que foi mal classificado como pertencente ao bloco B. No gráfico de CVA (Fig. 13), os dois primeiros eixos canônicos foram estatisticamente significativos (CV1, $p=2,158 \times 10^{-7}$ e CV2, $p=0,001$). Para a vista ventral do crânio, 16,66% das fêmeas foram mal classificadas, sendo a maioria das trocas entre os blocos C e D. O gráfico de CVA para esta vista (Fig. 14), teve os dois primeiros eixos canônicos estatisticamente significativos (CV1, $p=1,259 \times 10^{-7}$ e CV2, $p=0,0014$). Para a vista lateral, 5,55% do agrupamento por CVA foi classificado erroneamente, um indivíduo de C que foi agrupado em B, e dois de B que foram classificados em C. O gráfico (Fig. 15), teve os dois primeiros eixos canônicos significativos para os diferentes blocos populacionais entre fêmeas (CV1, $p=2,258 \times 10^{-7}$ e CV2, $p=0,00012$).

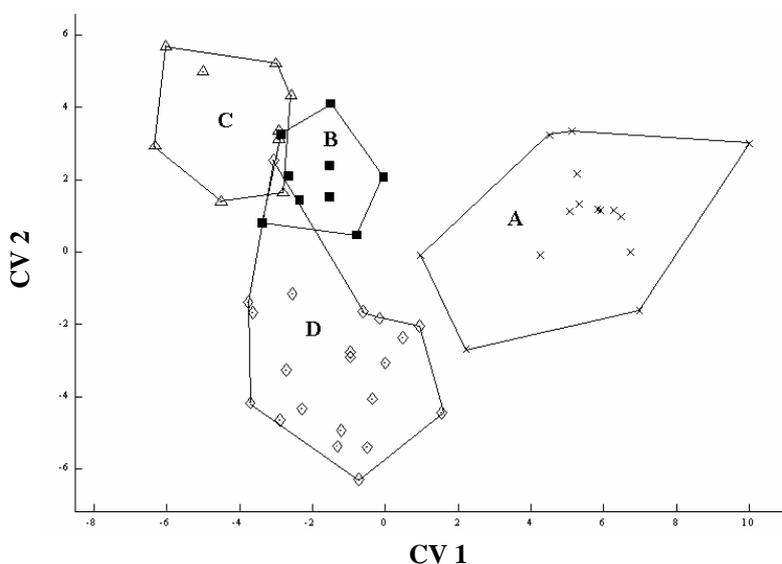


Figura 13 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. × = fêmeas de A, quadrados = fêmeas de B, triângulo = fêmeas de C, e losangos = fêmeas de D.

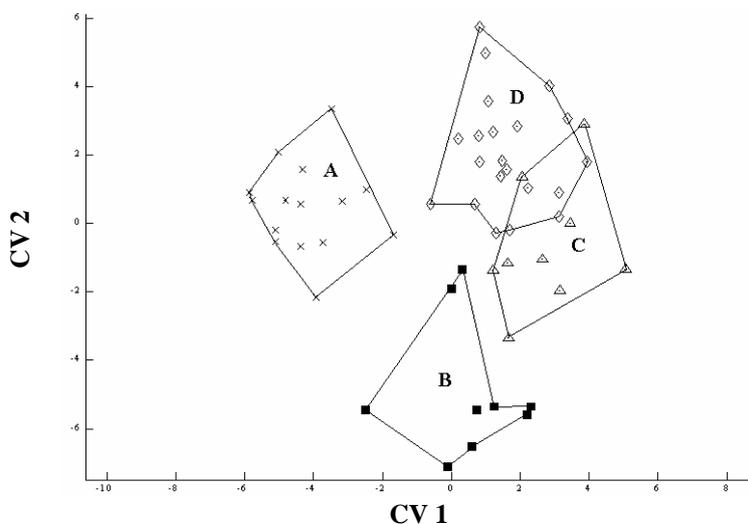


Figura 14 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. × = fêmeas de A, quadrados = fêmeas de B, triângulo = fêmeas de C, e losangos = fêmeas de D.

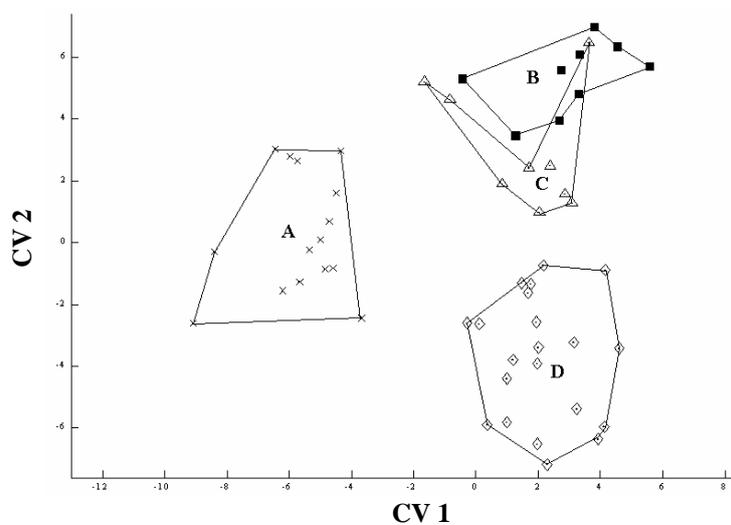


Figura 15 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas dos diferentes blocos populacionais A, B, C e D em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. × = fêmeas de A, quadrados = fêmeas de B, triângulo = fêmeas de C, e losangos = fêmeas de D.

Diferenças entre números diplóides em machos – Nos espécimes deste estudo encontramos $2n = 54, 55, 56$ e 58 . Para a vista dorsal, não houve nenhum eixo canônico estatisticamente significativo. Para a vista ventral, o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,01$). O agrupamento por CVA teve erro de 16,66%, dois indivíduos $2n = 58$ foram classificados como sendo $2n = 56$ e um espécime $2n = 54$ foi classificado como $2n = 58$ (Fig. 16). Para a vista lateral, o erro foi de 22,22%, sete indivíduos $2n = 54$ classificados como $2n = 55$. No gráfico (Fig. 17), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,007$).

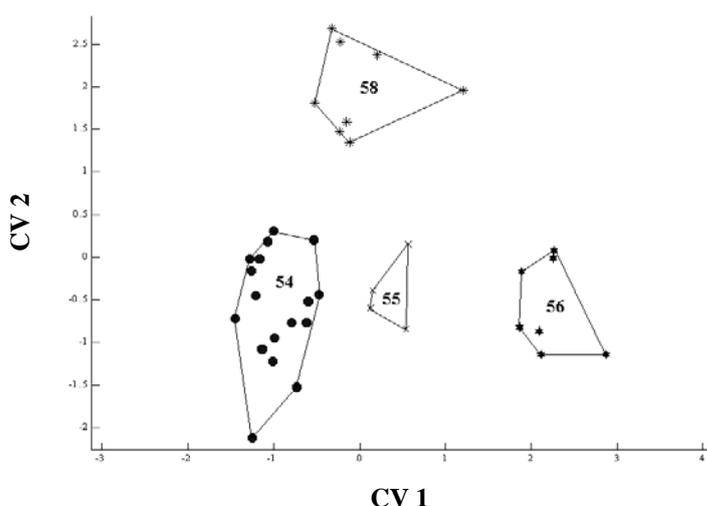


Figura 16 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos de diferentes números diplóides em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55$; estrelas, $2n = 56$; e asteriscos, $2n = 58$.

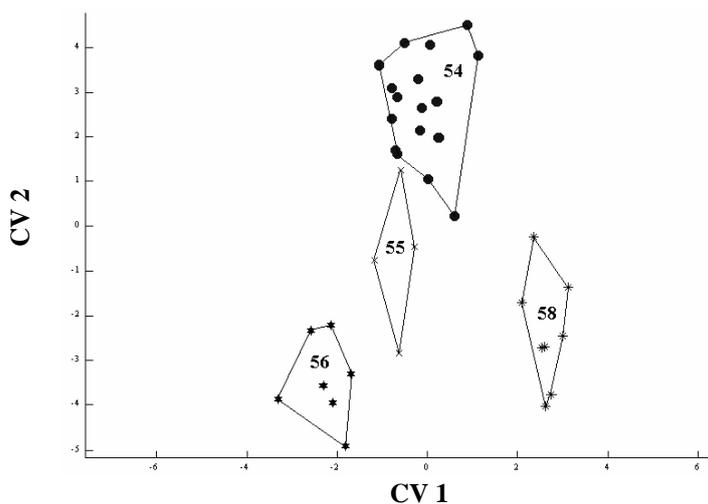


Figura 17 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos de diferentes números diplóides em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55$; estrelas, $2n = 56$; e asteriscos, $2n = 58$.

Diferenças entre números diplóides em fêmeas – Para a vista dorsal, o agrupamento de CVA classificou erroneamente 44,44%, na maioria indivíduos $2n = 54$ que foram classificados como $2n = 55$. Para o gráfico (Fig. 18), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,016$). Para a vista ventral do crânio, 35,18% das classificações de CVA, foram errôneas, na maioria indivíduos $2n = 54$ classificados como $2n = 56$. No gráfico de CVA (Fig. 19), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,028$). Quanto a vista lateral, o erro de classificação de CVA foi de 27,77%, na maioria indivíduos $2n = 54$ classificados como $2n = 55$. No gráfico (Fig. 20), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,002$), os diferentes grupos estão separados com exceção dos indivíduos $2n = 55$ que ocupam posição intermediária entre os indivíduos $2n = 54$ e $2n = 56$.

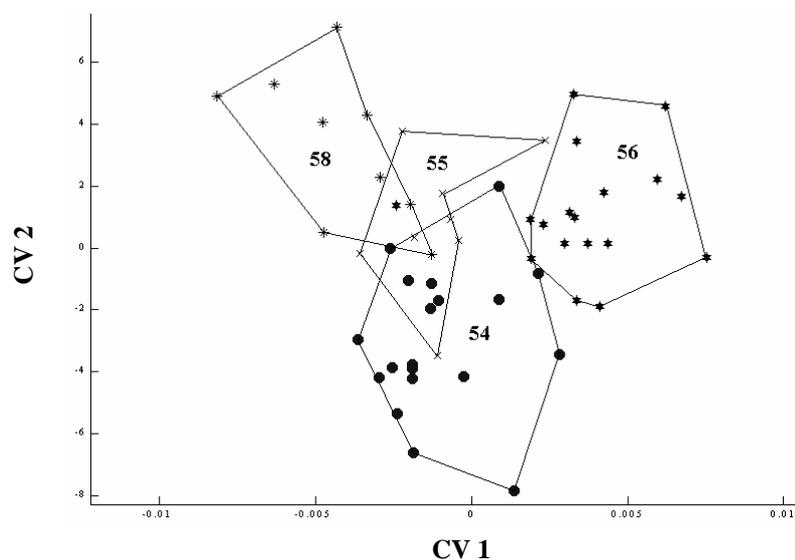


Figura 18 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes números diplóides em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55$; estrelas, $2n = 56$; e asteriscos, $2n = 58$.

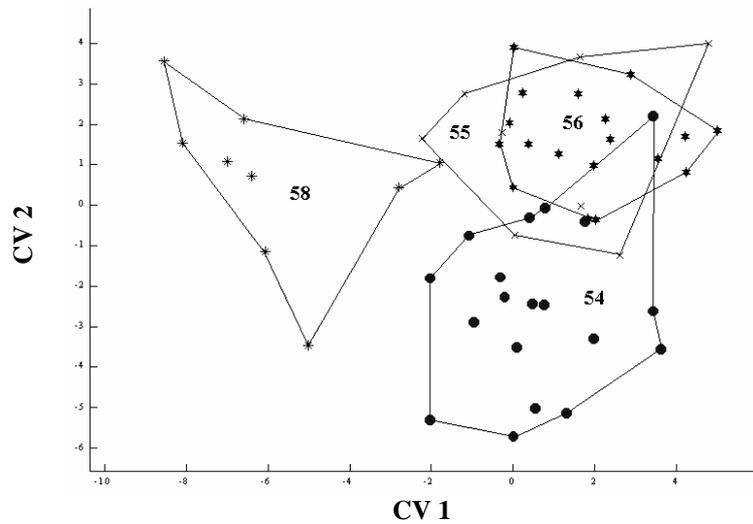


Figura 19 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes números diplóides em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55$; estrelas, $2n = 56$; e asteriscos, $2n = 58$.

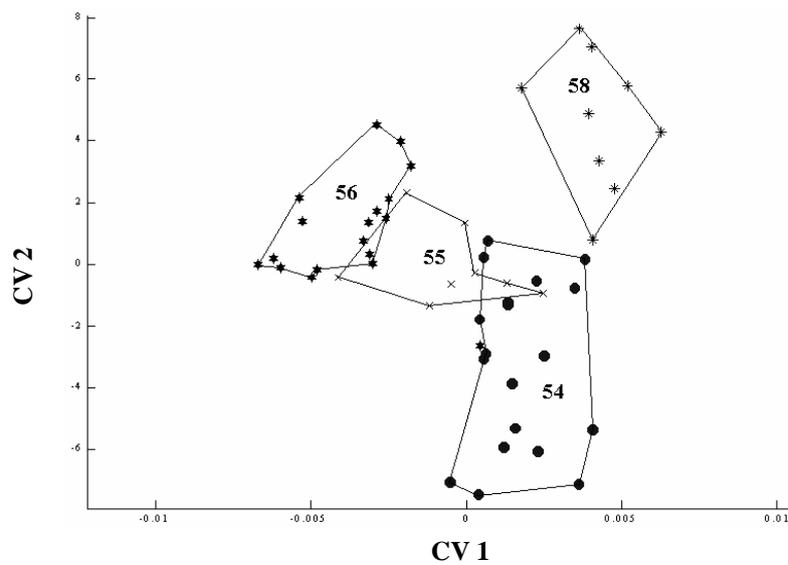


Figura 20 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes números diplóides em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55$; estrelas, $2n = 56$; e asteriscos, $2n = 58$.

Diferenças entre citótipos em machos – Nos espécimes deste estudo encontramos $2n = 54$, $55a$, $55b$, $56a$, $56b$ e 58 . Para a vista dorsal, não houve nenhum eixo estatisticamente significativo. Para a vista ventral do crânio, o gráfico de CVA (Fig. 21), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,002$). O agrupamento de CVA, teve erro de 16,66%, na maioria indivíduos $2n = 54$ que foram classificados erroneamente como sendo $2n = 56a$. Para a vista lateral, o agrupamento por CVA teve acerto de 100%, classificando corretamente os diferentes citótipos ($2n = 54$, $55a$, $55b$, $56a$, $56b$ e 58). Para o gráfico de CVA (Fig. 22), os dois primeiros eixos canônicos foram estatisticamente significativos (CV1, $p=0,00056$ e CV2, $p=0,037$). Neste gráfico, os espécimes de diferentes citótipos aparecem bem separados uns dos outros, apesar de se ter apenas um indivíduo $55b$ e um indivíduo $56a$.

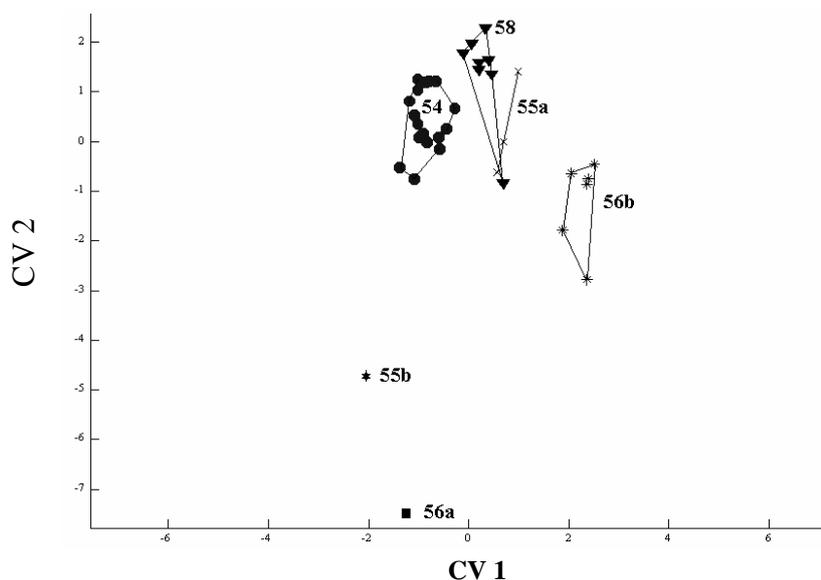


Figura 21 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos de diferentes citótipos em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos, $2n = 54$; x, $2n = 55a$; estrelas, $2n = 55b$; quadrados, $2n = 56a$; asteriscos, $2n = 56b$; e triângulos, $2n = 58$.

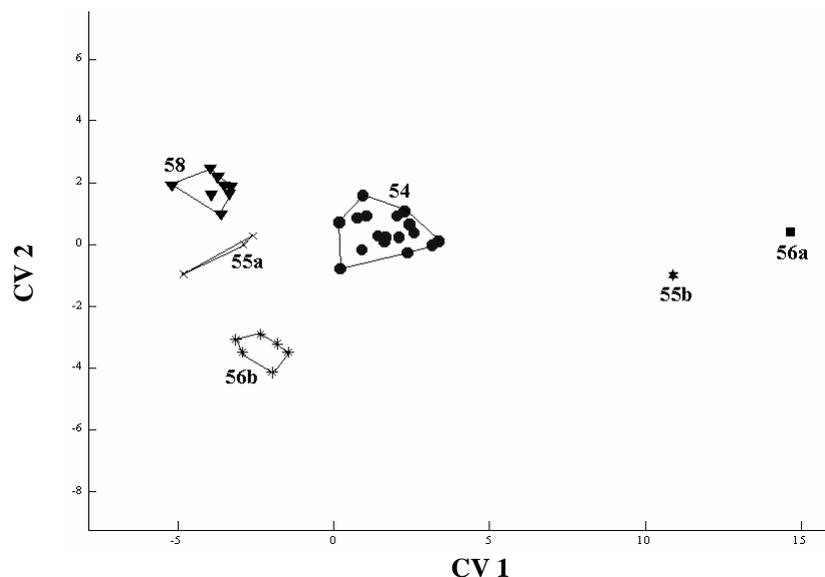


Figura 22 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para machos de diferentes citótipos em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55a$; estrelas, $2n = 55b$; quadrados, $2n = 56a$; asteriscos, $2n = 56b$; e triângulos, $2n = 58$.

Diferenças entre citótipos em fêmeas – Para a vista dorsal do crânio das fêmeas, o erro da função discriminante de CVA foi de 38,88%, sendo alguns indivíduos $2n = 54$ classificados em outros grupos e indivíduos $2n = 56b$ classificados como $2n = 58$ e $55b$. O gráfico de CVA (Fig. 23), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,00122$). Para a vista ventral, a porcentagem de erro foi exatamente a mesma para a vista anterior (38,88%), na maioria indivíduos $2n = 54$ classificados erroneamente em outros grupos. O gráfico de CVA (Fig. 24), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,03$). Para a vista lateral, o erro no agrupamento por CVA foi de 37,03%, com indivíduos $2n=54$ classificados em outros grupos. No gráfico de CVA (Fig. 25), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo (CV1, $p=0,0037$). Neste gráfico, os indivíduos $2n = 55a$ e $2n = 55b$, aparecem com escores intermediários aos indivíduos $2n = 54$ e $2n = 56b$ no primeiro eixo canônico. Já os indivíduos $2n = 58$, estão bem separados dos demais grupos no segundo eixo canônico.

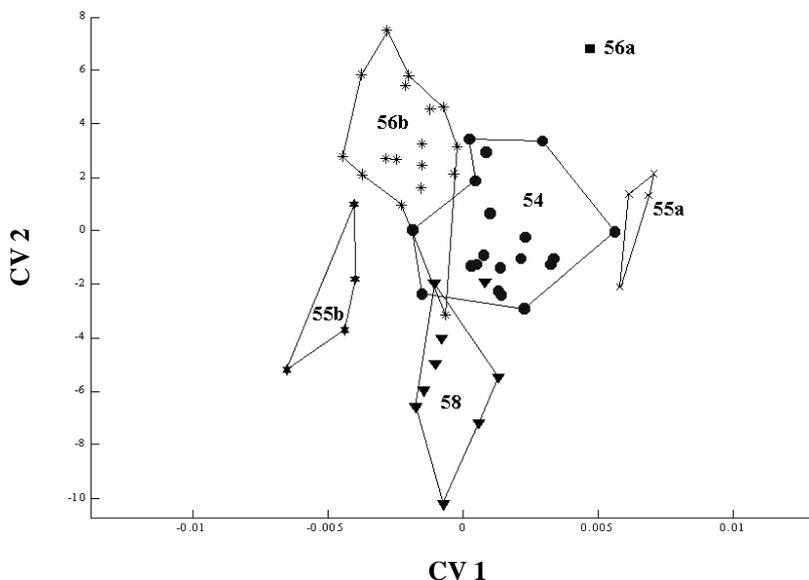


Figura 23 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes citótipos em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos, $2n = 54$; x, $2n = 55a$; estrelas, $2n = 55b$; quadrados, $2n = 56a$; asteriscos, $2n = 56b$; e triângulos, $2n = 58$.

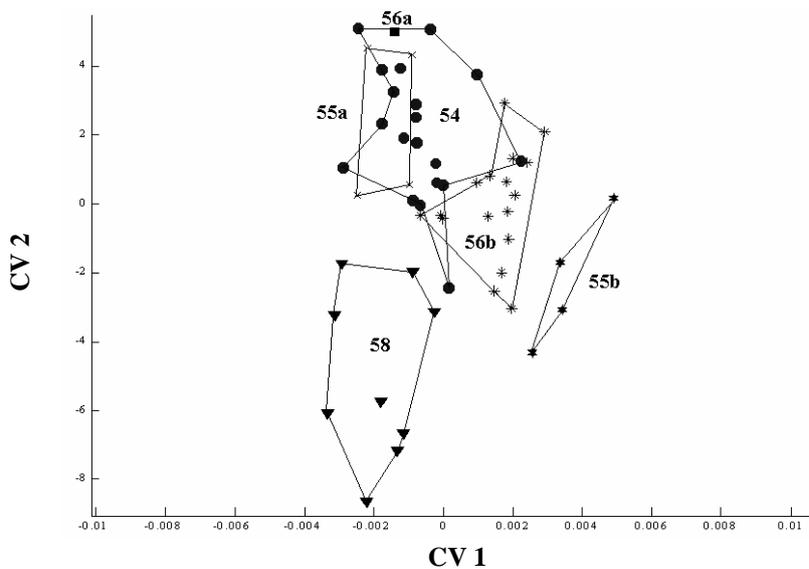


Figura 24 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes citótipos em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos, $2n = 54$; x, $2n = 55a$; estrelas, $2n = 55b$; quadrados, $2n = 56a$; asteriscos, $2n = 56b$; e triângulos, $2n = 58$.

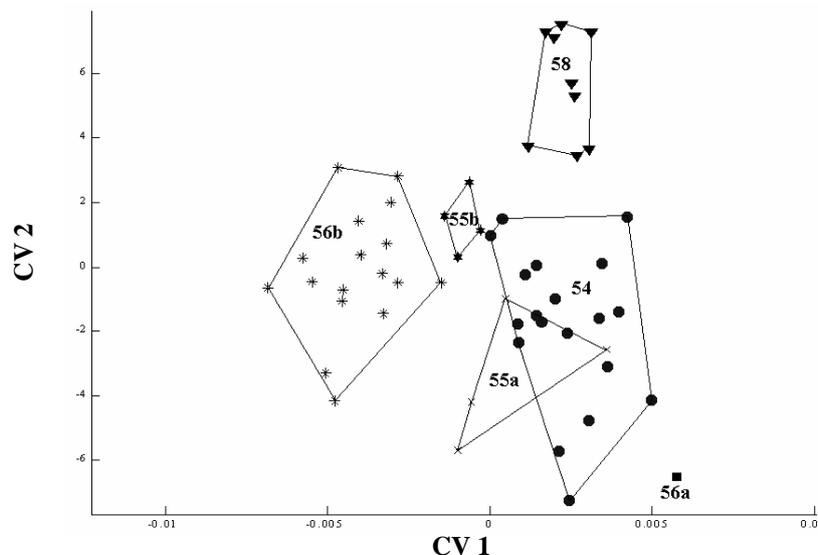


Figura 25 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos para fêmeas de diferentes citótipos em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos, $2n = 54$; \times , $2n = 55a$; estrelas, $2n = 55b$; quadrados, $2n = 56a$; asteriscos, $2n = 56b$; e triângulos, $2n = 58$.

Diferenças entre as formas cromossômicas do par 1 em machos – O par 1 em *C. lami*, apresenta uma variação em três estados: metacêntrico – metacêntrico, metacêntrico – acrocêntrico e acrocêntrico – acrocêntrico. Para a vista dorsal, não houve nenhum eixo estatisticamente significativo. Para a vista ventral do crânio, o resultado foi nulo (sem significância estatística). Já para a vista lateral, o gráfico de CVA teve o primeiro eixo estatisticamente significativo (CV1, $p=0,0492$). O agrupamento de CVA teve erro de 22,22%, na maioria dos indivíduos Metacêntrico-Metacêntrico classificados erroneamente como sendo indivíduos Acrocêntrico-Acrocêntrico (Fig. 26). Neste gráfico os indivíduos metacêntrico – metacêntrico estão separados dos acrocêntrico – acrocêntrico no primeiro eixo canônico e o único indivíduo metacêntrico - acrocêntrico possui escore que é sobreposto pelos escores dos indivíduos metacêntrico – metacêntrico no primeiro eixo canônico (CV1).

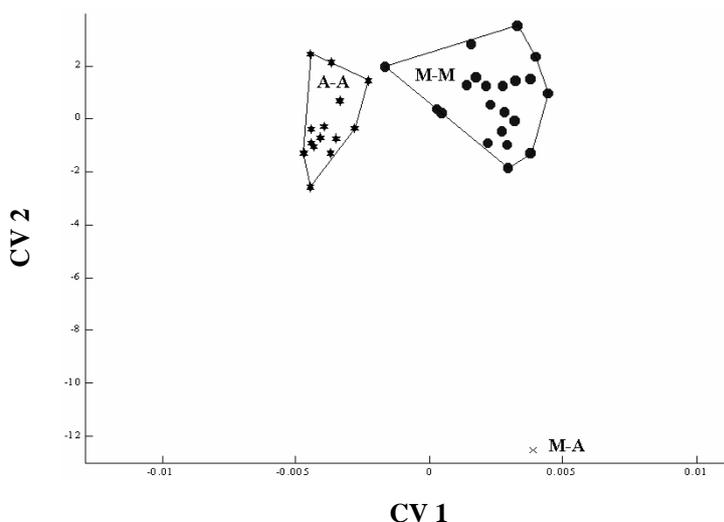


Figura 26 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para machos de diferentes formas cromossômicas para o par 1, em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = Metacêntrico – Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico – Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico – Acrocêntrico (A-A).

Diferenças entre as formas cromossômicas do par 1 em fêmeas – Para a vista dorsal, o agrupamento de CVA teve erro de 5,55%, dois indivíduos metacêntrico – metacêntrico classificados como sendo acrocêntrico - acrocêntrico. O gráfico de CVA (Fig. 27), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,009$). Para a vista ventral do crânio, o erro do agrupamento de CVA foi de 11,11%, indivíduos metacêntrico – metacêntrico classificados como acrocêntrico – acrocêntrico. O gráfico de CVA (Fig. 28), teve primeiro eixo canônico estatisticamente significativo ($p=0,0062$). Para a vista lateral, o erro foi de 5,55% no agrupamento de CVA, onde dois indivíduos metacêntrico – metacêntrico foram erroneamente classificados como sendo acrocêntrico – acrocêntrico. No gráfico de CVA (Fig. 29), o primeiro eixo canônico foi estatisticamente significativo ($p=0,039$). Neste gráfico, os indivíduos metacêntrico – metacêntrico aparecem separados dos indivíduos acrocêntrico – acrocêntrico no primeiro eixo canônico, e os indivíduos metacêntrico – acrocêntrico possuem escores similares aos dos indivíduos acrocêntrico – acrocêntrico no primeiro eixo canônico.

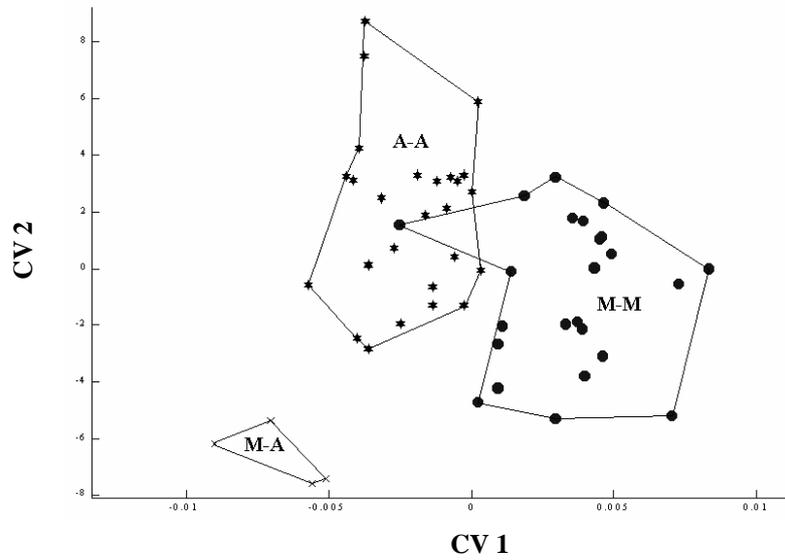


Figura 27 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para fêmeas de diferentes formas cromossômicas para o par 1, em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos = Metacêntrico - Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico - Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico - Acrocêntrico (A-A).

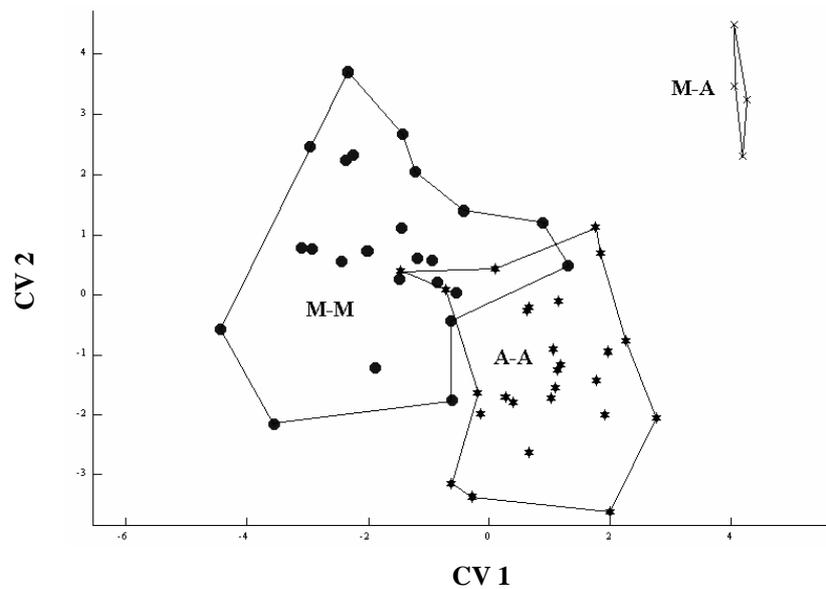


Figura 28 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para fêmeas de diferentes formas cromossômicas para o par 1, em *C. lami*, para a vista ventral do crânio. Círculos = Metacêntrico - Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico - Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico - Acrocêntrico (A-A).

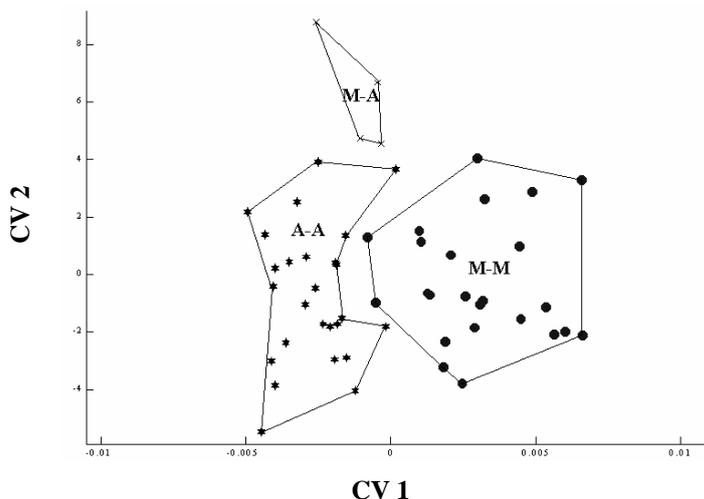


Figura 29 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para fêmeas de diferentes formas cromossômicas para o par 1, em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = Metacêntrico – Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico – Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico – Acrocêntrico (A-A).

Diferenças entre as formas cromossômicas do par 2 em machos – Para a vista dorsal, não houve nenhum eixo estatisticamente significativo. Para a vista ventral, também não houve nenhum eixo canônico estatisticamente significativo. Para a vista lateral do crânio, o agrupamento de CVA teve 19,44% de erro, classificando erroneamente seis espécimes metacêntrico – metacêntrico como sendo metacêntrico – acrocêntrico. No gráfico (Fig. 30), o primeiro eixo canônico apresentou significância estatística (CV1, $p=0,048$).

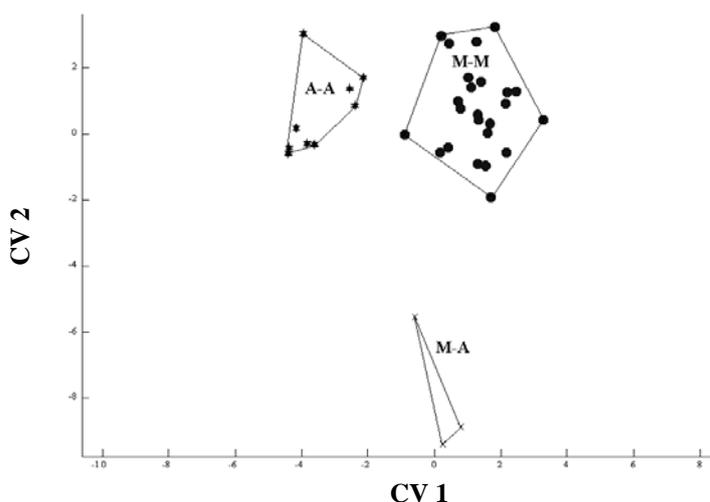


Figura 30. Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para machos de diferentes formas cromossômicas para o par 2, em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = Metacêntrico – Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico – Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico – Acrocêntrico (A-A).

Diferenças entre as formas cromossômicas do par 2 em fêmeas – Para a vista dorsal, o erro no agrupamento por CVA foi de 12,96%, cinco indivíduos metacêntrico – metacêntrico foram classificados como acrocêntrico – acrocêntrico. O gráfico de CVA (Fig. 31), teve o primeiro eixo canônico estatisticamente significativo (CV1, $p=0,004$). Para a vista ventral do crânio, não houve nenhum eixo significativo estatisticamente. Para a vista lateral, o agrupamento de CVA errou 25,92% dos espécimes, doze indivíduos metacêntrico – metacêntrico que foram classificados como sendo acrocêntrico – acrocêntrico. No gráfico de CVA (Fig. 32), o primeiro eixo apresentou significância estatística (CV1, $p=0,023$).

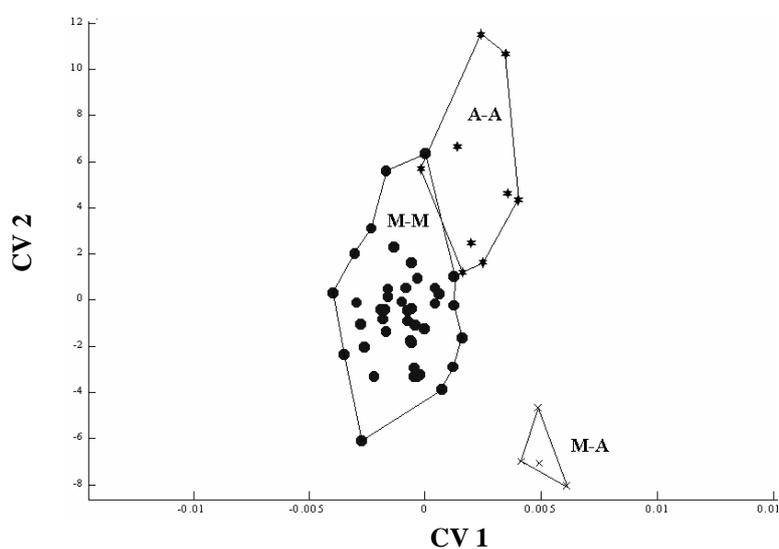


Figura 31 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para fêmeas de diferentes formas cromossômicas para o par 2, em *C. lami*, para a vista dorsal do crânio. Círculos = Metacêntrico – Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico – Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico – Acrocêntrico (A-A).

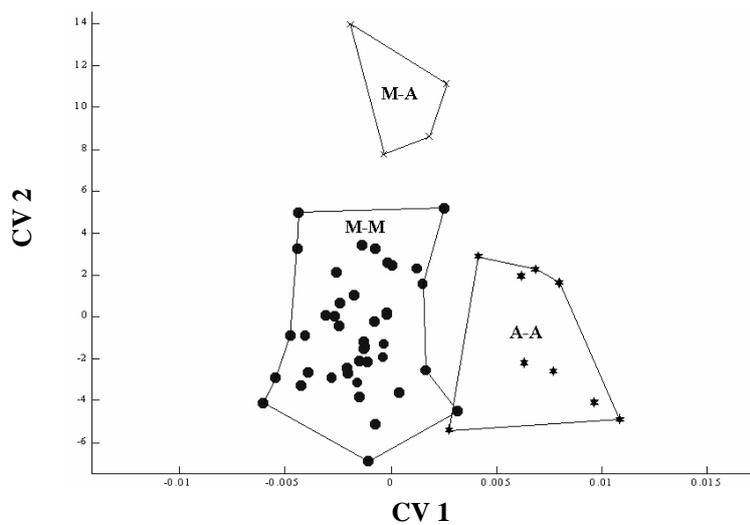


Figura 32 - Gráfico com os escores dos dois primeiros eixos canônicos, para fêmeas de diferentes formas cromossômicas para o par 2, em *C. lami*, para a vista lateral do crânio. Círculos = Metacêntrico – Metacêntrico (M-M); × = Metacêntrico – Acrocêntrico (M-A); estrelas = Acrocêntrico – Acrocêntrico (A-A).

IV.4 Distâncias entre Formas Médias

Os resultados que seguem usam distâncias de Procrustes, uma medida relacionada a forma, quanto mais duas formas diferem entre si maior é a distância de Procrustes entre elas. As próximas tabelas mostram distâncias de Procrustes entre diferentes grupos (sexos e blocos populacionais).

Diferenças entre Machos e Fêmeas: Na tabela 5 é possível observar que machos e fêmeas diferem entre si quanto a forma do crânio, de maneira estatisticamente significativa para os Blocos A e B. Para a vista ventral, novamente a diferença significativa estatisticamente está entre machos e fêmeas do Bloco B (Tab. 6). Quanto a vista lateral os Blocos B e D apresentaram maior diferença entre os sexos (Tab. 7). Nas três vistas o valor mais alto de F foi para as diferenças entre machos e fêmeas do Bloco populacional B.

Tabela 5 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos e fêmeas (M e F) dentro de cada Bloco populacional (A, B, C e D) para a vista dorsal do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Dorsal	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança 95%
MA × FA	2,22	0,033*	0,0169	0,0147 – 0,0270
MB × FB	8,22	0,0011*	0,0392	0,0319 – 0,0501
MC × FC	2,04	0,073	0,0198	0,0151 – 0,0326
MD × FD	1,73	0,0889	0,0165	0,0117 – 0,0294

Tabela 6 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos e fêmeas (M e F) dentro de cada Bloco populacional (A, B, C e D) para a vista ventral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Ventral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
MA × FA	2,16	0,052	0,0171	0,0137 – 0,0272
MB × FB	3,78	0,0033*	0,0307	0,0259 – 0,0426
MC × FC	2,19	0,06	0,0227	0,0165 – 0,0381
MD × FD	0,85	0,46	0,0146	0,0137 – 0,0302

Tabela 7 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos e fêmeas (M e F) dentro de cada Bloco populacional (A, B, C e D) para a vista lateral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Lateral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
MA × FA	2,09	0,05	0,0229	0,0168 – 0,0401
MB × FB	4,77	0,0011*	0,0403	0,0340 – 0,0550
MC × FC	1,50	0,1822	0,0234	0,0214 – 0,0388
MD × FD	2,13	0,041*	0,0252	0,0218 – 0,0388

Diferenças entre Blocos populacionais: Comparando os machos de cada bloco populacional entre si, na seqüência em que se encontram na Coxilha das Lombas (A → B → C → D). Para a vista dorsal, as diferenças significativas estatisticamente aparecem comparando A com B e principalmente B com C (Tab. 8). Para a vista ventral do crânio dos machos a única diferença significativa aparece quando se compara machos de B e com machos de C (Tab. 9). Quanto a vista lateral novamente machos de B e C diferem significativamente entre si (Tab. 10).

Tabela 8 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos (M) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista dorsal do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Dorsal	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
MA × MB	2,38	0,0467*	0,0212	0,0159 – 0,0353
MB × MC	3,96	0,0044*	0,0282	0,0215 – 0,0418
MC × MD	0,66	0,60	0,0119	0,0111 – 0,0284

Tabela 9 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos (M) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista ventral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Ventral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
MA × MB	1,27	0,23	0,0159	0,0135 – 0,0293
MB × MC	2,61	0,0233*	0,0245	0,0177 – 0,0376
MC × MD	0,66	0,6411	0,0138	0,0130 – 0,0319

Tabela 10 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para machos (M) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista lateral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Lateral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
MA × MB	1,42	0,1711	0,0234	0,0201 – 0,0397
MB × MC	2,88	0,0189*	0,0302	0,0256 – 0,0452
MC × MD	1,29	0,2667	0,0206	0,0191 – 0,0356

O mesmo tipo de análise foi feito utilizando os dados para fêmeas da espécie *C. lami*. Para a vista dorsal, constatou-se diferenças significativas entre fêmeas de A e B (Tab. 11). Para a vista ventral, verificou-se diferenças estatisticamente significativas entre B e C e entre C e D (Tab.12). Quanto a vista lateral, obteve-se diferença estatisticamente significativa entre A e B (Tab. 13).

Tabela 11 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para fêmeas (F) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista dorsal do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Dorsal	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
FA × FB	2,54	0,01*	0,0187	0,0168 – 0,0275
FB × FC	1,13	0,3167	0,0143	0,0134 – 0,0247
FC × FD	1,47	0,1467	0,0140	0,0124 – 0,0225

Tabela 12 - Distâncias de Procrustes entre médias de forma para fêmeas (F) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista ventral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Ventral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
FA × FB	2,14	0,0556	0,0191	0,0159 – 0,0313
FB × FC	3,34	0,0189*	0,0291	0,0203 – 0,0453
FC × FD	3,05	0,0289*	0,0247	0,0168 – 0,0405

Tabela 13. Distâncias de Procrustes entre médias de forma para fêmeas (F) entre diferentes Blocos populacionais (A, B, C e D) para a vista lateral do crânio. F = valor do teste F, p = nível de significância, D.E.M. = distância entre média. * = $p < 0,05$.

V. Lateral	F	p	D.E.M.	Intervalo de Confiança
FA × FB	2,47	0,0189*	0,0253	0,0225 – 0,0380
FB × FC	0,84	0,5256	0,0180	0,0182 – 0,0348
FC × FD	1,07	0,3678	0,0172	0,0153 – 0,0340

Para a análise utilizando apenas machos, os maiores valores do teste F estão relacionados às diferenças entre machos de B e machos de C (Tabelas 8, 9 e 10). Já para as fêmeas, os valores mais altos de F, foram para a diferença entre médias de forma entre A e B para a vista dorsal (Tab. 11). Já para as vistas ventral e lateral o maior valor de F esteve nas diferenças entre as fêmeas dos Blocos B e C (Tabelas 12 e 13).

IV.5 Diferenças na Forma do Crânio entre Machos e Fêmeas

A figura 33, mostra a configuração média de marcos anatômicos para a vista dorsal de machos e fêmeas. Nesta figura podem ser vistas as diferenças entre as formas médias para machos e fêmeas. O crânio dos machos (triângulos cinzas) em média possui um nasal proporcionalmente mais longo do que o das fêmeas (símbolos pretos), nos machos em geral o rostro é mais largo e mais longo em relação ao rostro das fêmeas.

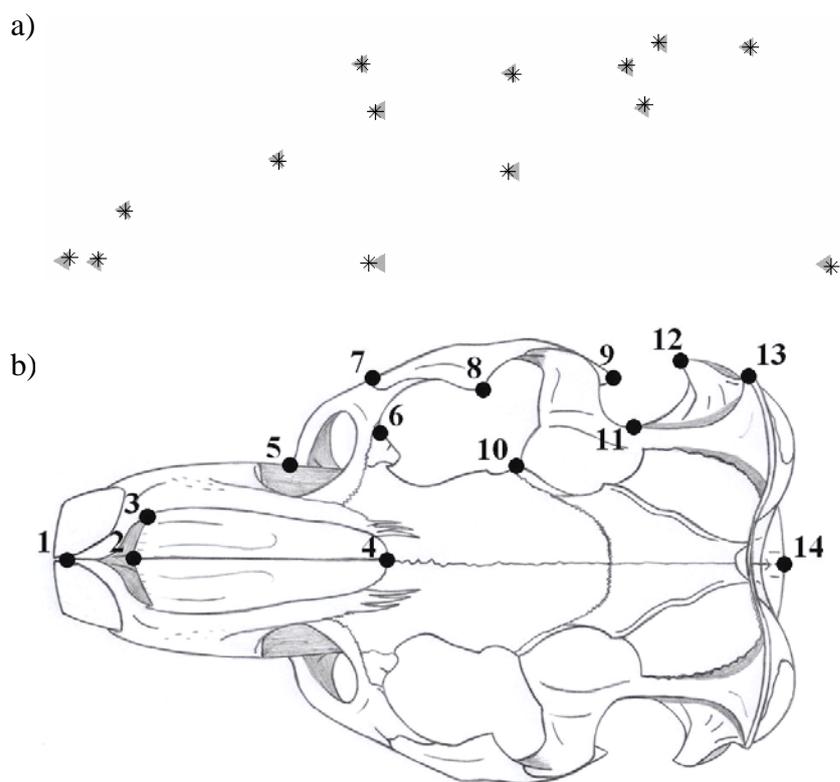


Figura 33 - Diferenças na configuração média da forma entre machos e fêmeas de *C. lami* a) configuração média de marcos anatômicos para machos (triângulos cinzas) e fêmeas (asteriscos pretos), b) crânio de *C. lami* com indicação dos marcos anatômicos para a vista dorsal.

A figura 34, apresenta a sobreposição das configurações médias de marcos anatômicos para a vista ventral de machos e fêmeas. Os machos em geral possuem um rostro proporcionalmente mais largo e mais longo do que as fêmeas, em geral os crânios dos machos são mais alongados e a parte posterior do crânio é mais alargada não mudando muito na região do arco zigomático.

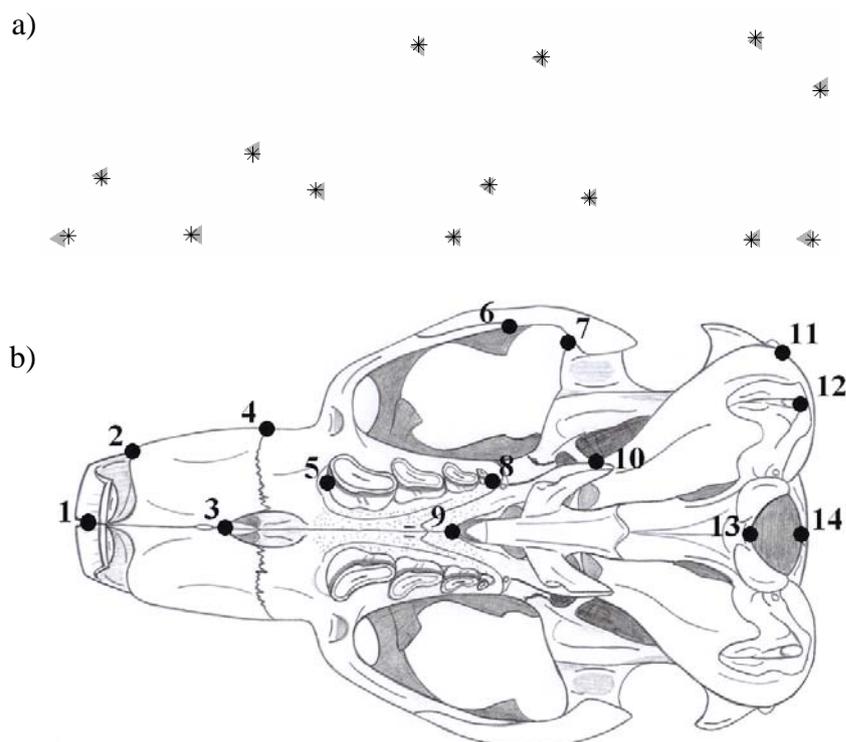


Figura 34 - Diferenças na configuração média da forma entre machos e fêmeas de *C. lami* a) configuração média de marcos anatômicos para machos (triângulos cinzas) e fêmeas (asteriscos pretos), b) crânio de *C. lami* com indicação dos marcos anatômicos para a vista ventral.

A figura 35, apresenta a sobreposição das configurações médias de marcos anatômicos para a vista lateral de machos e fêmeas. Os machos possuem um alvéolo incisivo maior do que as fêmeas, como nas outras vistas o rostró dos machos é mais longo. Nas fêmeas o crânio é levemente mais curvo na face superior do que nos machos, o arco zigomático não difere em comprimento mas difere em altura com machos onde os zigomáticos são um pouco mais amplos na altura do que as fêmeas.

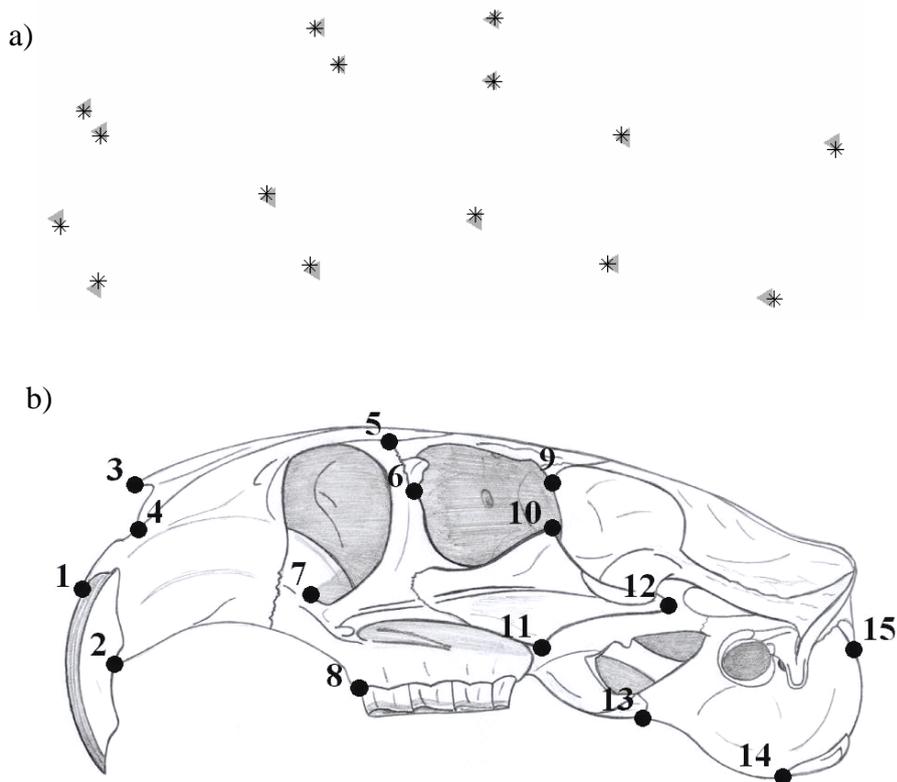


Figura 35 - Diferenças na configuração média da forma entre machos e fêmeas de *C. lami* a) configuração média de marcos anatômicos para machos (triângulos cinzas) e fêmeas (asteriscos pretos), b) crânio de *C. lami* com indicação dos marcos anatômicos para a vista lateral.

IV.6 Diferenças na Forma do Crânio entre Blocos Populacionais

Diferenças entre blocos populacionais a partir dos machos - A figura 36, apresenta as diferentes grades de deformações para a forma média dos machos da amostra, para a forma média dos machos de cada bloco populacional quanto à vista dorsal do crânio. Em média os machos de A, têm o crânio proporcionalmente mais curto e mais largo, com o nasal mais curto em relação a média geral (Fig. 36a). Na média de B, não se percebe mudanças na grade e nos vetores em relação ao comprimento e larguras proporcionais do crânio; apesar disto, o arco zigomático é mais curvado e o nasal proporcionalmente mais longo que a média geral (Fig. 36b). Quanto aos machos do bloco C, estes apresentam em média o crânio mais estreito, com a porção posterior do crânio mais aguda; frontal pouco mais estreito e arco zigomático pouco deslocado em direção a porção anterior do crânio (Fig. 36c). Em média os machos do bloco D possuem um nasal mais longo, arco zigomático mais curto em extensão e a parte posterior do crânio mais afilada do que a média (Fig. 36d).

Diferenças entre blocos populacionais a partir das fêmeas - Na figura 37, estão representadas as grades de deformações para as fêmeas dos quatro blocos populacionais de *C. lami* para a vista dorsal do crânio. As fêmeas do bloco A para a vista dorsal, apresentam um rostro mais largo e um nasal pouco mais longo em relação a média geral, porção posterior do crânio mais reta em relação ao eixo antero-posterior do crânio, frontal pouco mais largo e arco zigomático mais largo (Fig. 37a). As fêmeas do bloco B possuem em geral um rostro mais estreito e um nasal mais curto, o arco zigomático é um pouco deslocado para frente e a porção posterior do crânio é mais afilada em relação a média geral para fêmeas (Fig. 37b). As fêmeas do bloco C são muito similares a média geral para todas as fêmeas, com pequenas variações como nasal pouco mais curto, rostro pouco mais largo e porção posterior do crânio levemente mais afilada (Fig. 37c). Quanto as fêmeas do bloco D, estas possuem um nasal mais longo, o frontal mais estreito, arco zigomático mais curvo e crânio proporcionalmente mais estreito que a média geral para fêmeas (Fig. 37d).

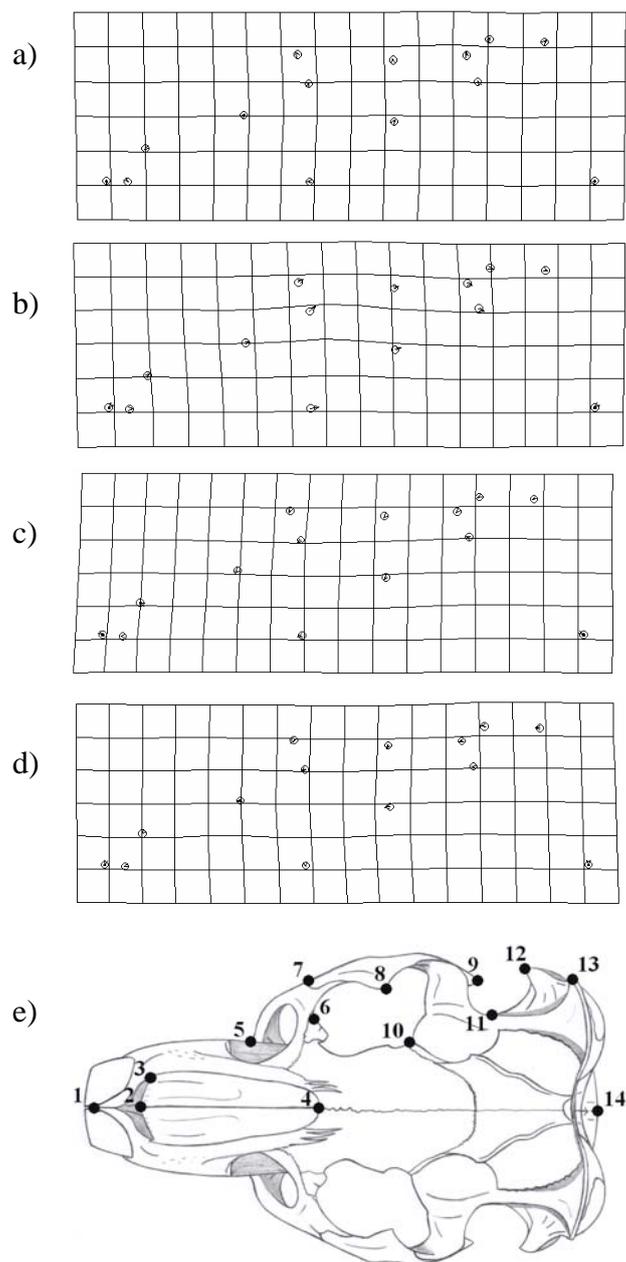


Figura 36 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre machos dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para machos; e) indicação dos marcos na vista dorsal do crânio de *C. lami*.

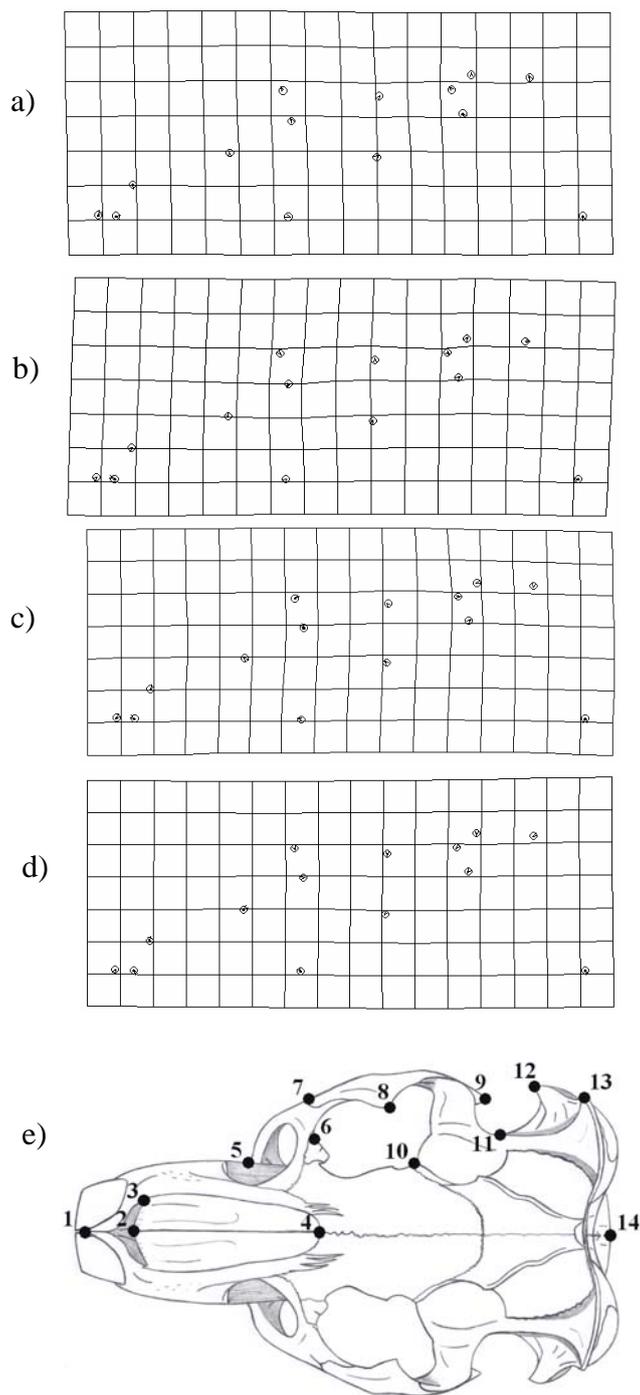


Figura 37 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre fêmeas dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para fêmeas; e) indicação dos marcos na vista dorsal do crânio de *C. lami*.

Diferenças entre blocos populacionais a partir dos machos - Na figura 38, estão representadas as grades de deformações para os machos dos quatro blocos populacionais de *C. lami* para a vista ventral do crânio. Os machos do bloco A, têm o arco zigomático mais largo, a bula timpânica é mais deslocada para trás e o forame palatino é deslocado para frente assim como o alvéolo incisivo (Fig. 38a). Os machos do bloco B, apresentam o forame palatino deslocado para trás assim como a série molariforme e o alvéolo incisivo (Fig. 38b). Quanto aos machos do bloco C, estes em média apresentam a bula timpânica mais deslocada para frente, os molariformes são deslocados para fora e para frente (Fig. 38c). Os machos do bloco D apresentam alvéolo incisivo, forame palatino e bula timpânica deslocados para frente, molariformes mais para dentro e posicionados pouco mais a frente que a média geral para todos os machos da amostra (Fig. 38d).

Diferenças entre blocos populacionais a partir das fêmeas - Na figura 39, estão representadas as grades de deformações para as fêmeas dos quatro blocos populacionais de *C. lami* para a vista ventral do crânio. As fêmeas do bloco A, apresentam o alvéolo incisivo, o forame palatino e a bula timpânica deslocados para trás e a série molariforme ocupando uma região pouco mais extensa que a média e o arco zigomático é um pouco deslocado para trás (Fig. 39a). As fêmeas do bloco B, têm o arco zigomático deslocado para trás assim como o forame palatino (Fig. 39b). As fêmeas do bloco C, têm o rosto alongado, alvéolo incisivo deslocado para frente, deslocamento intenso do forame palatino e crânio mais estreito (Fig. 39c). As fêmeas do bloco populacional D, têm o alvéolo incisivo mais largo, a bula timpânica é levemente deslocada para frente, forame palatino deslocado para trás e o crânio é um pouco mais estreito quando comparado a configuração média para fêmeas (Fig. 39d).

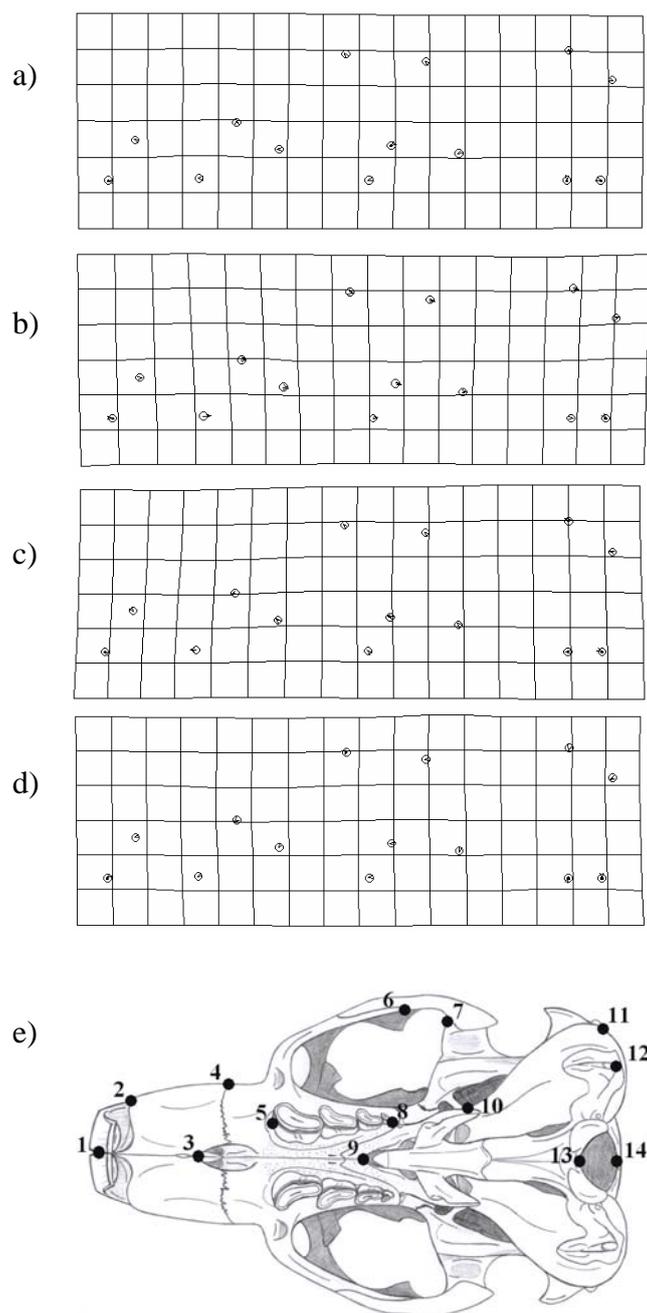


Figura 38 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre machos dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para machos; e) indicação dos marcos na vista ventral do crânio de *C. lami*.

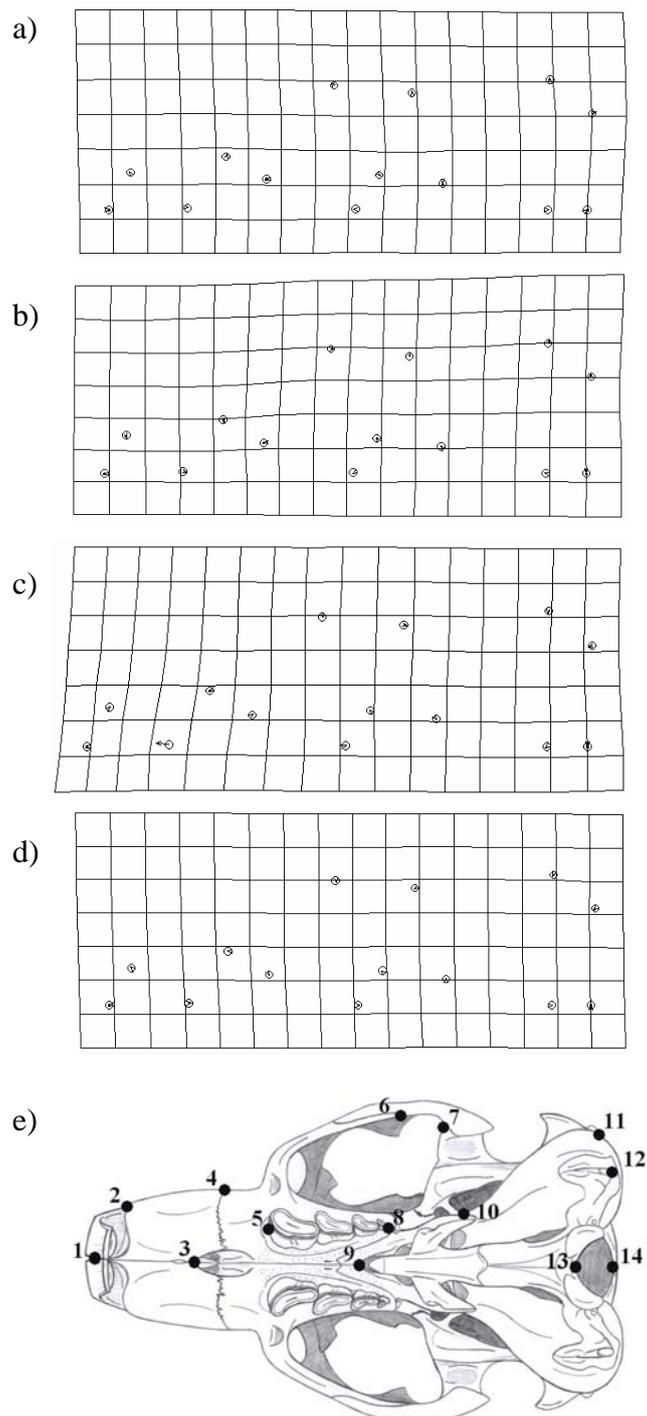


Figura 39 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre fêmeas dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para fêmeas; e) indicação dos marcos na vista ventral do crânio de *C. lami*.

Diferenças entre blocos populacionais a partir dos machos - Na figura 40, estão representadas as grades de deformações para os machos dos quatro blocos populacionais de *C. lami* para a vista lateral do crânio. Os machos do bloco A, possuem a parte anterior do rosto deslocada para cima, a bula timpânica é deslocada para baixo e o arco zigomático é um pouco mais curto do que na média (Fig. 40a). Os machos do bloco B, apresentam alvéolo incisivo maior, nasal deslocado para trás e o restante dos marcos pouco varia sendo um pouco mais curvo na região infero-posterior do crânio (Fig. 40b). Os machos do bloco C, apresentam em média o rosto inclinado para baixo, o arco zigomático deslocado mais para a região superior do crânio e a região da bula timpânica é um pouco deslocada para baixo dando um aspecto mais curvo para o crânio (Fig. 40c). Os machos do bloco D têm o crânio um pouco mais alongado na parte posterior em relação a média, arco zigomático maior e nasal mais alongado, rosto e nasal mais para cima (Fig. 40d).

Diferenças entre blocos populacionais a partir das fêmeas - Na figura 41, estão representadas as grades de deformações para as fêmeas dos quatro blocos populacionais de *C. lami* para a vista lateral do crânio. As fêmeas do bloco A, possuem a porção posterior do crânio deslocada para frente como toda a região da bula timpânica, enquanto que o arco zigomático é mais curto do que a média (Fig. 41a). As fêmeas do bloco B pouco diferem da média geral, mas o rosto é um pouco mais baixo e o arco zigomático um pouco mais alto, dando um aspecto curvo (Fig. 42b). As fêmeas do bloco C, têm o alvéolo incisivo relativamente menor, arco zigomático pouco mais extenso e região da bula timpânica pouco menor (Fig. 43c). As fêmeas do bloco D, possuem a região do rosto e do nasal inclinadas para cima e para trás, o arco zigomático é deslocado para trás assim como a bula timpânica (Fig. 44d).

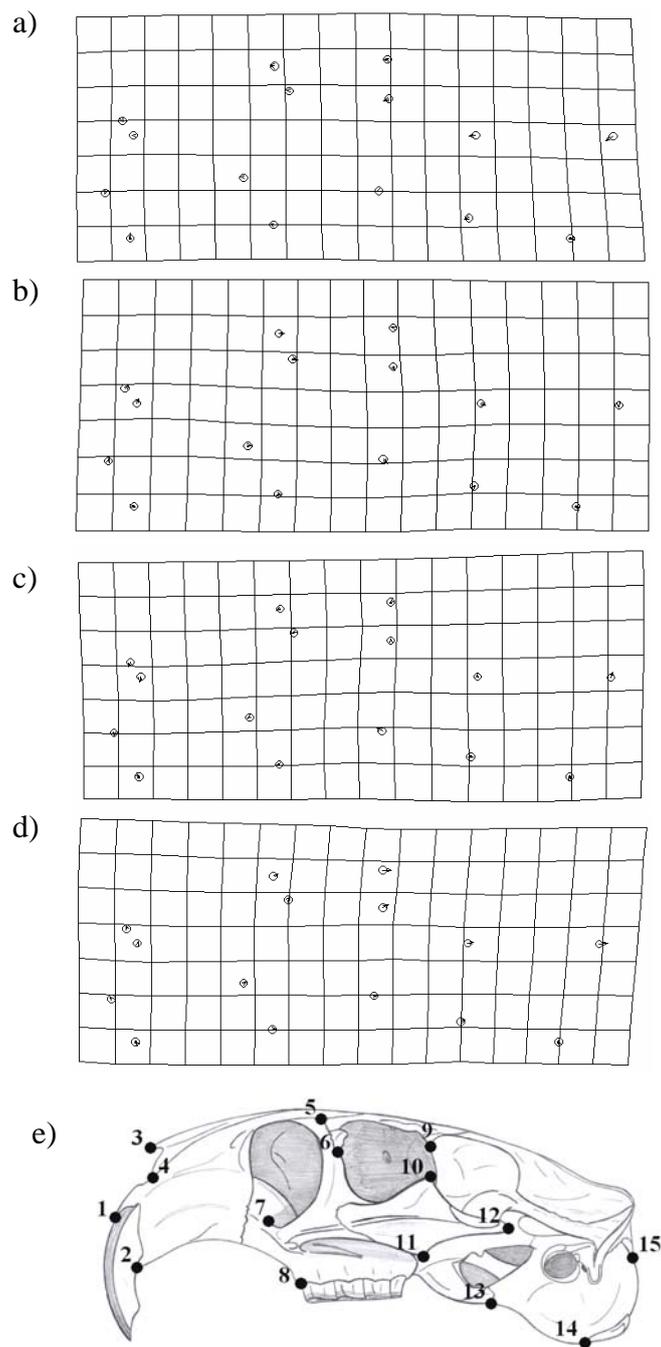


Figura 40 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre machos dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para machos; e) indicação dos marcos na vista lateral do crânio de *C. lami*.

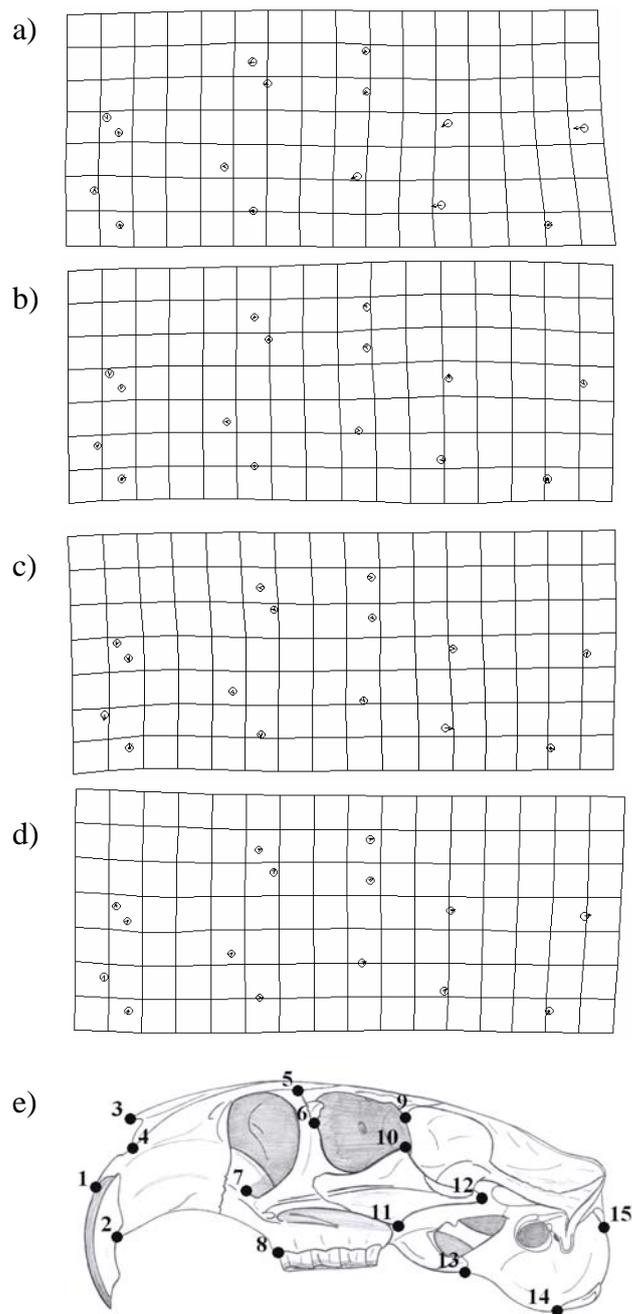


Figura 41 - Grades de deformações com vetores indicando as diferenças na forma entre fêmeas dos quatro blocos populacionais A (a), B (b), C (c) e D (d) em relação a média geral para fêmeas; e) indicação dos marcos na vista lateral do crânio de *C. lami*.

V DISCUSSÃO

Outros trabalhos já foram feitos utilizando craniometria em *Ctenomys* (Freitas, 1990; Marinho & Freitas, 2000), mas este é o primeiro a utilizar morfometria geométrica neste gênero. O que pode contribuir muito, em termos de novos dados sobre a variação morfológica destes roedores.

Os resultados apresentados aqui, mostram diferenças quanto ao tamanho do crânio para machos e fêmeas de *Ctenomys lami*, através do tamanho de seus centróides. O tamanho do centróide para machos, é em média maior do que para as fêmeas, este resultado foi estatisticamente significativo para as três vistas do crânio. Freitas (1990), mostrou diferenças entre machos e fêmeas de *Ctenomys lami*, utilizando morfometria tradicional aplicada nestes mesmos indivíduos e sugeriu que as diferenças são maiores em relação à forma do que ao tamanho dos crânios. El Jundi & Freitas (2004) em um estudo de estrutura etária e maturidade sexual nesta mesma espécie, já haviam constatado que os machos apresentavam um peso médio maior do que as fêmeas. Então *C. lami* apresenta dimorfismo sexual tanto para a forma (pelo menos do crânio) como para o tamanho (peso corporal e comprimento do crânio).

Comparando o tamanho do centróide entre machos e fêmeas dentro de cada bloco populacional, a maior diferença no tamanho foi encontrada no bloco B. Em relação aos machos e fêmeas desse bloco, estes apresentaram uma distinção de valores do tamanho do centróide entre si maior do que nos outros blocos (Fig. 2a-c). Assim, os dados indicam um dimorfismo sexual, quanto ao tamanho para *C. lami*, mais acentuado para o bloco B. A existência de dimorfismo sexual é encontrada em outras espécies de *Ctenomys*, como por exemplo *C. minutus*, *C. flamarioni* e *C. torquatus* (Freitas, 1990). El Jundi (2003), associou este dimorfismo em *C. lami* à competição por recursos e/ou reprodução. O que pode estar ocorrendo nestas populações é que as fêmeas podem estar selecionando machos maiores ou machos maiores terem um melhor sucesso reprodutivo em relação aos demais machos. Mas por que os machos de *C. lami* são maiores em B? Duas hipóteses poderiam ser testadas com mais estudos, uma em relação ao tamanho da amostra em que aumentando o número de indivíduos amostrados poderia-se esclarecer melhor as diferenças morfológicas entre blocos. Outra hipótese seria a de que o habitat do bloco B implicaria em

pressões ecológicas diferentes por variações no tipo de solo ou gama de recursos alimentares disponíveis.

Os dados resultantes de análise de componentes principais (PCA), foram de difícil interpretação, pouco destacando diferenças entre grupos. Por exemplo, diferenças entre machos e fêmeas quanto à forma não foram evidenciadas. Freitas (1990), também utilizou análise de componentes principais e observou diferenças entre machos e fêmeas quanto à forma do crânio. A diferença entre os dois trabalhos foi à aquisição dos dados morfométricos, um com mediadas lineares e o outro com marcos anatômicos.

Já para a análise de variáveis canônicas (CVA), a discriminação entre grupos foi bem mais evidente. Machos e fêmeas foram diferenciados para as três vistas do crânio, com uma melhor discriminação para os dados provenientes da vista lateral (Fig. 7). O agrupamento por CVA reforça bem isto sendo mais preciso para a vista lateral do que para as demais. Comparando machos e fêmeas dentro de cada bloco populacional, as diferenças entre sexos são ainda mais marcantes. A função discriminante classificou precisamente machos e fêmeas quando comparados por blocos separadamente. Estes dados sugerem que o dimorfismo sexual pode ter intensidades diferentes para cada bloco populacional.

As diferenças entre blocos populacionais utilizando CVA ficam bem claras para a vista lateral nos machos (Fig. 12). Os indivíduos de A estão separados de B e estes dois aparecem separados de C e D que ocupam posições contíguas. Isto seria esperado levando-se em conta a existência de uma barreira geográfica, a junção entre os dois banhados que delimitam a distribuição da espécie, que fica entre os blocos B e C. Ainda existem diferenças entre A e B relacionadas a pequenas elevações topográficas que podem representar uma barreira entre os blocos A e B. Os machos de C e D aparecem próximos pois entre eles não existe nenhuma barreira geográfica efetiva; a proposta de blocos deve-se à mudanças cromossômicas (Freitas, 1990). As demais vistas do crânio também mostram uma separação entre os blocos. Neste caso os diferentes blocos mostram um padrão clinal de variação morfológica, com os blocos seguindo a seqüência em que se encontram na Coxilha das Lombas, primeiramente A seguido de B, este por C e este último por D. Moreira e cols. (1991) constataram esse padrão clinal na variação das freqüências de alelos ao estudarem o polimorfismo enzimático nesta espécie e sugeriram a ocorrência de fluxo gênico entre as populações analisadas. No entanto, este mesmo estudo encontrou maior diversidade inter-populacional dentro dos demes, evidenciando a diminuição de

fluxo gênico. Os autores ainda sugerem, que estes dados podem indicar que os quatro blocos possivelmente estariam isolados de forma incipiente. Os dados para fêmeas são concordantes com os resultados obtidos para machos, onde existe clara separação morfométrica entre os quatro blocos populacionais. No entanto, dependendo da vista do crânio utilizada, as fêmeas de C sobrepõem-se parcialmente com as fêmeas de B, hora parcialmente ao bloco D. Para as fêmeas, a vista do crânio que melhor classificou os blocos pela função discriminante, também foi a vista lateral. A partir destes dados, podemos sugerir que as fêmeas são mais homogêneas entre si ou mais similares morfologicamente entre blocos. Já os machos, parecem ser mais específicos para cada bloco populacional.

Analisando as diferenças morfológicas entre os diferentes números diplóides ($2n = 54, 55, 56$ e 58), tanto para machos como para fêmeas, os resultados são concordantes. Nos gráficos de CVA, observa-se que os indivíduos $2n = 55$, na maioria das vezes estão posicionados de maneira intermediária aos indivíduos $2n = 54$ e $2n = 56$ e os indivíduos $2n = 58$ bem separados dos demais. Estes dados nos levam a sugerir que a forma híbrida $2n = 55$, também possui um estado intermediário para a forma do crânio. Levando-se em consideração que o tipo cromossômico mais freqüente para *C. lami* é $2n = 54$ (Freitas, 1990), e que o mais distinto deste seria o cariótipo $2n = 58$, os dados morfométricos mostram-se similares, pois a forma $2n = 58$ em todos os gráficos aparece mais separada dos demais. Levando em consideração que *C. lami* possui $2n = 54$ e $2n = 58$, e que essas formas são as mais diferentes, e que Freitas (1990) não encontrou o duplo heterozigoto ($2n = 56$). Provavelmente, também ocorre uma maior diferenciação em relação à forma do crânio devido ao isolamento entre estas formas (bloco A com $2n = 54$ e o bloco B com $2n = 58$), no entanto, o fluxo gênico deve ocorrer entre elas através de outros cariótipos encontrados nessa espécie (cruzamento entre $2n = 55a, 2n = 56a$ e $2n = 58$), e isto também é encontrado para as fêmeas. Marinho e Freitas (2000), analisaram a variação craniométrica em *C. minutus* através de morfometria tradicional e constataram que a forma híbrida $2n = 47$ apresenta um estado intermediário para a forma do crânio entre os cariótipos $2n = 46$ e $2n = 48$. Similar ao encontrado até aqui com *C. lami* em que a forma cromossômica híbrida também possui uma morfologia intermediária em relação às outras duas formas.

Quanto aos diferentes citótipos ($2n = 54, 55a, 55b, 56a, 56b$ e 58), a classificação por função discriminante teve precisão similar àquela encontrada na análise anterior. Para à vista lateral do crânio dos machos, o agrupamento por CVA teve precisão de 100% apesar de só haver um indivíduo $2n = 55b$ e um $2n = 56a$. Os resultados para as fêmeas foram concordantes com os resultados para machos e novamente os espécimes de cariótipo $2n = 58$ agruparam-se isoladamente em relação aos demais cariótipos. Ainda, na vista lateral, os cariótipos $2n = 55a$ e $2n = 55b$, foram intermediários aos cariótipos $2n = 54$ e $56b$. Estes dados sugerem que os diferentes citótipos podem ter relação com as diferenças morfométricas no crânio.

Os diferentes números cromossômicos são devidos a rearranjos Robertsonianos que ocorrem nos pares 1 e 2. Em relação ao primeiro par cromossômico de *C. lami*, este apresenta diferentes estados: metacêntrico – metacêntrico (M-M), metacêntrico – acrocêntrico (M-A) ou acrocêntrico - acrocêntrico (A-A). Os cariótipos $2n = 54, 55a$ e $56a$ são M-M, os indivíduos de cariótipo $2n = 55b$ são M-A e os indivíduos $2n = 56b$ e 58 são A-A. Para machos, o único M-A, teve o escore no CV-1 similar aos indivíduos M-M. Já para as fêmeas, os indivíduos M-A ficaram próximos dos espécimes A-A em relação ao primeiro eixo canônico (o único que foi estatisticamente significativo).

Para o segundo par cromossômico da espécie *C. lami*, as mesmas formas são encontradas, mas distribuídas em cariótipos diferentes. Os indivíduos $2n = 54, 55b$ e $56b$ são M-M, indivíduos $2n = 55a$, são M-A e os cariótipos $2n = 56a$ e 58 são A-A.

Quando usando função discriminante, os resultados para machos foram similares ao primeiro par. Já para as fêmeas, a função discriminante teve maior erro de classificação para o par 2 do que em relação ao par 1. Este fato sugere que a variação na forma do crânio pode estar mais associada ao primeiro par cromossômico do que ao segundo e que estes pares cromossômicos podem influenciar de maneiras diferentes cada sexo.

Analisando-se a porcentagem de classificações errôneas pela função discriminante de CVA, podemos observar o seguinte padrão de variação morfométrica: machos e fêmeas diferem morfologicamente uns dos outros, principalmente quando analisados em bloco separados; e os blocos populacionais diferem entre si morfometricamente. Já as demais variáveis associadas à forma do crânio (número diplóide, citótipos, pares cromossômicos 1 e 2), tiveram alta porcentagem de erro, variando de 16,66% até 44,44%, com exceção da vista lateral para machos de diferentes citótipos que teve agrupamento por CVA com 100%

de acerto e a vista lateral para fêmeas quanto ao par cromossômico 1, que tiveram um erro de classificação de 5,55%. Estes dados sugerem que existe baixo fluxo gênico entre os diferentes blocos populacionais e que os machos dispersam menos do que as fêmeas devido a aparente homogeneidade morfométrica que estas apresentam. Ou a aparente uniformidade das fêmeas pode ser resultado seletivo em relação ao investimento de energia na gestação, lactação e cuidado com a prole e por isto não diferirem tanto entre si quanto os machos.

Apesar da análise de variáveis canônicas (CVA) ser conveniente na discriminação entre grupos, esta ferramenta envolve uma otimização por reescala e a interpretação dos dados pode ser complexa. As distâncias no espaço das variáveis canônicas (Distâncias de Mahalanobis) não são equivalentes às distâncias no espaço original (Zelditch *et al.*, 2004). Ainda assim, CVA é uma abordagem que pode ajudar em questões biológicas a respeito da variação e covariação na forma dos organismos dentro e entre populações (Sanfelice, 2003). O mesmo é enfatizado por Monteiro e Reis (1999), em que a técnica mais apropriada para o estudo da variação entre grupos é a análise de variáveis canônicas.

Analisando a diferença entre as formas médias de machos e fêmeas, observou-se que a maior distância de Procrustes foi encontrada no bloco populacional B. Ou seja, a forma média do crânio de machos e fêmeas do bloco B difere mais do que nos outros blocos, em todas as vistas cranianas examinadas.

Fazendo a comparação de formas entre $A \times B$, $B \times C$ e $C \times D$ em machos, a maior diferença foi encontrada entre B e C. Isto seria esperado levando-se em conta que existe uma barreira geográfica, a junção entre o banhado dos Touros e dos Pachecos que delimitam a distribuição da espécie e que ficam entre os blocos populacionais B e C. Assim formando dois grandes grupos, AB de um lado e CD de outro. Moreira e cols. (1991), estudando a similaridade genética desta espécie e com estes mesmos indivíduos, também observaram a divisão das populações em dois grandes grupos. Já para as fêmeas foram encontradas diferenças entre A e B para a vista dorsal, entre B e C; e C e D para a vista ventral, e entre A e B para a vista lateral. Estes dados voltam a sugerir que as fêmeas apresentam uma maior homogeneidade morfométrica entre blocos.

Ao se comparar às formas médias de machos e fêmeas, constata-se uma certa concordância entre as vistas, ainda que estas contenham informações diferentes. A principal característica para diferenciar machos de fêmeas de *C. lami* são as proporções do

rosto, que nos machos é relativamente mais largo e mais longo do que nas fêmeas. Apesar de diferenças na forma do crânio existirem entre machos e fêmeas e entre blocos populacionais, as diferenças intra-blocos descritas aqui, são apenas sugeridas, pois as grades de deformações apenas mostram as diferenças nas configurações consenso de cada bloco em relação a média geral. Diferenças que não foram quantificadas estatisticamente nas grades, e que neste trabalho tem apenas o papel de ilustrar as diferenças que podem ter maior relevância na discriminação de cada bloco populacional.

Analisando de forma mais integrada os resultados, percebemos que estes dados são concordantes em uma série de pontos. Um deles diz respeito ao dimorfismo sexual. A espécie focada neste estudo, *C. lami*, apresentou diferenças entre machos e fêmeas para o tamanho e forma do crânio. O bloco com maior dimorfismo sexual foi o bloco B, tanto para tamanho como para forma. As diferenças de tamanho e forma entre machos e fêmeas têm relação com seleção sexual, provavelmente gerado pela competição entre machos pelo acesso às fêmeas; ou possui relação com a competição por recursos. O dimorfismo mostrou-se mais acentuado nos indivíduos do bloco populacional B, que pode ter uma competição mais intensa entre machos ou estar associada às diferenças cromossômicas, já que os pares 1 e 2 são formados por oito cromossomos livres acrocêntricos (Freitas, 1990; 2001).

Observando os resultados para machos do bloco populacional B, estes possuem o crânio maior e o rosto é relativamente mais longo do que nos outros grupos. De certa maneira isto vai de encontro ao proposto por Vassalo (2000), que sugeriu que em roedores caviomorfos, as espécies de maior tamanho possuem o rosto proporcionalmente mais longo. Este autor mostra ainda como as relações de forma e tamanho do crânio de roedores podem afetar os organismos em aspectos biomecânicos, fisiológicos e ecológico – comportamentais. Mora e cols. (2003) estudaram 23 espécies de *Ctenomys* e mostraram a íntima relação entre tipo de solo e morfologia do crânio, principalmente em relação ao tamanho do rosto e o ângulo dos incisivos superiores, também enfatizando o importante papel da dentição destes animais, tanto no forrageio como na escavação.

A vista lateral do crânio mostrou-se a mais informativa, sendo a que melhor fez discriminação entre diferentes grupos. Ou seja, em termos de riqueza de informações foi a mais discriminante. Resultado similar ao encontrado na análise da variação geográfica em *Thricomys apereoides* (Reis *et al.*, 2002), na qual a vista lateral do crânio mostrou-se a

mais informativa com relação às populações estudadas. Ainda, aqueles autores demonstraram que cada vista do crânio tem características variáveis e portanto provém níveis diferentes de resolução para definir grupos de populações. Reis (1990), também já havia sugerido que a vista lateral do crânio de roedores da subfamília Caviinae provinha melhores dados para a análise de variáveis canônicas. Assim, cada vista apresenta informações diferentes. Neste estudo, as informações entre as três vistas foram concordantes na maioria das análises. A morfometria geométrica foi capaz de mostrar o quanto e onde as estruturas do crânio diferem. Ao contrário de Freitas (1990), os machos de *C. lami* também foram informativos na discriminação entre grupos.

Freitas (1990), constatou que em princípio, não ocorre qualquer tipo de correlação entre as formas cariotípicas e fatores ambientais como as encontradas por Nevo (1979) em *Spalax*, sugerindo que as variações cromossômicas em *C. lami* são devidas à história da região e não a fatores ecológicos. Já a variação morfométrica do crânio, pode estar relacionada a fatores ecológicos. Estudos sobre a região da Coxilha das Lombas e disponibilidade de recursos poderiam ajudar a elucidar melhor esta questão.

Existe uma possível explicação para a atual distribuição de *C. lami* e os diferentes números diplóides na Coxilha das Lombas. Há aproximadamente 400 mil anos atrás, houve a formação de uma barreira arenosa, cercada pelo mar e que formou o que hoje conhecemos como Coxilha das Lombas (Menegat, 1998). *C. lami* ocupou esta região através de cordões arenosos e a população original poderia ser menor e mais homogênea do que é atualmente. Acredita-se que no início da colonização desta região, o cariótipo predominante e único da espécie fosse $2n = 54$. Assim, quando formou-se um sistema de arroios passando no meio da Coxilha, dividiu a espécie em dois grandes grupos, um a sudoeste e outro a nordeste. Com as duas grandes populações separadas efetivamente por rios, elas puderam evoluir independentemente. No grupo a sudoeste, mutações cromossômicas nos pares 1 e 2 levaram ao cariótipo $2n = 58$, que ficou separado do grupo original ($2n = 54$) por elevações no relevo que formaram uma nova barreira geográfica (talvez não tão efetiva quanto os arroios), hoje entre os blocos populacionais A e B. No grupo a nordeste, também ocorreram mutações cromossômicas no par 1, que levaram a formação do cariótipo $2n = 55a$ no bloco C e no par 2 originaram $2n = 55b$ e $2n = 56b$ no bloco D (Freitas in prep). Tanto os dados cromossômicos como os dados morfométricos apoiam esta hipótese.

Então, mudanças cromossômicas no evento de especiação de *C. lami*, podem ter sido acompanhadas por mudanças morfológicas. Assim, uma possível origem para o quadro atual da distribuição dos diferentes cariótipos na Coxilha das Lombas seria a união de eventos geológicos, deriva genética, mutações cromossômicas e mudanças morfológicas associadas à seleção natural.

Algumas questões podem ter sido respondidas, mas outras continuam abertas. Novos estudos moleculares, com DNA mitocondrial e sobre as dinâmicas populacionais destes roedores, podem elucidar melhor e assim confirmar ou contrapor as idéias levantadas aqui neste estudo. Principalmente em relação ao fluxo gênico que possa existir entre os quatro blocos populacionais de *C. lami* e a relação da morfologia com fatores ambientais.

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera M & Corti M (1994) Craniometric differentiation and chromosomal speciation of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae). *Z. Säugetierkunde* 59: 366-377.
- Altuna AC, Francescoli G, Tassino B & Izquierdo GE (1999) Ecoetologia y conservacion de mamíferos subteraneos de distribuicion restringida: el caso de *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Octodontinae) en el Uruguay. *Etologia*, 7:47-54.
- Atchley WR & Hall BK (1991) A Model for Development and evolution of complex morphological structures. *Biol. Rev.* 66: 101-157.
- Blackith R (1965) Morphometrics. in: Waterman, TH & Morowitz J (eds) Theoretical and mathematical biology. Blaisdell. New York pp 225-249.
- Bookstein FL (1991) Morphometric tools for landmark data. New York. Cambridge University Press.
- Contreras LC, Torres-Mura JC & Yáñez JL (1987) Biogeography of Octodontid Rodents: an eco-evolutionary hypotesis. *Fieldiana Zoology*, 39:401-411.
- Darwin CR (1832) The voyage of the Beagle. E-book (2004) <http://charles-darwin.classic-literature.co.uk/the-voyage-of-the-beagle/ebook-page-25.asp>.
- Darwin CR (1959) A origem das espécies. Tradução (1981) Hemus. São Paulo, 471pp.
- El Jundi TARJ (2003) Estudo da variabilidade cromossômica em *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomyidae) ao longo de sua distribuição geográfica através de marcadores moleculares. Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS: Porto Alegre. (Tese de Doutorado).
- El Jundi TARJ & Freitas TRO (2004) Genetic and demographic structure in a population of *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomyidae). *Hereditas* 140:18-23.
- Foote M (1997) The evolution of morphological diversity. *Annual Review of Ecology and Systematic* 28: 129-152.
- Freitas TRO (1990) Estudos citogenéticos e craniométricos em três espécies do gênero *Ctenomys*. Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS: Porto Alegre. (Tese de Doutorado).
- Freitas TRO (1994) Geographic variation of heterochromatin in *Ctenomys flamarioni* (Rodentia, Octodontidae) and its cytogenetic relationship with other species of the genus. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 67:193-198.
- Freitas TRO (1995) Geographic distribution and conservation of four species of the genus *Ctenomys* in southern Brazil. *Studies on Neotropical fauna and Environment*, 30: 53-59.

- Freitas TRO (2001) Tuco-tucos (Rodentia, Octodontidae) in souther Brazil: *Ctenomys lami* spec. nov. Separated from *C. minutus* Nehring 1887. Studies on Neotropical Fauna and Environment. 36(1) 1-8.
- Freitas TRO & Lessa EP (1984) Cytogenetics and morphology of *Ctenomys torquatus* (Rodentia-Octodontidae). Journal of Mammalogy, 65:637-642.
- Freygang CC, Marinho JR & Freitas TRO (2004) New karyotypes and some considerations about the chromosomal diversification of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae) on the Coastal Plain of the Brazilian state of Rio Grande do Sul. Genetica 121:125-123.
- Futuyma DJ (2003) Biologia evolutiva. 2ª ed. Sene, Ribeirão Preto, pp109-451.
- Galis F (1996) The application of functional morphology to evolutionary studies. Trends in Ecology and Evolution 11: 124-129.
- Gastal ML (1994) Sistema de túneis e áreas de vida de *Ctenomys minutus* Nehring, 1887 (Rodentia , Caviomorpha, Ctenomyidae) Inheringia, Ser. Zool. Porto Alegre (77): 35-44.
- Gava A & Freitas TRO (2002) Characterization of a hibrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae). Journal of Mammalogy, 83(3): 843-851.
- Hespenheide HA (1973) Ecological inferences from morphological data. Annual Review of Ecology and Systematic, p 213-229.
- Kim H-J, Rice DPC, Kettunen PJ & Thesleff I (1998) FGF-BMP-and Shh-Mediated signalling pathways in the regulation of cranial suture morphogenesis and calvarial bone development. Development 125: 1241-1251.
- King M (1993) Species evolution: the role of chromosome change. Cambridge University Press, pp 72-90
- Lacey EA, Patton JL & Cameron NG (2000) Life Underground: Biology of Subterranean Rodents. The University of Chicago Press, London 449 pp.
- Lauder GV (1990) Functional morphology and systematics: studing functional patterns in an historical context. Annual Review of Ecology and Systematic 21:317-340.
- Lessa EP & Cook JA (1998) The molecular phylogenetics of tuco-tucos (genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae) suggests an early burst of speciation. Molecular Phylogenetics and Evolution, 9:88-99.
- Malizia AI, Zenuto RR & Busch C (1995) Demographic and reproductive atributes of dispersers in two populations of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Tuco-Tuco) Canadian Journal of Zoology-Revue, 73:(4) 732-738.

- Marinho JR & Freitas TRO (2000) Intraespecific craniometric variation in a chromosome hybrid zone of *Ctenomys minutus* (Rodentia, Hystricognathi). *Z. Säugetierkunde* 65: 226-231.
- Mayr E (1998) O desenvolvimento do pensamento biológico. Brasília, UnB, 1107 pp.
- McKinney ML (1988) Heterochrony in evolution: an multidisciplinary approach. New York; Plenum Press, 348 pp.
- McPhee ME (2004) Morphological change in wild and captive oldfield mice *Peromyscus polionotus subgriseus*. *Journal of Mammalogy*. 85(6): 1130-1137.
- Menegat R (coord.), Porto ML, Carraro CC & Fernandes LAD (1998) Atlas ambiental de Porto Alegre. UFRGS, Porto Alegre, 228 pp.
- Monteiro LR & Reis SF (1999) Princípios de Morfometria Geométrica. Holos editora. Ribeirão Preto SP, 188 pp.
- Mora M, Olivares AI & Vassalo AI (2003) Size, shape and structural versatility of the skull of the subterranean rodent *Ctenomys* (Rodentia, Caviomorpha): functional and morphological analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 85-96.
- Moraes DA (2003) A Morfometria Geométrica e a “Revolução na Morfometria”: localizando mudanças na forma dos organismos. <http://www.bioletim.hpg.ig.com.br/III-3/Artigos/moraes.htm>
- Moreira DM, Franco MHL, Freitas TRO & Weimer TA (1991) Biochemical polymorphisms and phenetic relationships in rodents of the genus *Ctenomys* from southern Brazil. *Biochemical Genetics*, 29: 601-615.
- Mullin SK, Pillay N & Taylor PJ (2004) Cranial variation and geographic patterns within the *Dasymys rufulus* complex (Rodentia: Muridae). *Journal of Mammalogy*. 85(9): 911-923.
- Nevo E (1979) Adaptative convergence and divergence of subterranean mammals. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 10:269-308.
- Nicola PA, Monteiro LR, Pessôa LM, Von Zuben FJ, Rohlf FJ & Reis SF (2003) Congruence of hierarchical, localized variation in cranial shape and molecular phylogenetic structure in spiny rats, genus *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 80: 385-396.
- Nowack RM & Paradiso JL (1991) Walker's mammals of the world. Baltimore & London, Johns Hopkins University Press.
- Oxnard CE (1980a) Introduction to the symposim: Analysis of form. Some problems underlying the study of Form. *Amer. Zool.* 20:619-626.

- Oxnard CE (1980b) Conclusion to the symposium: diversity in the analysis of form. *Amer. Zool.* 20:721-722.
- Patton JL & Sherwood SW (1983) Chromosome evolution and speciations in rodents. *Annual Review of Systematics.* 14:139-581.
- Pearson O (1959) Biology of subterranean rodents, *Ctenomys*, in Peru. *Memorias Museo Natural "Javier Prado"*, 9:1-56.
- Pearson O, Binsztein N, Boiry L, Busch C, Pace M, Gallopin G, Penchaszadeh Y & Piantanida M (1968) Estructura social, distribucion espacial y composicion por eda de una poblacion de tuco-tucos (*Ctenomys talarum*) *Inv. Zool. Chilenas.* 10:47-79.
- Raff RA (1996) *The shape of life: genes, development, and the evolution of animal form.* University of Chicago Press. Chicago.
- Reig OA (1986) Diversity patterns and differentiation of high andean rodents. Oxford University Press. (16) 405-439.
- Reig OA (1989) Karyotypic repatterning as one triggering factor in cases of explosive speciations. in: *Evolutionary biology of transient unstable populations.* Ed Fontdevila, Germany, 246-289.
- Reig OA & Kibliscky P (1969) Chromosome multiformity in the genus *Ctenomys* (Rodentia-Octodontidae). *Chromosoma*, 28: 211-244.
- Reig OA, Busch C, Ortells MO & Contreras JR (1990) An overview of evolution, systematics, populations biology, cytogenetics, molecular biology and speciation in *Ctenomys*. In: *Evolutions of the subterranean mammals at the organismal and molecular levels*, pp 71-86.
- Reig OA, Massarini AI, Ortells MO, Barros MA, Tiranti SI & Dyzenchaus FJ (1992) New karyotypes and C-banding patterns of the subterranean rodents of the genus *Ctenomys* (Caviomorpha, Octodontidae) from Argentina. *Mammalia*, 54(4) 603-623.
- Reis SF (1990) Mammalian Cranial Morphometrics: A comparative Study of Traditional and Truss Networks. *Zool. Anz.* 224:225-235.
- Reis SF, Duarte LC, Monteiro LR, & Von Zuben FJ (2002) Geographic variation in cranial morphology in *Thricomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). I. Geometric descriptors and patterns of variation in shape. *Journal of Mammalogy* 83(2): 333-344.
- Rohlf FJ (1999) Shape statistics: Procrustes superimposition and tangent spaces. *Journal of Classification.* 16:197-223.
- Rohlf FJ (2004) TPSUtil version 1.31 & TPSDig version 3.1. State University of New York at Stony Brook.

- Rohlf FJ & Marcus LF (1993) A Revolution in Morphometrics. Trends in Ecology and Evolution. 8(4): 129-132.
- Sanfelice D (2003) Ontogenia craniana comparada de *Arctocephalus australis*, *Callorhinus ursinus* e *Otaria byronia* (Otariidae: Pinnipedia). Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, UFRGS: Porto Alegre. (Tese de Doutorado).
- Sheets HD (2004) CoordGen6f / CVAGen6j / PCAGen6n / TwoGroup6h. Dept. of Physics, Canisius College, Main St. Buffalo.
- Thompson DW (1917) On growth and form. New York, Dover Publications, 1117 pp.
- Travi VH (1983) Etologia de *C. torquatus* Lichtenstein, 1830 (Rodentia, Ctenomyidae) na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil, Dissertação de Mestrado, UFRGS, Porto Alegre, 75pp.
- Van Valen L (1965) Morphological variation and width of ecological niche. Am. Nat. 104: 377-390.
- Vassalo AI (2000) Alometría e Isometría em varias especies de roedores caviomorfos, com comentarios sobre la estructura del aparato masticatorio del orden Rodentia. Mastozoologia Neotropical 7(1): 37-46.
- Vilwock JA (1989) A summary of the geology of the coastal province of Rio Grande do Sul. Proceedings of the International Symposium on Utilization of Coastal Ecosystems: planning, pollution and productivity, 2: 471-484.
- Zelditch M L, Swiderski D L, Sheets H D & Fink W L (2004) Geometric Morphometric for biologists: a primer. Elsevier Academic London 443pp.
- Zenuto R, Busch C & Lacey AE (1999) DNA Fingerprint reveals polygyny in the subterranean rodents *Ctenomys talarum*. Molecular Ecology, 8:1529-1532.