

Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Influência de fatores ambientais e genéticos na
Assimetria Flutuante de populações de *Nectomys
squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) do Estado do
Rio de Janeiro**

Aldo Caccavo de Araujo

2014



**Influência de fatores ambientais e genéticos na Assimetria
Flutuante de populações de *Nectomys squamipes* (Rodentia:
Sigmodontinae) do Estado do Rio de Janeiro.**

Aldo Caccavo de Araujo

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Ambientais e Conservação da Universidade
Federal do Rio de Janeiro como parte dos
requisitos à obtenção do título de Mestre em
Ciências Ambientais e Conservação.

Orientador: Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves

Macaé,
Março de 2014

Influência de fatores ambientais e genéticos na Assimetria Flutuante de populações de *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) do Estado do Rio de Janeiro.

Aldo Caccavo de Araujo

Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessário à obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Banca examinadora :

Prof. Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves (Presidente).

Prof. Dr. Leandro Rabello Monteiro (Titular).

Prof^a. Dr^a. Leila Maria Pessôa (Titular).

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Petry(Suplente).

Prof^a. Dr^a. Laura Isabel Weber da Conceição (Suplente).

**Macaé,
Março de 2014**

Araujo, Aldo Caccavo de.

Influência de fatores ambientais e genéticos na Assimetria Flutuante de populações de *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) do Estado do Rio de Janeiro / Aldo Caccavo de Araujo. — Macaé: UFRJ, Colegiado de Ensino de Pós graduação – Macaé, 2014.

xiii, 84f.: il.; 29,7 cm

Orientador: Pablo Rodrigues Gonçalves

Dissertação (mestrado) — UFRJ/ Colegiado de Ensino de Pós graduação – Macaé/ Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação, 2014.

Referências bibliográficas: f.69-80

1. Assimetria Flutuante .2. *Nectomys squamipes* 3. Fragmentação. 4. Variabilidade genética. 5. Conservação. I. Pablo Rodrigues Gonçalves. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação. III. Título.

Agradecimentos

Um importante passo na minha vida acadêmica, essa dissertação não poderia ter sido realizada sem a contribuição e participação das pessoas abaixo, as quais eu agradeço:

À minha família, em especial meu pai Nilton, minha mãe Sonia e minha irmã Janine, pelo apoio, incentivo, compreensão não só nos últimos dois anos, período do mestrado, mas ao longo de toda a minha vida.

Ao meu cunhado João Luiz, que além de família hoje é também um colega de trabalho, por todo o apoio e incentivo tanto no aspecto pessoal quanto no aspecto acadêmico.

Aos professores do PPGCIAC e da Biologia do *campus* Macaé Fabio Di Dario, Michael Mincarone, Tatiana Konno, Lísia Gestinari, Felipe Vasconcellos, José Nepomuceno, Aleksandra Menezes, dentre outros, pelo apoio ao chegar em Macaé, pelo incentivo acadêmico e pela amizade desenvolvida nesses meus dois anos e meio como integrante da “família” NUPEM.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Conservação por fornecer uma parte essencial do arcabouço teórico e das relações humanas e acadêmicas que me permitiram, além de elaborar esse trabalho, dar mais um passo para me tornar um cientista.

Aos colegas da turma PPGCIAC 2012, em especial Alana Leitão, Aline Barbosa, Bruno Cortat, Hellen Azevedo, Leonardo Cotts, Igor Santiago, Felipe Dias e Vagner Santos, por compartilharem comigo durante esses dois anos diversas experiências, incluindo a correria dos relatórios, as experiências tanto das aulas teóricas quanto práticas (incluindo as aulas filosóficas de ECC, o trabalho de Biodiversidade,

a "descoberta" da estatística, a aventura de contextualizar genômica dentro de um projeto de conservação, etc...), as várias discussões sobre temas acadêmicos (ou não), os planos para ficar ricos envolvendo chinchilas, a ida ao arquipélago e a angústia de escrever a dissertação.

À "mamífero" Bruna P. S. Di Dario que, além de partilhar as experiências do mestrado e dividir um pouquinho do trabalho dentro do Lab. de Mamíferos, me proporcionou minhas primeiras experiências como "Professor"— durante o mini curso ministrado por nós e o Hudson— e me ensinou um pouquinho mais sobre esses mamíferos metidos a peixe.

Aos colegas de laboratório Victor Ferrão, Carina Azevedo, Daniel Almada e Mariana Xavier por todo o apoio durante o tempo em que estou no laboratório, por dividirem diversas experiências comigo— sejam elas nos trabalhos de campo, no dia a dia ou nos eventos—, pela amizade, confiança e por todo o esforço para compreender o que é essa Assimetria Flutuante que eu tanto falo.

Aos "colegas- alunos" Tamara Scarpini e Matheus Atta, que além de todas as experiências divididas entre os membros do laboratório, ainda compartilharam comigo diversos momentos na taxidermia e me proporcionaram essa experiência diferente de passar um pouquinho do meu conhecimento para frente.

Ao amigo Hudson Lemos, o outro membro da dupla "Eco- Sistematas", por todo o apoio desde a época da seleção do mestrado, pela confiança durante esses dois anos — afinal, tem que confiar para fazer trabalho de grupo junto—, por todas as experiências no campo e no laboratório (incluindo as inúmeras conversas sobre mastozoologia ecologia e conservação, que abriram minha cabeça e meus horizontes) e por estar sempre presente para ajudar e contribuir, seja opinando ou revisando minha dissertação em tempo real.

Aos colegas da turma do PPGCIAC 2011, em especial Paula Catelani, Evelyn Raposo, Carolina Clezar, Carlos Cunha e as Nat(h)alias Nocchi e Machado, pela amizade e pelo incentivo durante esses dois anos dividindo comigo momentos importantes dentro e fora de sala de aula.

Às primeiras amigas que me acolheram quando cheguei em Macaé, Tamiris Oliveira, Geórgia Feltran, Roberta Freitas, Luana Oliveira, Ingrid Oliveira, Erica Sardela, Nayara Araujo, Taiane Medeiros e Andressa Mello, que fizeram a mudança de cidade e a distância fardos mais fáceis de lidar.

Aos primeiros amigos Ricardinho Seixas, pelo apoio e por todas as experiências divididas, e Matheus “Ariel” Maia, pela amizade, respeito, companheirismo que, junto com o gosto pela taxonomia e sistemática, ultrapassaram as barreiras do táxon favorito e da bancada do Lab. Integrado de Zoologia.

Aos amigos “macaenses ”que vieram depois Nayara Emerich, Milla Maia, Carol Abraão, Vitor Oliveira, Victor Hugo, Priscilla Pereira, Luma Guimarães, Beatriz e Gabriela Guimarães, Uliana Pontes, Daiani Campbell, Carolina Augusta, entre outros, por, cada um de uma forma, tornarem esses dois anos de mestrado fáceis e divertidos.

À Manoela Woitovicz, pelas conversas nas viagens Rio-Macaé-Rio, pelo apoio (tanto pessoal quanto acadêmico), pelos conselhos (idem ao apoio), por me fazer gostar mais um pouquinho dos anfíbios, por trazer um pedacinho do MN para o NUPEM e por toda a amizade que engloba todos os itens anteriores e muitos outros mais.

À Bianca Medina, que depois de dividir alguns anos de Bloco A do CCS , local onde a amizade começou, veio dividir todo esse turbilhão de emoções que é o mestrado e também as despesas de luz, água, internet e aluguel.

Ao amigo William Tavares pela amizade, carinho e por todas as conversas antes e ao longo desses dois anos que contribuíram muito para o desenvolvimento do meu lado acadêmico.

Ao Dr. José Louvise pelo apoio e por me ajudar a dar os primeiros passos na morfometria geométrica.

Ao Dr. João Alves por grande parte da minha bagagem como pesquisador, pela confiança, amizade e por permitir o acesso a coleção de Mamíferos do Museu Nacional.

Aos amigos do Rio Rachel “Gigi” Lemos, Diogo Castilho, Thiago “Lennon” Barros, Tuan Omori, (@) Carol Mattos, Scheilla Araujo, Thales “Puêra” Ornellas, Máira Rocha, Anne Monte, Felipe Soares, Bárbara Francisco, Maria Gabriella da Costa, Luisa Viegas, Talita Aquino, Juliana Kirchmeyer, Rayanne Luiz, William Scorza, Thais Freire, Desiree Cardoso, Jaqueline Oliveira, entre outros, por todo apoio via facebook e por todos os momentos ao longo desses dois anos que foram essenciais para me fazer sentir bem, o que é muito importante para desenvolver qualquer coisa na vida (incluindo trabalhos científicos).

Aos colegas de Museu Nacional Caryne Braga, Carine Prado, Gisela Sobral e Ludmilla Coutinho pela amizade e por todos os ótimos momentos, seja no CBMz, no MastoSerra, no Simpósio de Evolução de Mamíferos ou nas semanas que passei olhando o material na coleção do MN.

À Alessandra Pavan, caloura, mastozoóloga e amiga, por todos os ótimos momentos compartilhados, desde a graduação até agora, e por salvar diversas vezes minha dissertação consultando e me passando as informações sobre o material do MN que eu esqueci de anotar.

Ao professor Dr. Rodrigo Nunes pelo apoio e pelos valiosos comentários e sugestões dados no exame de qualificação.

Ao professor Dr. Leandro Monteiro pelas sugestões no exame de qualificação, por toda a ajuda via e-mail relacionada as minúcias do trabalho com morfometria geométrica e por ter aceito o convite para compor a banca de avaliação da dissertação.

À Professora Dr^a. Leila Pessôa por todo carinho, confiança e apoio desde os tempos da graduação e por ter aceito o convite para compor a banca de avaliação da dissertação.

Às professoras Dr^a. Ana Petry e Dr^a. Laura Weber pelo apoio e por aceitarem integrar como suplentes a banca de avaliação da dissertação. Além disso, agradeço especificamente à professora Laura Weber pelas contribuições e sugestões no documento de qualificação e à professora Ana Petry pelas contribuições e pela revisão da dissertação como membro da pré-Banca.

Por ultimo, ao meu orientador Pablo pela amizade, confiança, apoio e pela oportunidade e por me ensinar a cada momento um pouco mais sobre mamíferos, zoologia, evolução, ciência, pesquisa, docência (e até música) contribuindo, por um caminho novo e (um pouco) inusitado, de forma ímpar para a minha formação profissional e pessoal.

Lista de Figuras

- Figura 1:** Mapa ilustrando o grau de fragmentação da Mata Atlântica Brasileira em 2005. *Fonte:* (SOS MATA ATLÂNTICA/ INPE, 2008)3
- Figura 2:** Elementos anatômicos do crânio e mandíbula dos mamíferos ilustrados em um crânio de *Nectomys squamipes*. A. Vista dorsal do crânio. B – vista ventral do crânio. C- vista lateral da mandíbula.6
- Figura 3:** Indivíduo de *Nectomys squamipes*. Foto: Pablo R. Gonçalves.8
- Figura 4:** Indivíduo de *Marmosa paraguayana* do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ..... 10
- Figura 5:** Mapa do Estado do Rio de Janeiro com as localidades (pontos vermelhos) utilizadas no presente estudo para *Nectomys squamipes*. 1. Ilha Grande; 2. Ilha da Marambaia, 3. Glicério, 4. PNMF Atalaia; 5. TECAB; 6. PNRJ. 13
- Figura 6:** Série etária de *Nectomys squamipes* de acordo com a classificação usada neste trabalho. Da esquerda para a direita: Indivíduos da classe 0 até a classe 8. O asterisco (*) aponta a classe 3, a partir da qual os indivíduos foram incluídos no trabalho. Os crânios encontram-se em vista ventral orientados com a porção anterior voltada para cima. Escala = 10mm. 17
- Figura 7:** Esquemas de vista dorsal do crânio de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para cima. 20
- Figura 8:** Esquemas de vista ventral do crânio de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para cima. 20
- Figura 9:** Esquemas de vista lateral da mandíbula de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para a direita. 21
- Figura 10:** Exemplo de superposição Procrustes para análise de assimetria com a mandíbula de um roedor. Primeiramente, uma das configurações originais é espelhada de forma a ambas apresentarem a mesma orientação (a). Depois, ambas são redimensionadas a partir do tamanho do centroide (b) e tem seus centroides sobrepostos(c). Por último, as configurações são rotacionadas (d) de modo que os marcos anatômicos correspondentes apresentem o melhor encaixe. 27

Figura 11: Assimetria Flutuante para uma configuração de simetria de objeto com 8 marcos anatômicos. (a) A configuração original (cinza escuro) é copiada e espelhada (cinza claro), e em seguida os marcos da configuração espelhada são renomeados para que possam ser pareados com a configuração original (b). Depois as configurações são submetidas á sobreposição de Procrustes (c) e por fim é obtido um consenso entre configuração original e sua imagem espelhada (d, linha pontilhada) que é perfeitamente simétrico. Os desvios de assimetria são obtidos em comparações das configurações originais com este consenso simétrico.	28
Figura 12: Distância modificada para estudos de Assimetria Flutuante e outros desvios da forma. (A) Distribuição original, não isotrópica, dos desvios da forma em torno da média. Os casos individuais estão ilustrados como setas numeradas. (B) Após sofrer a transformação, a variação em torno da média é isotrópica e a distribuição foi transformada de elíptica pra circular. Após a transformação, as direções e comprimentos dos desvios foram alterados, entretanto cada um manteve a mesma magnitude relativa. (C) Como a variação em torno da média é isotrópica depois da transformação, as magnitudes dos desvios podem ser comparadas diretamente entre diferenças na forma com direções distintas (círculos cinza), transformando a distância da média em uma medida relativa da diferença na forma. Adaptado de KLINGENBERG & MONTEIRO (2005).	31
Figura 13: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista dorsal do crânio para as seis amostras de <i>Nectomys squamipes</i> . O ponto indica a mediana da amostra, enquanto a barra de erro mostra o máximo e o mínimo sem valores muito extremos (“outliers”).	38
Figura 14: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista ventral do crânio para as seis amostras de <i>Nectomys squamipes</i> . O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro o intervalo de 95% de confiança.	39
Figura 15: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da mandíbula para as seis amostras de <i>Nectomys squamipes</i> . O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro o intervalo de 95% de confiança. Letras diferentes indicam amostras com diferença significativa no teste <i>Unequal N HSD</i>	40
Figura 16: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma da vista dorsal do crânio de <i>N. squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações.	41
Figura 17: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma do vista ventral do crânio de <i>N. squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações.	42

Figura 18: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma da mandíbula de <i>N. squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações.....	42
Figura 19: Relação entre a o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da vista dorsal do crânio de <i>N squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações.	43
Figura 20: Relação entre o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da vista ventral do crânio de <i>N squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações	44
Figura 21: Relação entre o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da mandíbula de <i>N squamipes</i> . Em preto: os pontos representam as médias das populações	44
Figura 22: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista dorsal do crânio para as amostras de <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i> coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a mediana da amostra, enquanto a barra de erro mostra a distribuição sem valores extremos (“outliers”). Letras diferentes indicam amostras significativamente diferentes no teste de comparações múltiplas.	46
Figura 23: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista ventral do crânio para as amostras de <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i> coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro mostra o intervalo de 95% de confiança ao redor da média.	47
Figura 24: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da lateral da mandíbula para as amostras de <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i> coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro mostra o intervalo de 95% de confiança ao redor da média.	48

Lista de Tabelas

- Tabela 1:** Descrição dos marcos anatômicos das vistas dorsal e ventral do crânio e lateral da mandíbula usados para *Nectomys squamipes* 22
- Tabela 2:** Descrição dos marcos anatômicos das vistas dorsal e ventral do crânio e lateral da mandíbula usados para *Marmosa paraguayana*..... 23
- Tabela 3:** Número de indivíduos de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* de cada amostra utilizado nas análises de acordo com as vistas do crânio/mandíbula. 24
- Tabela 4:** Procrustes ANOVA para as vista dorsal e ventral do crânio e da vista lateral da mandíbula da amostra total de *Nectomys squamipes*. QM=Quadrados médios; g.l.= graus de liberdade; % Var= porcentagem da Variância. 35
- Tabela 5:** Procrustes ANOVA para as vista dorsal e ventral do crânio e da vista lateral da mandíbula da amostra total de *Marmosa paraguayana*. QM=Quadrados médios; g.l.= graus de liberdade; % Var= porcentagem da Variância. 36
- Tabela 6:** Teste Tukey para amostras desiguais (Unequal N HSD) entre as amostras geográficas utilizadas na ANOVA comparando os Índices de Assimetria Flutuante para a forma da mandíbula de *Nectomys squamipes*. Valores de *P* significativos destacados em negrito. 40
- Tabela 7:** Teste de comparações múltiplas entre as dos Índices de Assimetria Flutuante para a forma da vista dorsal do crânio de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*. Valores de *P* significativos destacados em negrito. 46
- Tabela 8:** Teste de Tukey para amostras desiguais (Unequal N HSD) entre os Índices de Assimetria Flutuante para a forma da mandíbula de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*. Valores de *P* significativos destacados em negrito. 48

Resumo

Influência de fatores ambientais e genéticos na Assimetria Flutuante de populações de *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) do Estado do Rio de Janeiro.

Aldo Caccavo de Araujo

Orientador: Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves

Resumo da Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessário à obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Pequenas populações sofrem perda de variabilidade genética, comprometendo sua adaptabilidade às mudanças ambientais e sua persistência a longo-prazo. Informações sobre viabilidade populacional são escassas em relação a diversas espécies, incluindo as de pequenos mamíferos. Uma forma de medir os efeitos de reduções populacionais significativas consiste em quantificar os desvios de simetria na morfologia dos indivíduos (assimetria flutuante, AF). O crânio e mandíbula de ratos d'água *Nectomys squamipes* coletados em seis fragmentos de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro foram analisados usando morfometria geométrica para avaliar os efeitos da redução de variabilidade genética e da fragmentação de habitat nos níveis de AF. Ainda, os padrões de assimetria de *N. squamipes* e do marsupial *Marmosa paraguayana* foram comparados para testar a influência das diferenças bionômicas entre as espécies no acúmulo de AF. Os padrões de AF em *N. squamipes* apresentaram uma correlação negativa com o tamanho do fragmento florestal, entretanto não foram encontradas relações entre as quantias de AF e a variabilidade genética. Os padrões distintos de AF observados entre *N. squamipes* e de *M. paraguayana* mostram que a bionomia da espécie pode influenciar o nível de AF e deve ser considerada no planejamento de monitoramentos. No geral, estudos de Assimetria Flutuante são uma interessante ferramenta para o monitoramento de estresse relacionado a restrição e fragmentação de habitat para espécies de pequenos mamíferos neotropicais.

Palavras-chave: Assimetria Flutuante; *Nectomys squamipes*; Fragmentação; Diversidade genética; Conservação.

Abstract

Influence of environmental and genetic factors in Fluctuating Asymmetry in populations of *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) from Rio de Janeiro state.

Aldo Caccavo de Araujo

Advisor: Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves

Abstract of Dissertation submitted to the Graduate program in Environmental Sciences and Conservation, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, as part of the requirements for obtaining a Master's degree Environmental Sciences and Conservation.

Small populations suffer loss of genetic variability, compromising its adaptability to environmental changes and its long-term persistence. Data about population viability of several species, including small mammals, are rare. One way to measure the effects of significant populational reductions is to quantify the symmetry deviations in the morphology of individuals (fluctuating asymmetry, FA). Skulls and mandibles of water rats *Nectomys squamipes* from six distinct Atlantic Forest fragments were subjected to geometric morphometrics in order to evaluate the effects of genetic diversity and habitat fragmentation on FA levels. Also, the asymmetry patterns of *N. squamipes* and the marsupial *Marmosa paraguayana* were compared to test whether bionomic differences could account for differences in FA levels between the species. The FA patterns in *N. squamipes* exhibited negative correlations with fragment size, although no relationship was found between the FA quantities and genetic diversity. The differences observed between the FA patterns of *N. squamipes* and *M. paraguayana* showed that the ecological differences between the species may affect the FA levels and should be considered when planning monitoring activities. In general, assessments of fluctuating asymmetry constitute an interesting tool to monitor stress related to fragmentation and habitat loss in neotropical small mammals.

Key-words: Fluctuating Asymmetry; *Nectomys squamipes*; Fragmentation; Genetic diversity; Conservation.

Macaé/ Março de 2014

Sumário

Agradecimentos.....	v
Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas.....	xiii
Resumo.....	xiv
Abstract	xv
Sumário	xvi
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	11
3. Material e métodos	12
3.1. Amostras	12
3.2. Variação intrapopulacional: sexo e idade.....	15
3.3. Morfometria Geométrica.....	16
3.4. Tratamento e análise dos dados.....	24
4. Resultados.....	34
4.1. Assimetria Flutuante em <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i>	34
4.2. Níveis de Assimetria Flutuante em diferentes amostras de <i>Nectomys squamipes</i>	37
4.3. Assimetria Flutuante e Diversidade Genética em <i>Nectomys squamipes</i>	41
4.4. Assimetria Flutuante de <i>Nectomys squamipes</i> e o tamanho do fragmento florestal ...	43
4.5. Comparação entre <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i>	45
5. Discussão.....	49
5.1. Detecção e caracterização dos níveis de Assimetria Flutuante em populações de <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i>	49
5.2. Correlações entre assimetria flutuante, heterozigosidade média e tamanho do fragmento.....	55
5.3. Comparação entre <i>Nectomys squamipes</i> e <i>Marmosa paraguayana</i>	60
5.4. Assimetria Flutuante e Conservação.....	65
6. Conclusões Gerais	67
7. Referências Bibliográficas.....	68
Apêndice	78

1. Introdução

Impactos ambientais como a perda de habitat, super exploração, exposição a poluição e introdução de espécies exóticas, contribuem para a redução, fragmentação e isolamento de populações naturais. Em populações pequenas, o número reduzido de indivíduos diminui a chance de que parte da população apresente alelos ou combinações de alelos que forneçam as características necessárias para a sobrevivência em diferentes condições. Deste modo, a baixa variabilidade genética torna populações menos adaptáveis às variações ambientais. Quando isoladas de outras populações, as populações pequenas não são capazes de recuperar a variação genética perdida rapidamente, se tornando homogêneas e ficando mais vulneráveis às modificações ambientais mais drásticas — como presença de poluição, aparecimento de doenças, alterações climáticas —, o que pode resultar na extinção local de uma espécie. Em casos como o de espécies restritas a poucas populações isoladas, a redução e a supressão de fluxo gênico pode desencadear o processo de extinção da espécie como um todo (FRANKHAM *et al.*, 2008).

A diminuição de uma população pode ser resultado de processos que exercem efeito direto sobre os indivíduos e também de processos que afetam indiretamente o número de indivíduos e a migração entre populações. Um exemplo do primeiro é a caça exploratória, responsável pela quase extinção da espécie de elefantes marinhos *Mirounga angustirostris* (Gill, 1866) no século XIX, dada a redução de todas as populações dessa espécie a um pequeno grupo de 10 a 30 indivíduos (HOELZEL *et al.*, 2002). Dentre os efeitos indiretos, estão a redução ou perda de habitat, que determina o número máximo de indivíduos de uma mesma espécie que podem viver em um dado local (capacidade suporte) e o número de imigrantes reprodutivos oriundos de outras populações vizinhas (fluxo gênico).

A fragmentação de habitat terrestres é um processo de divisão na distribuição espacial de um conjunto de recursos e condições, compreendendo um ou mais tipos de vegetação, que afetam a ocupação, reprodução e sobrevivência de uma determinada espécie (FRANKLIN *et al.*, 2002). Numa perspectiva geral, a fragmentação pode ser resultado de processos naturais, como alterações geomorfológicas, mudanças no curso de um rio, modificações de relevo e oscilações do nível do mar, mas também podem ser resultado da atividade humana, decorrentes da necessidade de espaço para diversas atividades como plantações, pastos e aumento da área das cidades (PRIMACK & RODRIGUES, 2001).

Um exemplo notável das modificações ambientais derivadas da ação humana pode ser observado na Mata Atlântica, que abrangia originalmente 150 milhões de hectares ao longo de toda a região costeira do Brasil e hoje conta apenas com cerca de 16% da sua cobertura original (Figura 1). Ainda, 80% dos fragmentos restantes têm menos de 50 hectares e a distância média entre fragmentos é grande, cerca de 1440 m (RIBEIRO *et al.*, 2009). Como resultado do pequeno tamanho dos fragmentos e descontinuidade do habitat ocorre a redução do potencial de dispersão e colonização, além da redução de capacidade de alimentação de diversas espécies animais, condições que ameaçam sua sobrevivência. Dentre estas espécies incluem-se as espécies de mamíferos, cujos requerimentos para manutenção de populações viáveis não seriam contemplados em fragmentos muito reduzidos (CHIARELLO, 2000).

A impossibilidade de dispersão os indivíduos entre os fragmentos resulta na perda de fluxo gênico e no aumento da endogamia nas populações, o que leva a redução da variabilidade genética e conseqüentemente a redução do valor adaptativo dos indivíduos, chamada depressão endogâmica (FRANKHAM *et al.*, 2008). A redução da variabilidade genética pode afetar negativamente o desenvolvimento dos indivíduos da

população, dada a tendência de homozigotos em apresentar desenvolvimento menos estável que os heterozigotos devido às diferentes capacidades de canalização dos genótipos (LANDE, 1980). A canalização consiste na habilidade de amortecimento ou atenuação de influências ambientais nos processos do desenvolvimento, restringindo a variabilidade de fenótipos e direcionando o desenvolvimento para um fenótipo ótimo, mais comum nas populações naturais (WADDINGTON, 1942). Uma menor capacidade de canalização do desenvolvimento aumenta a sensibilidade do sistema de desenvolvimento a pequenas perturbações nos processos celulares, chamadas de ruídos do desenvolvimento, resultando em desvios no desenvolvimento de um organismo independente do genótipo ou ambiente (KLINGENBERG, 2003).

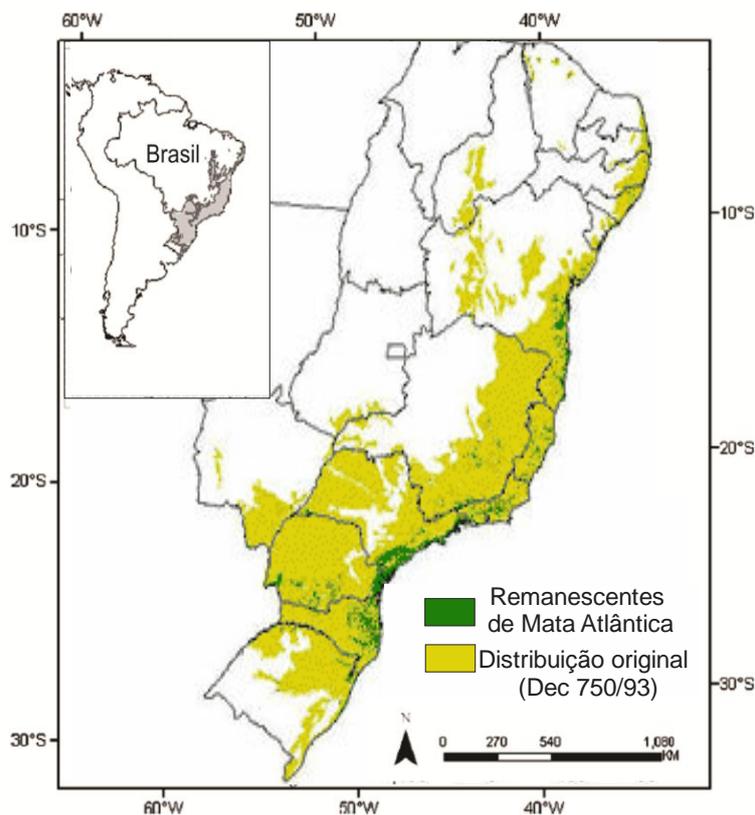


Figura 1: Mapa ilustrando o grau de fragmentação da Mata Atlântica Brasileira em 2005. Fonte: (SOS MATA ATLÂNTICA/ INPE, 2008)

A tendência de pequenas perturbações produzirem modificações de um dado fenótipo, desviando-o do fenótipo ótimo esperado, é interpretada como a Instabilidade no Desenvolvimento de um organismo (KLINGENBERG & NIJHOUT, 1999; PALMER, 1996).

Em organismos bilaterais, a Instabilidade no Desenvolvimento resulta em fenótipos que apresentam desvios na forma e/ou tamanho entre os lados do corpo, ou seja, assimetria. São conhecidos três tipos biológicos de assimetria: Assimetria Direcional, Antissimetria e Assimetria Flutuante, que podem ser diferenciados a partir da distribuição dos desvios entre os lados esquerdo e direito dos indivíduos de uma população. Na Assimetria Direcional, o valor médio da distribuição de simetria é significativamente diferente de zero e desviado sistematicamente para apenas um dos lados, enquanto que na Antissimetria o valor médio é centrado em zero, mas a distribuição das assimetrias é achatada ou bimodal, ou seja, os indivíduos simétricos são mais raros que os indivíduos que apresentam desvios para ambos os lados. Estes tipos de assimetria são controlados pelos processos de desenvolvimento e podem ter relação com o valor adaptativo (*i.e.* sobrevivência e sucesso reprodutivo) dos indivíduos. Por outro lado, a Assimetria Flutuante não apresenta caráter adaptativo e se caracteriza por pequenos desvios da simetria bilateral perfeita, com distribuição normal e média igual a zero (PALMER, 1994; TOMKINS & KOTIAHO, 2001).

Por apresentarem seu programa de desenvolvimento baseado em um mesmo genótipo básico, seria esperado que os dois lados de um organismo bilateral se desenvolvessem igualmente, como imagens espelhadas, em um ambiente homogêneo, já que a influência externa nos processos de desenvolvimento do organismo seria igual em ambos os lados. Entretanto, a presença de desvios aleatórios está relacionada à incapacidade do organismo de atenuar a influência de pressões ambientais na trajetória

ontogenética de estruturas bilaterais, o que faz com que a Assimetria Flutuante possa ser usada como uma estimativa de Instabilidade no Desenvolvimento (PALMER, 1994).

Dentre os fatores que podem alterar a Instabilidade no Desenvolvimento de um organismo está a presença de estresse. Segundo ESCÓS *et al.* (2000), estresse é qualquer fator ambiental que causa redução no uso eficiente de energia, prejudicando os mecanismos de regulação (homeostase) do desenvolvimento e, a longo prazo, a redução do valor adaptativo total de um organismo. Assim, a exposição a tais fatores pode aumentar a Instabilidade no Desenvolvimento ao dissipar parte da energia empregada pelo organismo nos sistemas de regulação do desenvolvimento, alterando padrões de expressão gênica e o fluxo de energia em vias metabólicas (GRAHAM *et al.*, 2010). Diversos estudos têm documentado uma relação positiva entre os níveis de assimetria e os níveis de estresse de populações de diversos organismos (*e.g.* ANCIÃES & MARINI, 2000; HOELZEL *et al.*, 2002; LEAMY *et al.*, 1999; MCKENZIE & CLARKE, 1988; PANKAKOSKI, 1985; PARSONS, 1991; SARRE, 1996; SCHMELLER *et al.*, 2011), sugerindo o uso dos níveis de Assimetria Flutuante como indicadores da presença de estresse, seja ambiental, antropogênico e/ou genético (GRAHAM *et al.*, 2010; OLEKSYK *et al.*, 2004).

Em mamíferos, diversos estudos sobre alterações de simetria têm por foco estruturas encontradas no crânio, mandíbula e dentição (*e.g.* HOELZEL *et al.*, 2002; HUTCHISON & CHEVERUD, 1995; MARCHAND *et al.*, 2003; MIKULA *et al.*, 2010; PATTERSON & PATTON, 1990; TEIXEIRA *et al.*, 2006). O crânio dos mamíferos é dividido em três porções, o dermatocrânio, o neurocrânio e o esplancocrânio. Os ossos do dermatocrânio distribuem-se na superfície externa da caixa craniana, sendo eles os nasais, frontais e parietais que distribuem-se em ambos os lados da linha media dorsal, os esquamosais, que contribuem para a articulação com a mandíbula e, junto com o os

ossos jugais, formam o arco zigomático e os lacrimais, que se localizam na porção anteromedial das orbitas (Figura 2a, b) (FELDHAMER *et al.*, 2007). Os ossos do neurocrânio compõem a porção interna do crânio e dentre eles estão os ossos occipitais que formam o forâmen magnum, os ossos esfenóides que contribuem tanto para o assoalho do crânio quanto na formação da parede das orbitas e os elementos etmoides que cercam internamente a área nasal (figura 2b) (FELDHAMER *et al.*, 2007). O esplanocrânio é composto pelos osso alisfenóides, que formam a parede posterior das orbitas, o vômer, os palatinos e os pterigóides, que formam o palato primário, e pelos maxilares e pré-maxilares, ossos nos quais estão inseridos os dentes e que contribuem ventralmente para a formação do palato secundário (Figura 2b). Ainda, na porção ventral, estão presentes três ossículos do ouvido médio que são recobertos pela bula timpânica (FELDHAMER *et al.*, 2007). A mandíbula é composta por apenas um par de ossos nos quais se inserem os dentes, os dentários, articulados anteriormente pela sínfise mandibular (Figura 2c) (FELDHAMER *et al.*, 2007).

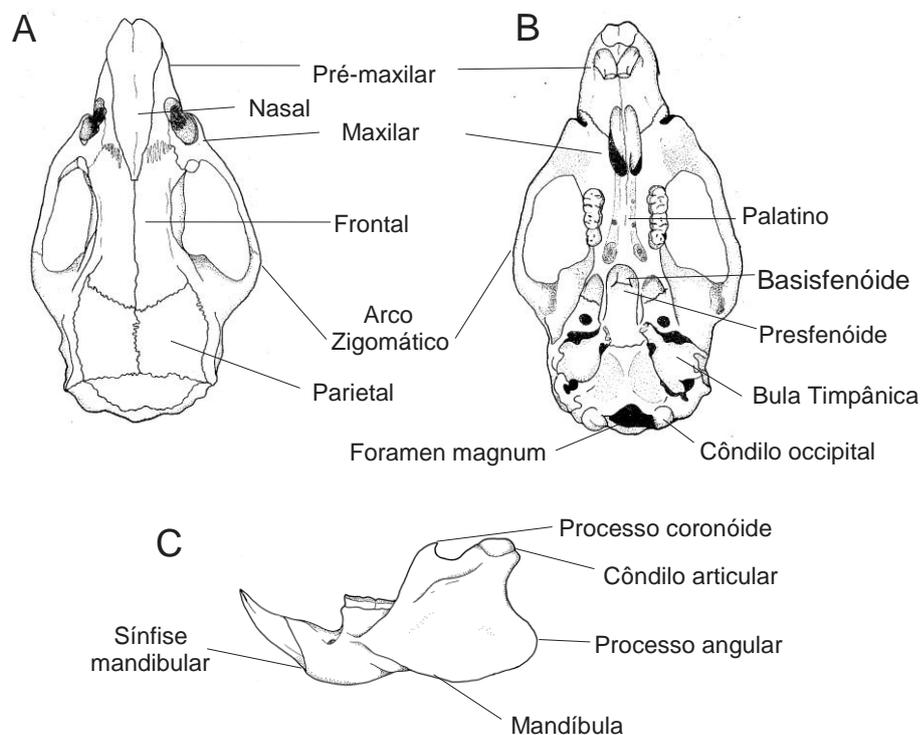


Figura 2: Elementos anatômicos do crânio e mandíbula dos mamíferos ilustrados em um crânio de *Nectomys squamipes*. A. Vista dorsal do crânio. B – vista ventral do crânio. C- vista lateral da mandíbula.

As análises de assimetria são geralmente focadas nessas estruturas anatômicas por estas serem complexas e apresentarem simetria bilateral, além de concentrarem as funções alimentares e sensoriais, sendo importantes para a sobrevivência do organismo.

Poucos são os trabalhos avaliando as repercussões do estresse relacionado à fragmentação de habitat por causas antrópicas ou naturais nos níveis de assimetria do crânio e mandíbula em populações de mamíferos silvestres na região Neotropical, incluindo estudos em remanescentes de Mata Atlântica. Ainda, pouco se sabe da participação de fatores genéticos, como a perda de variabilidade genética, como componente do que é considerado estresse por fragmentação de habitat, ou se as distinções ecológicas (e.g. locomoção, alimentação, história de vida) podem contribuir para diferentes padrões de Assimetria Flutuante em espécies co-ocorrentes em fragmentos florestais.

Para explorar tais lacunas sobre a relação entre fragmentação de habitat, variabilidade genética e Assimetria Flutuante de pequenos mamíferos neotropicais, foi escolhido como objeto de estudo o roedor *Nectomys squamipes* (Brants, 1827) (Figura 3), uma espécie amplamente distribuída em remanescentes de Mata Atlântica.

Diferente dos outros roedores sigmodontinos, por seu tamanho relativamente grande (comprimento do corpo entre 162 e 254 mm e comprimento da cauda entre 165 e 250 mm) e por apresentar as patas traseiras com membranas interdigitais, *N. squamipes* apresenta-se adaptado à vida semi-aquática (HERSHKOVITZ, 1944). Apresenta pelagem longa, com coloração dorsal marrom iridescente, enquanto seu ventre é mais pálido, com os pelos acinzentados na base, porém com uma coloração em seu ápice entre esbranquiçada ou acinzentada e ocre. Sua cauda, com comprimento equivalente a pelo menos 75% do comprimento do corpo, apresenta coloração uniforme. Suas patas

traseiras são grandes, robustas e adaptadas para a natação, apresentando além das membranas interdigitais, uma franja de pelos natatórios (ERNEST, 1986).

A distribuição geográfica de *Nectomys squamipes* abrange desde a costa norte da América do Sul até o sul do Brasil e a província de Misiones, na Argentina, e desde porção oeste da cordilheira dos Andes até a costa atlântica do Brasil (HERSHKOVITZ, 1944). Sua ocorrência está fortemente relacionada com a presença de corpos d'água e solos úmidos (ERNEST & MARES, 1986), habitando áreas alagadas e /ou próximas a riachos, córregos ou brejos (ALHO, 1982), sendo considerada uma espécie especialista em termos de uso do habitat (BONVICINO *et al.*, 2002). Diferente de *Chironectes minimus* (Zimmermann, 1780), outra espécie de mamífero semi-aquática habitante de florestas densas com rios amplos, *N. squamipes* está relacionada a corpos d'água de tamanho reduzido em áreas com cobertura vegetal menos densa (GALLIEZ & FERNANDEZ, 2012).



Figura 3: Indivíduo de *Nectomys squamipes*. Foto: Pablo R. Gonçalves.

Em geral, *N. squamipes* apresenta baixa capacidade de dispersão em paisagens fragmentadas. Em seu estudo em uma área fragmentada permeada por uma matriz composta por plantações de café, eucalipto e pasto, PASSAMANI & FERNANDEZ

(2011a, 2011b) registraram a espécie em apenas um dos fragmentos estudados, sem ocorrência de movimento entre os fragmentos. Ainda, PASSAMANI & RIBEIRO (2009) não observaram nenhum registro da presença de *N. squamipes* na matriz composta por plantação de café, em seu estudo sobre o uso da matriz pela comunidade de pequenos mamíferos em fragmento florestal no município de Santa Teresa, ES, Brasil. Entretanto, uma matriz mais permeável pode viabilizar o deslocamento desta espécie entre fragmentos florestais, por uma distância de cerca de 520 m (PIRES *et al.*, 2002).

A forte relação com seu habitat preferencial faz com que *N. squamipes* seja mais vulnerável à extinção decorrente da redução ou fragmentação de remanescentes florestais que outras espécies de pequenos mamíferos como, por exemplo, *Didelphis aurita* Wied-Newied, 1826, e *Marmosa paraguayana* (Tate, 1931) (Didelphimorphia: Didelphinae), que são capazes de se deslocar entre fragmentos por diferentes tipos de matrizes (PASSAMANI & RIBEIRO, 2009; PIRES & FERNANDEZ, 1999; PIRES *et al.*, 2002; VIVEIROS DE CASTRO & FERNANDEZ, 2004).

Assim, este estudo pretende *avaliar quais são os efeitos da redução e fragmentação de habitat nos níveis de Assimetria Flutuante do crânio e mandíbula de Nectomys squamipes, testando as relações da redução de hábitat e do decréscimo de diversidade genética com os níveis de Assimetria Flutuante em populações de pequenos mamíferos silvestres. Os níveis de assimetria são estimados em populações de Nectomys squamipes de fragmentos de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro com diferentes tamanhos, apresentando também diferentes heterozigosidades, estimadas em estudos de microssatélites com a espécie.* Considerando os estudos prévios sobre Assimetria Flutuante e sobre a ecologia de *N. squamipes*, espera-se que *tanto o tamanho*

do remanescente florestal como a heterozigidade apresenta correlações negativas com os níveis de assimetria craniana e mandibular em populações desta espécie.

Visando também testar a influência de diferenças ecológicas no acúmulo de assimetria flutuante, foram realizadas comparações dos níveis de assimetria entre populações de *N. squamipes* e *M. paraguayana*, um marsupial florestal amplamente distribuído no leste brasileiro e com grande capacidade de permanência em fragmentos de diferentes tamanhos no Mata Atlântica. Essa espécie de marsupial (Figura 4) apresenta hábitos arborícolas e exibe alta capacidade de deslocamento, maior em relação a *N. squamipes*, e capacidade de atravessar diferentes tipos de matrizes (PASSAMANI & FERNANDEZ, 2011a; PASSAMANI & RIBEIRO, 2009; PIRES *et al.*, 2002), sendo capaz de formar uma metapopulação entre fragmentos florestais isolados por pastagens. Tal característica sugere que esta espécie seria menos sensível aos impactos antrópicos do que *N. squamipes*, sendo capaz de manter populações viáveis e geneticamente conectadas mesmo em paisagens fragmentadas.



Figura 4: Indivíduo de *Marmosa paraguayana* do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ.

Nestas comparações, espera-se que espécies com maior sensibilidade aos efeitos da fragmentação apresentem maiores níveis de Assimetria Flutuante em suas populações, do que espécies menos sensíveis a estes efeitos. Assim *se os padrões de Assimetria Flutuante de fato refletem efeitos da fragmentação florestal, obter-se-iam níveis de Assimetria Flutuante distintos para as duas espécies, com N. squamipes se apresentando mais assimétrica do que M. paraguayana.*

As informações fornecidas neste estudo serão importantes para compreender os efeitos da fragmentação e redução de ecossistemas naturais na variabilidade morfológica e viabilidade de populações silvestres, além de auxiliar na avaliação desta abordagem para compreender perturbações em diferentes espécies e habitats ameaçados inseridos em biomas neotropicais.

2. Objetivos

- Quantificar os padrões de Assimetria Flutuante de populações de *Nectomys squamipes* e de *Marmosa paraguayana* do Estado do Rio de Janeiro a partir da forma do crânio e mandíbula.
- Testar se há diferenças entre os padrões de Assimetria Flutuante das diferentes amostras de *N. squamipes* do Estado do Rio de Janeiro.
- Avaliar as relações entre a Assimetria Flutuante das amostras de *Nectomys squamipes* e dois fatores importantes para a conservação de populações naturais:
 - A heterozigosidade média da população; e
 - o tamanho do fragmento.
- Testar se os padrões de Assimetria Flutuante de *N. squamipes* e *M. paraguayana* refletem as diferenças bionômicas entre as duas espécies e suas relações com a fragmentação florestal.

3. Material e métodos

3.1. Amostras

As amostras de *Nectomys squamipes* utilizadas neste trabalho são oriundas de coletas realizadas anteriormente em seis diferentes fragmentos de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro (Figura 5). Dentre as amostras, duas foram obtidas na região centro sul do estado, em Ilha Grande, município de Angra dos Reis, e Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba. As demais amostras foram obtidas no Norte Fluminense, sendo as amostras de Glicério, do Terminal Cabiúnas (TECAB) e do Parque Natural Municipal Fazenda Atalaia (PNMFA), localizadas no município de Macaé, e a amostra do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PNRJ), localizada no município de Carapebus.

Considerada a maior ilha do Estado do Rio de Janeiro, Ilha Grande (23° 10' 33,5" S; 44° 12' 27,8" O) está localizada na baía de mesmo nome, no município de Angra dos Reis. Possui cerca de 17200 hectares cobertos majoritariamente por Floresta Ombrófila Densa, e encontra-se separada do continente por um canal com cerca de dois quilômetros de largura (ESBÉRARD *et al.*, 2009)

Localizada na Baía de Sepetiba, no sul do estado, a Ilha da Marambaia (23° 4' 34,03" S; 43° 58 '30,04" O), como é conhecida a porção oeste da restinga da Marambaia, possui cerca de 7700 hectares de área cobertos por diferentes formações vegetacionais, como matas de encosta e áreas de restinga. Apesar de ser denominada uma ilha, encontra-se conectada ao continente por uma estreita faixa de areia com cerca de 40 km de extensão próximo a região do município de Mangaratiba (CARVALHO *et al.*, 2007).

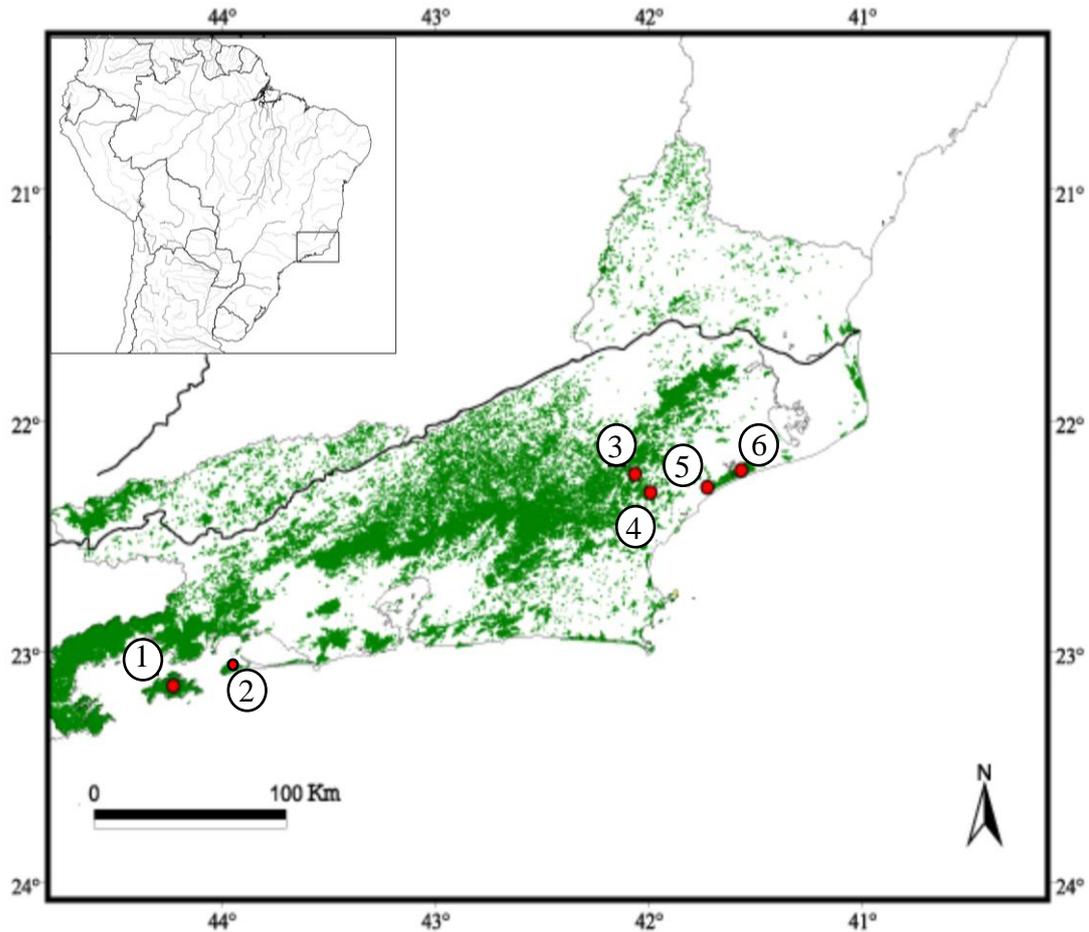


Figura 5: Mapa do Estado do Rio de Janeiro com as localidades (pontos vermelhos) utilizadas no presente estudo para *Nectomys squamipes*. 1. Ilha Grande; 2. Ilha da Marambaia, 3. Glicério, 4. PNMF Atalaia; 5. TECAB; 6. PNRJ.

Um dos seis distritos do município de Macaé, Glicério ($22^{\circ}14'4,51''S$; $42^{\circ}3'59,38''O$) localiza-se na parte oeste, próximo aos limites com o município de Conceição de Macabu. Nesta região encontram-se diversos fragmentos de Floresta Ombrófila Densa Montana e Sub-Montana de grande importância para conservação no Estado do Rio de Janeiro (ALVES *et al.*, 2009).

Sob influência direta das atividades de expansão do Terminal Cabiúnas (TECAB, $22^{\circ}17'28,51''S$; $41^{\circ}43'40,94''O$) no município de Macaé, encontram-se dois pequenos e próximos fragmentos florestais, dos quais o maior apresenta cerca de 100 hectares.

Estes fragmentos florestais em formação secundária estão circundados por uma área de pastagens, e estão adjacentes a rodovias e empreendimentos industriais do TECAB.

O Parque Natural Municipal Fazenda Atalaia (PNMFA, 22° 18' 54,32" S; 41° 59' 37,48" O) localiza-se no município de Macaé e possui cerca de 11 km de perímetro. O PNMFA está inserido em um fragmento florestal de maior porte, que apresenta cerca de 2000 hectares e abrange os distritos de Córrego do Ouro, Cachoeiros de Macaé e Frade.

Criado em 1998, o Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PNRJ, 22° 15' 46,42" S; 41° 39' 22,81" O) abrange os municípios de Macaé, Quissamã e Carapebus no norte do Estado do Rio de Janeiro. O PNRJ possui cerca de 14650 hectares, protegendo o equivalente a 62% da Restinga de Jurubatiba, que é o maior fragmento remanescente das restingas do Norte Fluminense.

As amostras de *N. squamipes* analisadas neste estudo compreendem 11 indivíduos de Ilha Grande, sete da Ilha da Marambaia, 24 de Glicério, 10 do TECAB, 13 do PNMFA e 15 do PNRJ.

Os indivíduos coletados em Ilha Grande, Ilha da Marambaia e Glicério encontram-se depositados na Coleção de Mamíferos do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MN), enquanto os exemplares coletados no TECAB, PNMFA e PNRJ encontram-se depositados na Coleção de Mamíferos do Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Socioambiental de Macaé da Universidade Federal do Rio de Janeiro (NUPEM/UFRJ).

Os padrões de Assimetria Flutuante nas populações de *Nectomys squamipes* distribuídas no Norte Fluminense foram comparados com padrões de assimetria em populações co-ocorrentes do marsupial *Marmosa paraguayana*. Foram utilizados 11 indivíduos coletados no PNRJ e sete indivíduos coletados no TECAB. Este material

encontra-se depositado na Coleção de Mamíferos do NUPEM/UFRJ. A lista completa de espécimes analisados encontra-se no Apêndice.

3.2. Variação intrapopulacional: sexo e idade

Cada um dos indivíduos teve sua classe etária estimada com base em erupção dentária e desgaste dos molares. A classificação de *Nectomys squamipes* teve suas classes estipuladas especialmente para o intervalo de variação apresentado pelos indivíduos das amostras utilizadas no presente trabalho. Com base nos indivíduos observados foram reconhecidas nove classes etárias, da classe 0 até a classe 8 (Figura 6). Em estudos envolvendo comparações entre populações de roedores (*e.g.* BRANDT & PESSÔA, 1994; CAMARDELLA *et al.*, 1998), bem como em estudos sobre o efeito de fatores ecológicos nas populações (*e.g.* BERGALLO & MAGNUSSON, 2004) são considerados apenas indivíduos de uma mesma faixa etária para diminuir o ruído que seria causado pela variação encontrada durante o desenvolvimento ontogenético dos indivíduos. Deste modo, para minimizar possíveis efeitos ontogenéticos nos padrões de Assimetria Flutuante das amostras, foram incluídos neste estudo apenas indivíduos a partir da classe 3, considerados indivíduos adultos.

Outra fonte de “ruído” em estudos de variação morfológica é o dimorfismo sexual, diferença morfológica encontrada entre indivíduos machos e fêmeas da mesma espécie. Estudos de variação intrapopulacional (*e.g.* BRANDT & PESSÔA, 1994; CAMARDELLA *et al.*, 1998; VOSS, 1988) apontam que membros da tribo Oryzomyini, na qual se inclui o gênero *Nectomys*, não apresentam diferenças significativas entre machos e fêmeas. Ainda, estudos sobre variação morfológica incluindo o gênero *Nectomys* (*e.g.* COUTINHO *et al.*, 2013; STEIN, 1988) utilizaram indivíduos de ambos os sexos indiscriminadamente para suas análises. Assim, machos e fêmeas não foram tratados como amostras diferentes nesse estudo.

Para as amostras de *Marmosa paraguayana* o critério de determinação etária usado foi o padrão de erupção dos dentes molares, proposto para estudos com marsupiais vivos (MACEDO & LORETTO, 2006). Neste trabalho foram analisados apenas os indivíduos adultos, ou seja, indivíduos que apresentaram todos os molares eclodidos e funcionais.

Em seu trabalho sobre dimorfismo sexual em marsupiais do novo mundo, ASTÚA (2010) mostrou que *Marmosa paraguayana*, assim como a maioria das espécies de *Marmosa* que estavam alocadas anteriormente no gênero *Micoureus*, não exhibe dimorfismo sexual em relação ao tamanho ou forma do crânio e mandíbula. Sendo assim, as amostras de *M. paraguayana* utilizadas nesse estudo foram compostas tanto por machos quanto fêmeas.

3.3. Morfometria Geométrica

Estudos de assimetria podem seguir diversas metodologias, dentre elas a utilização de caracteres merísticos (e.g. PANKAKOSKI, 1985; SARRE & DEARN, 1991) e utilização de dados morfométricos (e.g. ANCIÃES & MARINI, 2000; HOELZEL *et al.*, 2002; MARCHAND *et al.*, 2003; WHITE & SEARLE, 2008). Estudos de assimetria com caracteres morfométricos podem ter dois modos distintos de abordagem dos dados: a morfometria linear—considerada a abordagem tradicional—, baseada em distâncias lineares entre algumas estruturas estabelecidas; ou a morfometria geométrica, que aborda as variações na forma da estrutura a partir de configurações de marcos anatômicos selecionados de modo a retratar da melhor maneira o formato da estrutura estudada.

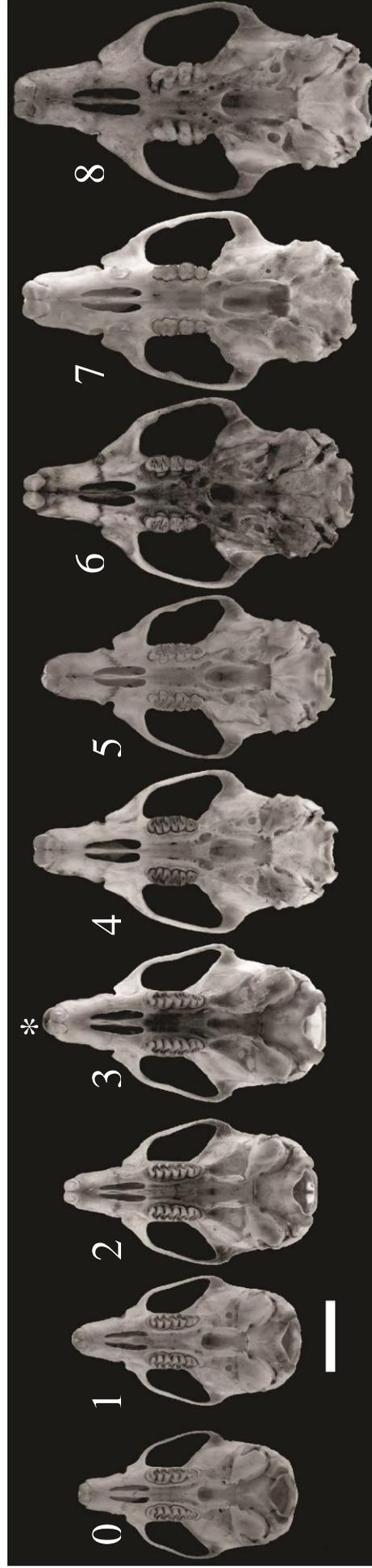


Figura 6: Série etária de *Nectomys squamipes* de acordo com a classificação usada neste trabalho. Da esquerda para a direita: Indivíduos da classe 0 até a classe 8. O asterisco (*) aponta a classe 3, a partir da qual os indivíduos foram incluídos no trabalho. Os crânios encontram-se em vista ventral orientados com a porção anterior voltada para cima. Escala = 10mm.

MARCHAND *et al.* (2003), em seu estudo sobre efeito da fragmentação na Assimetria Flutuante de *Myodes* (= *Clethrionomys*) *glareolus* (Schreber, 1780) (Rodentia: Arvicolinae), comparou a abordagem tradicional com a abordagem utilizando morfometria geométrica, apontando que, para o uso da abordagem tradicional, fazem-se necessários vários índices e testes para os tratamentos estatísticos que investigam padrões de assimetria. Já a abordagem com morfometria geométrica necessita de um menor número de procedimentos estatísticos para obter a mesma informação, simplificando os procedimentos.

Tendo em vista essa simplicidade em relação ao tratamento estatístico, este trabalho utiliza a morfometria geométrica. Essa metodologia envolve a digitalização das estruturas anatômicas, a partir das quais são construídas as configurações de marcos anatômicos usadas para obter as informações sobre a assimetria.

Digitalização das estruturas anatômicas

A digitalização dos crânios e mandíbulas foi feita a partir de fotografias digitais. Tais fotografias foram obtidas utilizando uma câmera fotográfica Panasonic Lumix modelo DMC-FZ47. As fotos foram obtidas com a câmera posicionada imóvel com auxílio de um tripé e com o crânio ou mandíbula posicionado de modo que a vista a ser fotografada estivesse paralela à lente da câmera. Para essas fotos não houve utilização de zoom e os espécimes foram centralizados para evitar distorções da imagem causadas pelas bordas da lente da câmera.

Para cada espécime foram fotografadas as vistas dorsal e ventral do crânio e as vistas laterais da mandíbula. Cada espécime foi fotografado juntamente com uma etiqueta para identificação e uma régua para estabelecimento da escala.

Marcos anatômicos

A partir das fotografias, as configurações de marcos anatômicos foram obtidas utilizando o software **TPSDIG2** (ROHLF, 2006). Marcos anatômicos são pontos distintos de estruturas do organismo que podem ser localizados recorrentemente e geralmente são escolhidos entre porções facilmente distintas do contorno das formas ou no encontro de duas ou mais suturas, no caso da vista dorsal do crânio por exemplo. Foram estabelecidas configurações para as duas vistas do crânio e para a vista lateral da mandíbula.

O crânio e mandíbula de roedores como *Nectomys squamipes* apresentam morfologia bem distinta do crânio e mandíbula dos marsupiais, como *Marmosa paraguayana*. Tal fato faz com que as estruturas topográficas de fácil reconhecimento, melhores candidatas para serem usadas como marcos anatômicos, não sejam exatamente as mesmas estruturas morfológicas para ambas as espécies. Portanto, cada configuração de marcos anatômicos foi formulada a partir de estruturas facilmente reconhecíveis nos crânios e mandíbulas de cada uma das espécies independente das estruturas serem homólogas entre espécies. Entretanto, para manter a comparabilidade entre as configurações de marcos anatômicos, as configurações foram geradas com o mesmo número de variáveis (*i.e.* marcos anatômicos).

As configurações para a vista dorsal contam com 18 marcos anatômicos, sendo cinco os marcos ímpares centrais, número 1 ao 4, e sete marcos pares marcados em ambos os lados do crânio (Figura 7). As configurações para a vista ventral contam com 20 marcos anatômicos, sendo quatro marcos ímpares e oito marcos pares (Figura 8).

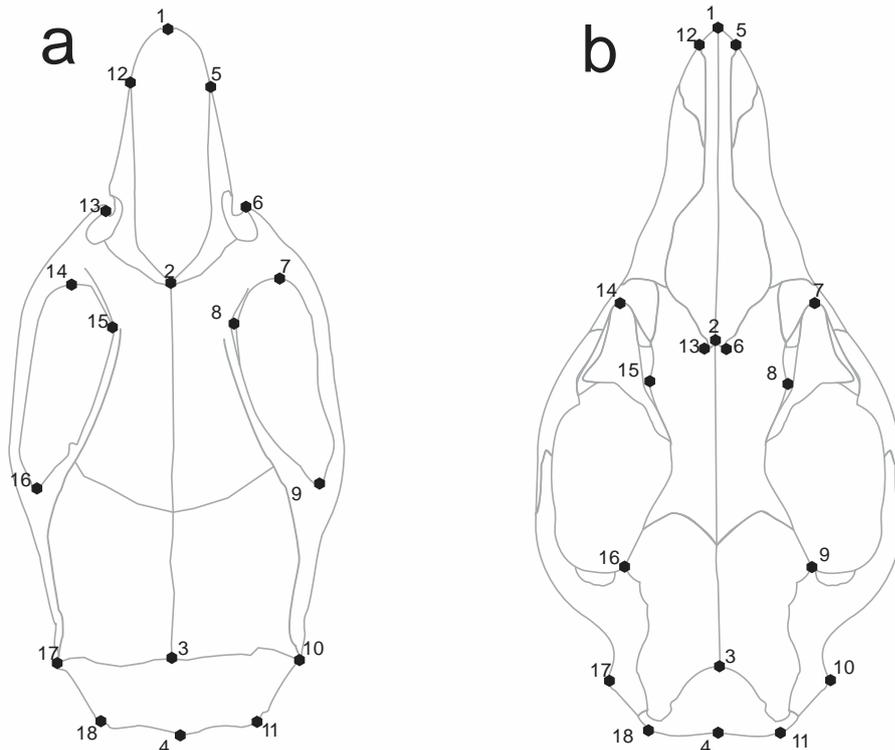


Figura 7: Esquemas de vista dorsal do crânio de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para cima.

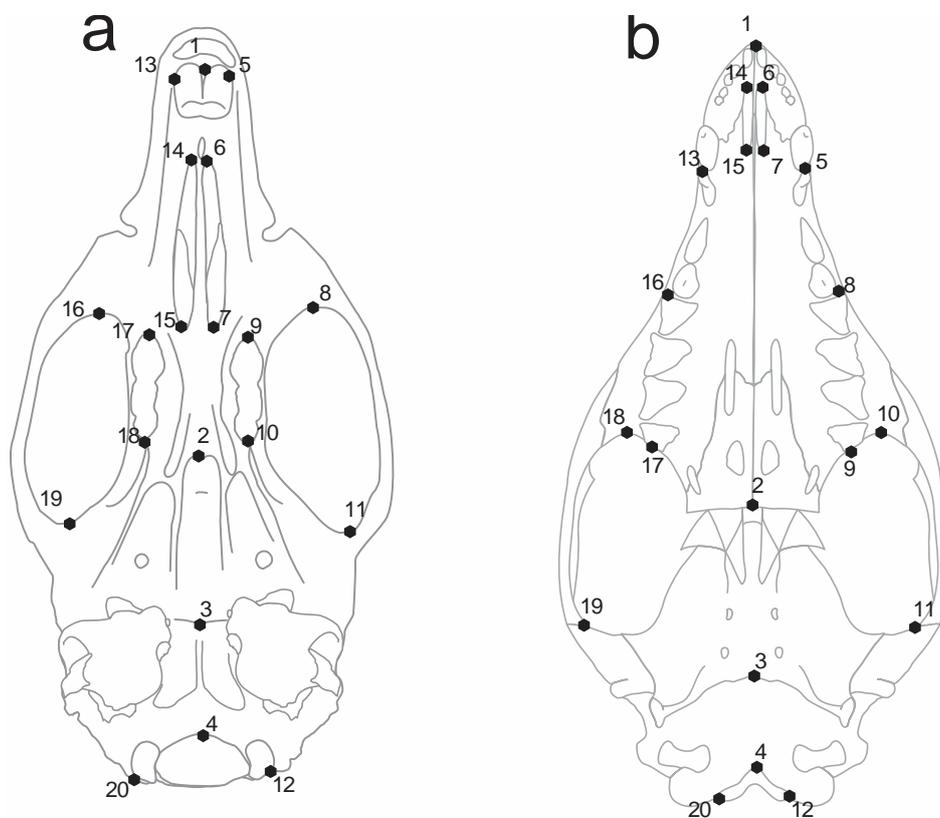


Figura 8: Esquemas de vista ventral do crânio de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para cima.

As configurações para vista lateral da mandíbula contam com dez marcos anatômicos (Figura 9). Os nomes dos marcos anatômicos utilizados para a análise das amostras de *Nectomys squamipes* encontram-se descritos na Tabela 1 enquanto os nomes dos marcos anatômicos utilizados para *Marmosa paraguayana* encontram-se na Tabela 2

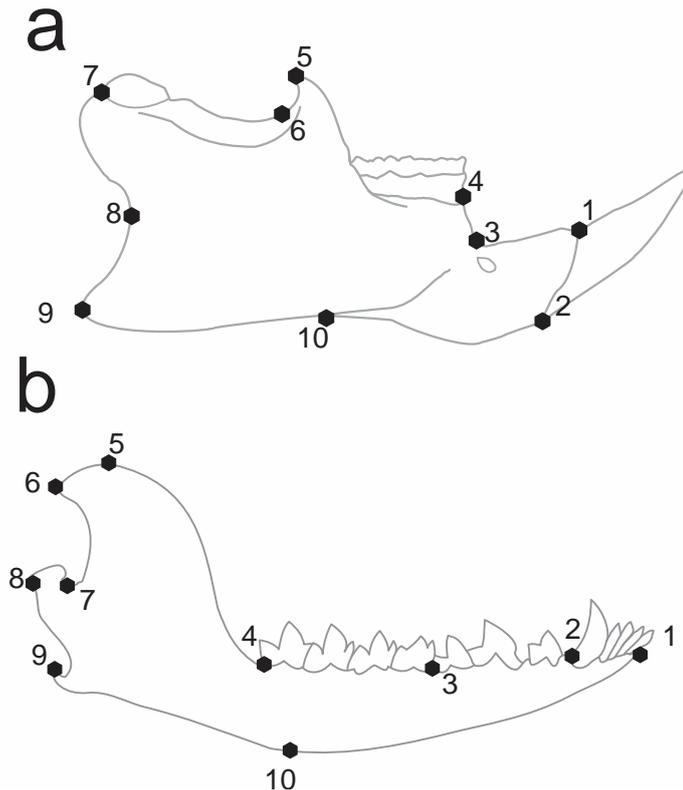


Figura 9: Esquemas de vista lateral da mandíbula de um roedor (a) e de um marsupial (b) com as configurações de marcos anatômicos utilizados para *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*, respectivamente. Os esquemas encontram-se com a porção anterior voltada para a direita.

Alguns espécimes não puderam ser utilizados para análises das três vistas do crânio/mandíbula, por apresentarem algumas estruturas escolhidas como marcos anatômicos quebradas ou de difícil observação. O número de espécimes utilizados para cada vista do crânio/mandíbula para cada uma das localidades, tanto de *N. squamipes* quanto para *M. paraguayana* estão na Tabela 3.

Tabela 1: Descrição dos marcos anatômicos das vistas dorsal e ventral do crânio e lateral da mandíbula usados para *Nectomys squamipes*.

Crânio - vista dorsal

Plano sagital

- | | |
|---|---|
| 1. Extremidade anterior dos nasais. | 6 e 13. Projeção anterior do zigoma.
7 e 14. Ponto interno à fossa orbital mais anterior do arco zigomático. |
| 2. Sutura nasal- frontal. | |
| 3. Ponto médio da sutura parietal- interparietal. | 8 e 15. Ponto medial da contração interorbital.
9 e 16. Ponto interno à fossa orbital mais posterior do arco zigomático. |
| 4. Ponto mais distal do supraoccipital. | 10 e 17. Ponto mais externo da sutura supraoccipital.
11 e 18. Ponto posterior das protuberâncias laterais do occipital. |

Esquerda e direita

- 5 e 12. Ponto mais proximal da sutura entre nasal e pré-maxilar.

Crânio - vista ventral

Plano sagital

- | | |
|--|---|
| 1. Extremidade anterior da pré-maxila no processo gnático. | 6 e 14. Margem proximal do forâmem incisivo.
7 e 15. Margem distal do forâmem incisivo.
8 e 16. Ponto interno mais proximal do arco zigomático. |
| 2. Porção posterior do palatino. | |
| 3. Ponto médio da sutura esfeno-occipital. | 9 e 17. Margem proximal da série molar. |
| 4. Ponto médio anterior do forâmem magnum. | 10 e 18. Margem distal da série molar.
11 e 19. Ponto mais distal do arco zigomático.
12 e 20. Margem externa posterior do côndilo occipital. |

Esquerda e direita

- 5 e 13. Ponto externo anterior da inserção dos incisivos.

Mandíbula- vista lateral

- | | |
|---|--|
| 1. Margem anterior do alvéolo incisivo. | 6. Ponto mais fundo do entalhe sigmoide. |
| 2. Margem posterior do alvéolo incisivo. | 7. Ponto mais distal do côndilo articular. |
| 3. Ponto do diastema próximo ao forâmem mental. | 8. Ponto mais fundo do entalhe entre o côndilo articular e o processo angular. |
| 4. Ponto anterior da raiz do primeiro molar. | 9. Extremidade do processo angular. |
| 5. Ápice do processo coronóide. | 10. Base do processo angular. |
-

Tabela 2: Descrição dos marcos anatômicos das vistas dorsal e ventral do crânio e lateral da mandíbula usados para *Marmosa paraguayana*.

Crânio - vista dorsal

Plano sagital

- | | |
|--|--|
| 1. Ponta dos nasais. | 6 e 13. Projeção dorsal posterior do pré-maxilar. |
| 2. Sutura nasal- frontal. | 7 e 14. Ponto interno à fossa orbital mais anterior do arco zigomático. |
| 3. Ponto médio da sutura parietal-interparietal. | 8 e 15. Processo anterorbital. |
| 4. Ponto mais distal do supraoccipital. | 9 e 16. Ponto interno à fossa orbital mais posterior do arco zigomático. |

Esquerda e direita

- | | |
|--|--|
| 5 e 12. Ponto mais proximal da sutura nasal-pré-maxilar. | 10 e 17. Ponto mais externo da sutura supraoccipital. |
| | 11 e 18. Parte posterior das protuberâncias laterais do occipital. |

Crânio - vista ventral

Plano sagital

- | | |
|--|--|
| 1. Extremidade anterior da pré-maxila no processo gnático. | 6 e 14. Margem anterior do forâmeme incisivo. |
| 2. Porção posterior do palatino. | 7 e 15. Margem posterior do forâmeme incisivo. |
| 3. Ponto médio da sutura esfeno-occipital. | 8 e 16. Ponto externo mais proximal do terceiro pré-molar. |
| 4. Ponto médio anterior do forâmeme magnum. | 9 e 17. Ponto mais proximal do quarto molar. |

Esquerda e direita

- | | |
|--|---|
| 5 e 13. Ponto externo posterior dos caninos. | 10 e 18. Margem distal da série molar. |
| | 11 e 19. Ponto mais distal do arco zigomático. |
| | 12 e 20. Margem externa posterior do côndilo occipital. |

Mandíbula- vista lateral

- | | |
|---|---|
| 1. Margem anterior do alvéolo do primeiro incisivo. | 6. Ponto mais posterior do processo coronóide. |
| 2. Margem posterior do alvéolo do canino. | 7. Base posterior do processo coronóide. |
| 3. Margem posterior do alvéolo do terceiro pré molar. | 8. Ponto mais distal do côndilo articular. |
| 4. Margem posterior do alvéolo quarto molar. | 9. Ponto externo do processo angular. |
| 5. Ápice do processo coronóide. | 10. Ponto mais extremo da curvatura ventral da mandíbula. |
-

Tabela 3: Número de indivíduos de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* de cada amostra utilizado nas análises de acordo com as vistas do crânio / mandíbula.

Espécie	Origem da Amostra	Crânio Dorsal	Crânio Ventral	Lateral da Mandíbula
<i>N. squamipes</i>				
	Glicério, Macaé, RJ.	22	21	20
	I. Grande, Angra dos Reis, RJ.	10	10	11
	I. da Marambaia. Mangaratiba, RJ	07	05	07
	PNMFA, Macaé, RJ.	11	10	08
	PNRJ, Carapebus, RJ.	14	10	12
	TECAB, Macaé, RJ.	10	07	09
	Total	74	63	67
<i>M. paraguayana</i>				
	PNRJ, Carapebus, RJ.	10	11	10
	TECAB, Macaé, RJ.	07	07	06
	Total	17	18	16

3.4. Tratamento e análise dos dados

Para cada indivíduo foram obtidas duas configurações para cada vista do crânio, para permitir acesso ao erro de precisão na digitalização dos marcos anatômicos. Para cada vista, as configurações de marcos de todos os indivíduos foram sobrepostas utilizando o método de Procrustes (KLINGENBERG & MCINTYRE, 1998)

O método de sobreposição Procrustes consiste em remover os efeitos da variação entre o tamanho, a posição e a orientação das configurações de marcos anatômicos para que as formas possam, então, ser comparadas (Figura 10). Primeiro, as configurações de marcos anatômicos são reunidas e reescaladas para um mesmo tamanho padrão. Esse tamanho padrão é obtido a partir do tamanho do centróide, que é calculado como a raiz quadrada da soma do quadrado das distâncias de cada marco anatômico até o centro de

gravidade da configuração. Em seguida, as configurações são alinhadas de forma que seus centros de gravidade se encontrem na origem do sistema de coordenadas, procedimento que exclui o efeito da posição das configurações de marcos anatômicos nas diferenças entre as estruturas. Por último, as configurações são rotacionadas a partir do centro de gravidade para uma posição em que a soma dos quadrados dos desvios entre marcos anatômicos correspondentes seja mínima (KLINGENBERG, 2010).

Após serem submetidas ao método de Procrustes, as configurações estão prontas para o processamento estatístico. A comparação da forma em estudos de morfometria geométrica é dada pela comparação do posicionamento de cada marco anatômico em relação ao seu homólogo em outro indivíduo ou no outro lado do crânio do mesmo indivíduo (homologia iterativa).

Teste para Assimetria Flutuante

Em organismos, a simetria bilateral pode se apresentar de duas maneiras: A simetria de correspondência e a simetria de objeto. Simetria de correspondência ocorre quando a estrutura de interesse se encontra duplicada no organismo, com cada cópia apresentando-se como imagem espelhada da outra, sem que o plano de simetria passe pelo objeto, *e.g.* ramos mandibulares direito e esquerdo de roedores. Por outro lado, simetria de objeto ocorre quando a estrutura de interesse é uma estrutura única no organismo, que cortada por uma linha média, ou plano interno de simetria, apresenta suas metades como imagens espelhadas umas das outras, *e.g.* crânios (GRAHAM *et al.*, 2010; KLINGENBERG *et al.*, 2002).

Para estudos de Assimetria Flutuante na forma dos organismos utilizando configurações de marcos anatômicos, os desvios de simetria são obtidos a partir de modificações do método de sobreposição Procrustes. Em objetos com simetria de correspondência, como as mandíbulas, as configurações de marcos anatômicos de um

lado do corpo são espelhadas para que os marcos anatômicos correspondentes em ambos os lados possam ser alinhados (Figura 10a). Em seguida, ambas as estruturas são redimensionadas a partir de seus tamanhos de centróide (Figura 10b). As configurações esquerda e direita são sobrepostas para que ambas apresentem o mesmo valor de centróide, sendo o ponto médio entre as coordenadas x e y de cada configuração geralmente modificado para as coordenadas $[0,0]$ (Figura 10c). Por fim, assim como no método Procrustes padrão, as configurações são rotacionadas até atingirem o melhor ajuste entre os marcos anatômicos correspondentes (Figura 10d). A assimetria pode então ser quantificada como os desvios entre pares de marcos anatômicos correspondentes (KLINGENBERG & MCINTYRE, 1998).

Para estudos usando estruturas com simetria de objeto, como crânios, a modificação do método Procrustes divide a variação da forma em dois componentes, um simétrico e o outro assimétrico, a partir da sobreposição entre a estrutura e sua imagem espelhada. Primeiro é feita uma cópia da configuração de marcos anatômicos da estrutura. Essa cópia é refletida, procedimento que pode ser feito invertendo o sinal das coordenadas no eixo x de todos os marcos anatômicos (Figura 11a). Em seguida, os marcos da cópia refletida são renomeados para que possam ser pareados com os marcos da configuração original (Figura 11b). São então realizadas as outras etapas do método de Procrustes (Figura 11c). Ao final é obtido o consenso entre a configuração original e sua imagem invertida, que consiste em uma configuração perfeitamente simétrica (Figura 11d).

A variação desse consenso simétrico entre os indivíduos de uma amostra é o componente simétrico da variação de forma. A assimetria é quantificada a partir do cálculo dos desvios entre a configuração original e o consenso simétrico (KLINGENBERG *et al.*, 2002).

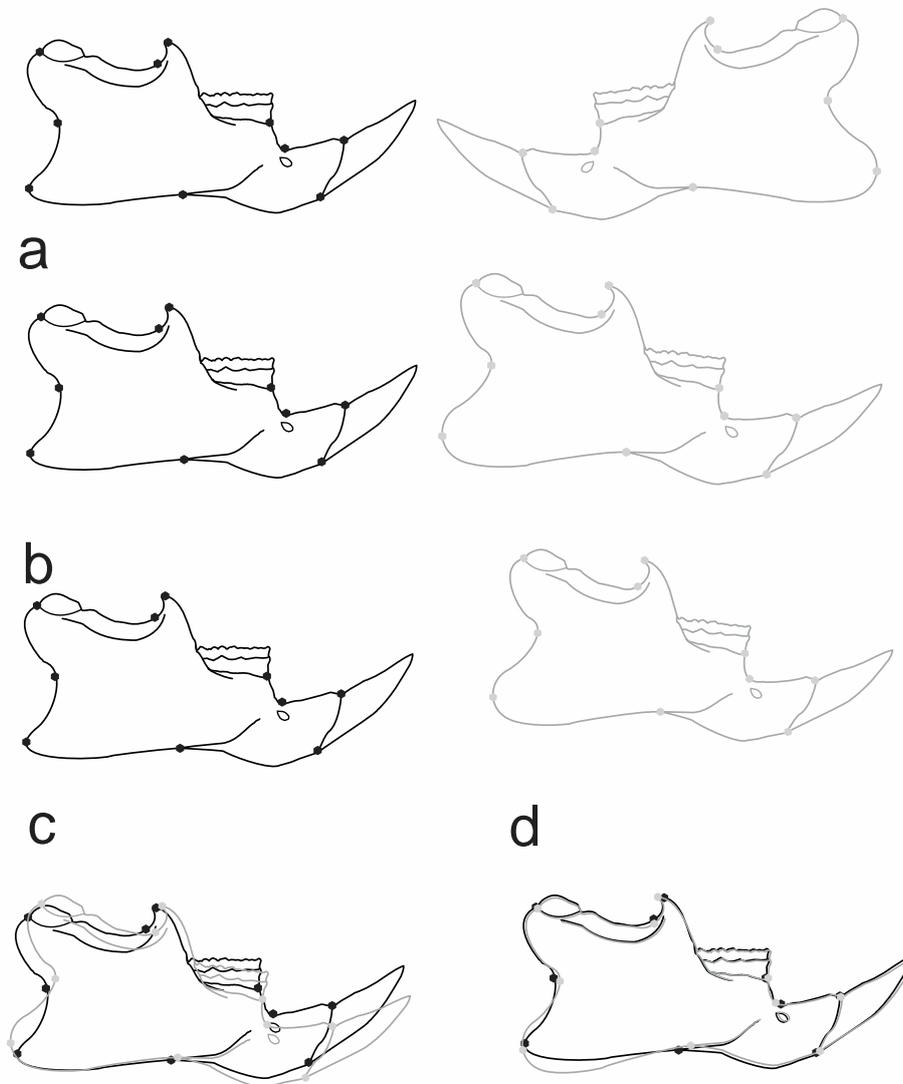


Figura 10: Exemplo de superposição Procrustes para análise de assimetria com a mandíbula de um roedor. Primeiramente, uma das configurações originais é espelhada de forma a ambas apresentarem a mesma orientação (a). Depois, ambas são redimensionadas a partir do tamanho do centroide (b) e tem seus centroides sobrepostos(c). Por último, as configurações são rotacionadas (d) de modo que os marcos anatômicos correspondentes apresentem o melhor encaixe.

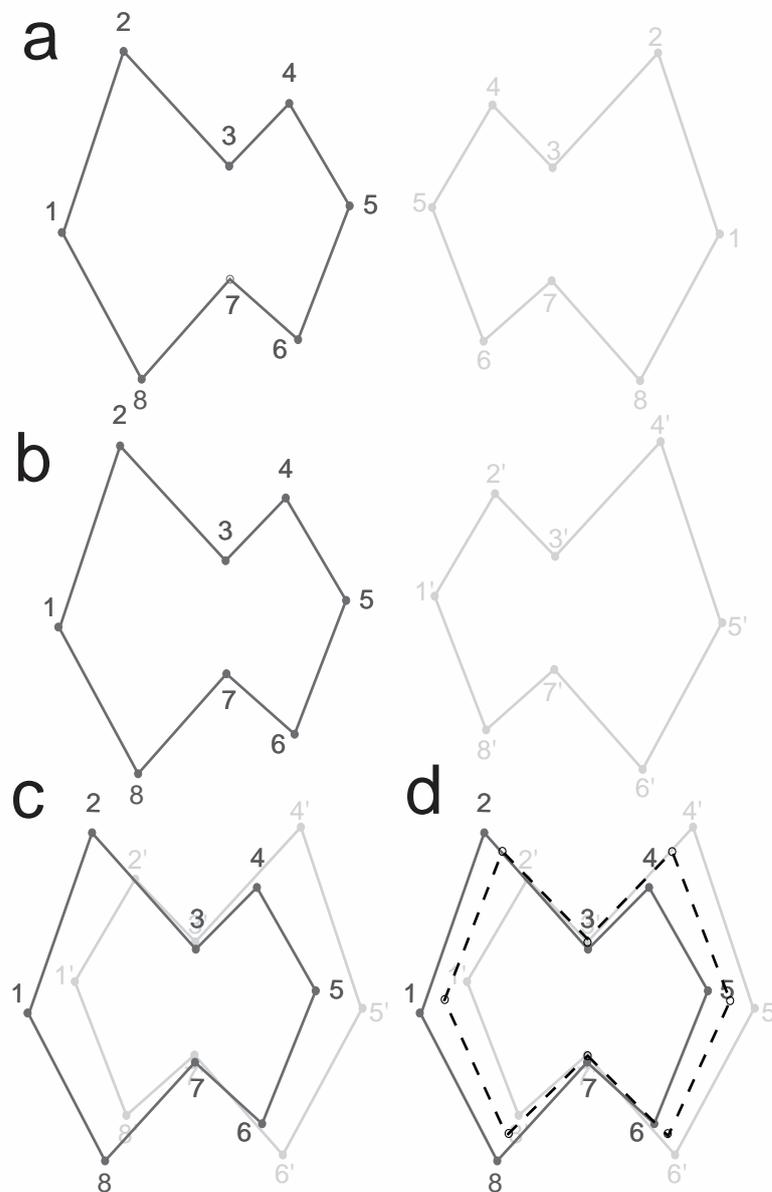


Figura 11: Assimetria Flutuante para uma configuração de simetria de objeto com 8 marcos anatômicos. (a) A configuração original (cinza escuro) é copiada e espelhada (cinza claro), e em seguida os marcos da configuração espelhada são renomeados para que possam ser pareados com a configuração original (b). Depois as configurações são submetidas á sobreposição de Procrustes (c) e por fim é obtido um consenso entre configuração original e sua imagem espelhada (d, linha pontilhada) que é perfeitamente simétrico. Os desvios de assimetria são obtidos em comparações das configurações originais com este consenso simétrico.

A magnitude da variação entre as formas atribuída à Assimetria Flutuante pode ser obtida a partir de uma Análise de Variância — **ANOVA bifatorial de modelo misto** (*two way, mixed-model ANOVA*). Tal análise quantifica cinco componentes de variação: (1) indivíduos, efeito de grupo, que consiste em uma amostra aleatória de indivíduos de uma população; (2) lados ou reflexões, efeito fixo ou variável resposta que apresenta dois níveis: (3) esquerda e direita; a interação “indivíduo x lado do crânio”, que é um efeito misto; (4) o “resíduo” e (5) o “erro” (GRAHAM *et al.*, 2010; KLINGENBERG *et al.*, 2002).

Nessa análise, a variável “indivíduo”, mostra a variação entre todos os indivíduos da amostra. A variável “lado” ou “reflexão” mostra a variação atribuída à diferença sistemática de um lado em relação ao outro na amostra toda, ou seja, a existência ou não de Assimetria Direcional .

A interação entre ambas as variáveis (“indivíduo x lado”) representa a variação entre os indivíduos para as diferenças entre um lado e outro do crânio de um dado indivíduo, sendo considerada uma medida de assimetria flutuante. Por último, o resíduo quantifica toda a variação que não está relacionada a nenhum dos três fatores anteriores, e o erro representa variações decorrentes de erros de posicionamento ou digitalização dos exemplares.

Índice de Assimetria Flutuante

A variação em conjuntos de dados biológicos, geralmente, não se apresenta igual em todas as direções, caracterizando uma variação não isotrópica. Entretanto, a variação isotrópica facilita as análises estatísticas da variação da forma, pois quando a variação dos dados se distribui igualmente em torno da média, a diferença geral no

posicionamento dos marcos depende exclusivamente da configuração média. A abordagem tradicional da morfometria geométrica, usada para identificar padrões de forma, não permite transformações matemáticas da variação original devido à necessidade de se preservar a correspondência entre os índices ou escores e a configuração original de marcos anatômicos para a visualização gráfica das alterações na forma.

KLINGENBERG & MONTEIRO (2005) desenvolveram uma modificação nos cálculos usados para análises dos desvios de forma que transformam a variação não isotrópica em isotrópica, permitindo o cálculo de um índice expressando a magnitude dos desvios aleatórios dos marcos anatômicos de cada lado em relação à posição média destes marcos para cada indivíduo (Figura 12).

O cálculo do índice de Assimetria Flutuante baseia-se nas diferenças entre as configurações esquerda e direita, ou as reflexões no caso de simetria de objeto, para todas variáveis. Tais diferenças são calculadas e ajustadas em relação à Assimetria Direcional. Em seguida, é feita uma regressão das diferenças de forma em relação às diferenças de tamanho do centróide e, no caso da regressão ser significativa, as variáveis são ajustadas a partir dos resíduos da regressão. A partir da matriz de covariância desses resíduos é feita uma análise de componentes principais e os escores padronizados dos componentes são calculados para todos os componentes que apresentem autovalores diferentes de zero. Os escores padronizados são calculados dividindo cada escore pela raiz quadrada de seu respectivo autovalor. O índice de Assimetria Flutuante é dado a partir da raiz quadrada da soma dos quadrados de cada um dos escores padronizados (LEAMY *et al.*, 2005).

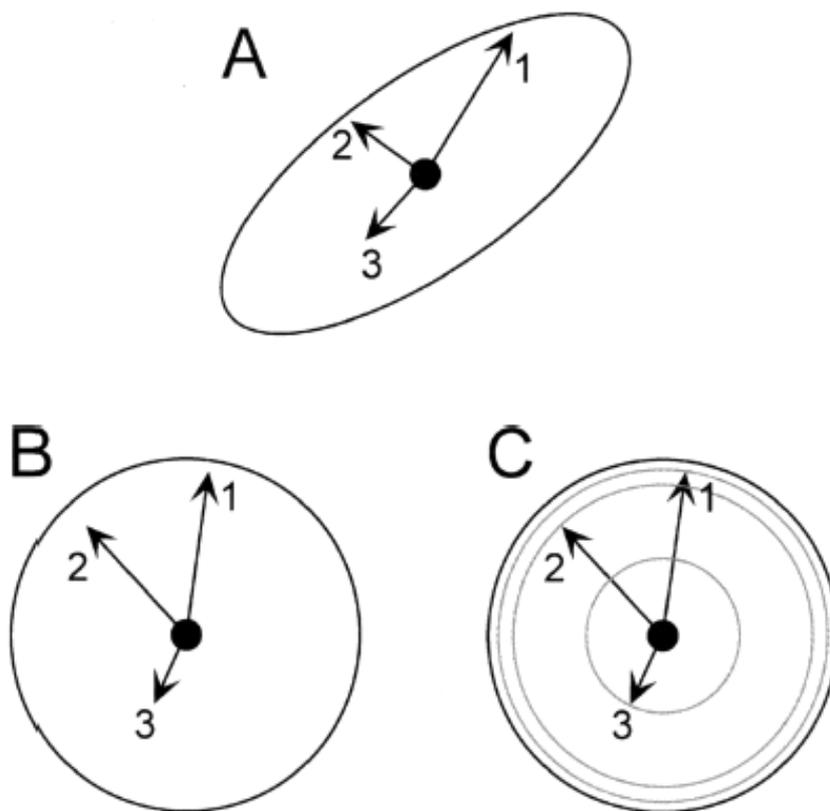


Figura 12. Distância modificada para estudos de Assimetria Flutuante e outros desvios da forma. (A) Distribuição original, não isotrópica, dos desvios da forma em torno da média. Os casos individuais estão ilustrados como setas numeradas. (B) Após sofrer a transformação, a variação em torno da média é isotrópica e a distribuição foi transformada de elíptica pra circular. Após a transformação, as direções e comprimentos dos desvios foram alterados, entretanto cada um manteve a mesma magnitude relativa. (C) Como a variação em torno da média é isotrópica depois da transformação, as magnitudes dos desvios podem ser comparadas diretamente entre diferenças na forma com direções distintas (círculos cinza), transformando a distância da média em uma medida relativa da diferença na forma. Adaptado de KLINGENBERG & MONTEIRO (2005).

Esse índice é uma medida escalar de Assimetria Flutuante individual, o que permite que as análises sejam feitas a partir de estatística univariada. Deste modo, os índices individuais foram utilizados para as comparações dos níveis de Assimetria Flutuante entre as populações. Todo o tratamento dos dados de morfometria geométrica, incluindo as Procrustes ANOVA e o cálculo dos índices de assimetria flutuante, foram executados no software **MORPHO J** (KLINGENBERG, 2008).

Comparação entre amostras

Para testar o efeito do fragmento sobre a Assimetria Flutuante de *Nectomys squamipes*, foram feitas comparações entre os conjuntos dos Índices de Assimetria Flutuante obtidos para os indivíduos de cada uma das amostras geográficas. No total, foram feitas três comparações entre os Índices de Assimetria Flutuante, uma para cada conjunto de índices calculados a partir das diferentes configurações de marcos anatômicos geradas para as diferentes vistas do crânio e mandíbula.

Sempre que os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram alcançados, os conjuntos de Índices de Assimetria Flutuante foram comparados utilizando Análises de Variância unifatoriais (one way ANOVA). Quando tais pressupostos não foram atingidos, testes não paramétricos correspondentes (Kruskal-Wallis ANOVA) foram usados.

Correlação com Heterozigosidade média e com tamanho do fragmento

Populações de *N. squamipes* foram alvo de um estudo de estrutura genética utilizando microssatélites (ALMEIDA *et al.*, 2005), no qual foi demonstrado que a variabilidade genética em populações de ilhas, equivale à metade da variabilidade encontrada em populações continentais. Dentre as amostras estudadas se encontram as amostras insulares de Ilha Grande e Ilha da Marambaia e a amostra continental de Glicério, também utilizadas no presente trabalho. A partir dos dados sobre heterozigosidade obtidos por ALMEIDA *et al.* (2005), foi possível explorar a relação entre essa medida de variabilidade genética e a Assimetria Flutuante em populações de *N. squamipes* utilizando as amostras desses três fragmentos.

Além da relação com a heterozigosidade, a relação entre Assimetria Flutuante e o tamanho do fragmento florestal de origem também foi explorada no presente trabalho.

Para Ilha Grande e Ilha da Marambaia foram considerados os tamanhos das ilhas disponíveis em bibliografia e mencionados anteriormente na sessão Amostras. Para as amostras do TECAB e do PNMFA foram utilizados os tamanhos dos fragmentos nas quais as amostras foram coletadas (mencionados anteriormente na sessão *Amostras* da metodologia). Para a amostra de Glicério, o tamanho do fragmento foi estimado a partir da área de floresta contínua observada através de imagens de satélite disponíveis no software Google Earth. Para o PNRJ a área do fragmento utilizada foi a área de formação florestal, cerca de 2340 hectares (CARIS *et al.*, 2013), que corresponde a área do PNRJ com potencial ocorrência de *Nectomys squamipes* de acordo com as características desta espécie (ALHO, 1982; ERNEST & MARES, 1986).

Tanto a relação entre Assimetria Flutuante e heterozigossidade quanto a relação com o tamanho do fragmento foram exploradas utilizando correlações de Pearson.

Comparação entre Nectomys squamipes e Marmosa paraguayana.

Além das comparações entre as amostras de *Nectomys squamipes* de diferentes fragmentos, também foram feitas comparações entre os conjuntos de Índices de Assimetria Flutuante obtidos para as amostras de *N. squamipes* coletados no PNRJ e TECAB com os conjuntos obtidos para amostras de *Marmosa paraguayana* coletadas nas mesmas localidades. Assim como nas comparações usando apenas amostras de *N. squamipes*, foram feitas comparações distintas para cada conjunto de índices gerados a partir das configurações de marcos anatômicos obtidos das diferentes vistas do crânio e mandíbula. O procedimento de comparação foi o mesmo aplicado para a análise entre as amostras de *N. squamipes* de diferentes fragmentos .

Estas comparações tiveram o intuito de avaliar a influência da sensibilidade de *N. squamipes* à impactos antrópicos a partir da Assimetria Flutuante ao relacionar os

Índices de Assimetria Flutuante observados para essa espécie em fragmentos de Mata Atlântica de tamanhos distintos com os índices de *M. paraguayana*, outra espécie de pequeno mamífero potencialmente menos vulnerável a impactos antrópicos (Ver Introdução), coletadas nos mesmos fragmentos.

Os testes de comparação de médias (ANOVAs), medianas (Kruskal-Wallis ANOVA) e as correlações de Pearson utilizadas no trabalho foram realizadas no software **Statistica v. 8.0** (STATSOFT, 2007), sendo adotado o nível de significância de $P < 0,05$.

3. Resultados

4.1. Assimetria Flutuante em *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*

O teste de assimetria flutuante, utilizando a ANOVA bifatorial de modelo misto (ou Procrustes ANOVA), foi realizado para as vistas dorsal e ventral do crânio, e lateral da mandíbula, tanto para as amostras de *Nectomys squamipes* quanto para as amostras de *Marmosa paraguayana*. Para estas análises, as diferentes localidades de cada espécie foram reunidas em uma amostra única, de forma a identificar e quantificar Assimetria Flutuante para cada espécie como um todo, além de minimizar possíveis erros devido às diferenças de tamanhos amostrais ao calcular os índices de assimetria flutuante.

Para *N. squamipes* a Procrustes ANOVA apontou variação significativa ($P < 0,0001$) tanto para a interação indivíduo x lado quanto para cada um dos fatores individualmente nas vistas dorsal e ventral do crânio e na vista lateral da mandíbula (

Tabela 4). Portanto, tanto as vistas do crânio quanto a mandíbula apresentaram variações significativas e aleatórias em relação ao padrão de simetria, evidenciando a

ocorrência de Assimetria Flutuante em *N. squamipes*. Em relação ao fator “lado”, as variações também se mostraram significativas ($P < 0,0001$) em ambas as vistas do crânio e na mandíbula, evidenciando Assimetria Direcional em *N. squamipes*.

Tabela 4: Procrustes ANOVA para as vista dorsal e ventral do crânio e da vista lateral da mandíbula da amostra total de *Nectomys squamipes*. QM = Quadrados médios; g.l. = graus de liberdade; % Var = porcentagem da variância.

Vista	Efeito	Q.M.	g.l.	F	P	% Var
Crânio Dorsal						
	Indivíduo	$10,14 \times 10^{-5}$	1184	10,3	$< 0,0001$	62,44
	Lado	$3,35 \times 10^{-5}$	16	3,41	$< 0,0001$	20,64
	Ind. x Lado	$0,98 \times 10^{-5}$	1184	3,61	$< 0,0001$	6,06
	Erro	$0,27 \times 10^{-5}$	2400	0,18	1,000	1,68
	Resíduo	$1,49 \times 10^{-5}$	128			9,19
Crânio Ventral						
	Indivíduo	$7,27 \times 10^{-5}$	1296	10,2	$< 0,0001$	88,07
	Lado	$2,53 \times 10^{-5}$	18	3,56	$< 0,0001$	30,72
	Ind. x Lado	$0,71 \times 10^{-5}$	1296	4,48	$< 0,0001$	8,63
	Erro	$0,16 \times 10^{-5}$	2592	-0,07		1,93
	Resíduo	$-2,42 \times 10^{-5}$	36			-29,35
Mandíbula Lateral						
	Indivíduo	$6,00 \times 10^{-5}$	1040	7,46	$< 0,0001$	50,54
	Lado	$4,92 \times 10^{-5}$	16	6,12	$< 0,0001$	41,41
	Ind. x Lado	$0,80 \times 10^{-5}$	1040	5,33	$< 0,0001$	6,77
	Erro	$0,15 \times 10^{-5}$	2096			1,27

Em todas as vistas, a variação interindividual responde pela maior parte da variação, cerca de 50 % (mandíbula) a 88 % (dorso do crânio), de toda a variação da amostra, seguida pela variação entre os lados (Assimetria Direcional), que responde entre cerca de 20 % (dorso do crânio) e 41 % (mandíbula) da variação total. A Assimetria Flutuante corresponde a 6,06 % da variação na análise para vista dorsal do crânio, 8,63 % da variação na análise para vista ventral do crânio e 6,77 % da variação para a vista lateral da mandíbula.

Para *Marmosa paraguayana* a Procrustes ANOVA apontou diferença significativa ($P < 0,0001$) tanto para a interação indivíduo x lado quanto para o fator indivíduo e nas vistas dorsal e ventral do crânio e na vista lateral da mandíbula (Tabela 5). A presença de variações aleatórias significativas do padrão de simetria evidencia, assim como encontrado em *N. squamipes*, a ocorrência de Assimetria Flutuante em *M. paraguayana*. Em relação ao fator “lado”, nenhuma das vistas apontou variação significativa (vista dorsal do crânio $P = 0,2869$; vista ventral do crânio $P = 0,7119$; vista lateral da mandíbula $P = 0,4225$), portanto, não evidenciando Assimetria Direcional para *M. paraguayana*.

Tabela 5: Procrustes ANOVA para as vista dorsal e ventral do crânio e da vista lateral da mandíbula da amostra total de *Marmosa paraguayana*. QM = Quadrados médios; g.l. = graus de liberdade; % Var = porcentagem da Variância.

Vista	Efeito	QM	g.l.	F	P	% Var
Crânio Dorsal						
	Indivíduo	$10,80 \times 10^{-5}$	256	4,53	$< 0,0001$	66,85
	Lado	$2,80 \times 10^{-5}$	16	1,18	0,2869	17,35
	Ind. x Lado	$2,38 \times 10^{-5}$	256	14,01	$< 0,0001$	14,75
	Erro	$0,17 \times 10^{-5}$	544			1,05
Crânio Ventral						
	Indivíduo	$5,89 \times 10^{-5}$	306	7,78	$< 0,0001$	78,84
	Lado	$0,60 \times 10^{-5}$	18	0,79	0,7119	8,00
	Ind. x Lado	$0,76 \times 10^{-5}$	306	3,35	$< 0,0001$	10,13
	Erro	$0,23 \times 10^{-5}$	648			3,03
Mandíbula Lateral						
	Indivíduo	$29,79 \times 10^{-5}$	240	5,25	$< 0,0001$	69,74
	Lado	$5,86 \times 10^{-5}$	16	1,03	0,4225	13,72
	Ind. x Lado	$5,67 \times 10^{-5}$	240	4,09	$< 0,0001$	13,29
	Erro	$1,39 \times 10^{-5}$	512			3,25

Em todas as vistas, a variação interindividual corresponde à maior parte da variabilidade, compreendendo 67% (dorso do crânio) a 79% (ventre do crânio) de toda a variação da amostra, seguida pela variação entre os lados, que responde entre cerca de

8% (ventre do crânio) e 17% (dorso do crânio) da variação total. A Assimetria Flutuante compreende 14,75% da variação na vista dorsal do crânio, 10,13 % da variação na vista ventral do crânio e 13,29 % da variação na vista lateral da mandíbula, todos percentuais de variação relativamente maiores do que os encontrados nas diferentes vistas e estruturas em *N. squamipes*.

Para ambas as espécies, também foi incluída na Procrustes ANOVA a diferença entre duas digitalizações dos marcos anatômicos, apontadas como Erro. Esse fator explicou menos de 4% da variação total para todas as três vistas em ambas as espécies, sendo menor que 2% da variação para todas as vistas cranianas de *N. squamipes* e para a vista dorsal de *M. paraguayana*. Em nenhuma das vistas, o Erro foi significativo, indicando que o erro de localização na configuração de marcos anatômicos de uma imagem para outra é insignificante, reforçando a confiabilidade em relação à inferência de assimetria flutuante, que correspondeu por pelo menos 6% da variação em todas as vistas de ambas as espécies.

Em *Nectomys squamipes*, as vistas dorsal e ventral apresentaram além dos fatores “indivíduo”, “lado”, “indivíduo x lado” e “erro”, o fator “resíduo”. Esse fator corresponde à parte da variação encontrada nas análises que não é explicada por nenhum dos outros fatores. Para a vista dorsal o resíduo corresponde a 9,09% enquanto para a vista ventral corresponde a -29,35%, entretanto a análise não foi capaz de calcular o valor de P desse efeito para nenhuma das vistas.

4.2. Níveis de Assimetria Flutuante em diferentes amostras de *Nectomys squamipes*

A comparação dos Índices de Assimetria Flutuante baseados na vista dorsal do crânio entre as seis amostras foi realizada utilizando uma Kruskal- Wallis ANOVA

dada à ausência de normalidade e homocedasticidade dos dados. Essa análise não apontou diferenças significativas entre as medianas das amostras ($H_{(5, N=75)} = 4,635115$; $P = 0,4620$). Observando a distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante relacionados à forma do dorso do crânio para as seis amostras (Figura 13), é possível observar que todas as amostras se distribuem dentro de um mesmo intervalo de valores, entre 0,005 e 0,016, compreendido majoritariamente nas amostras de Ilha Grande.

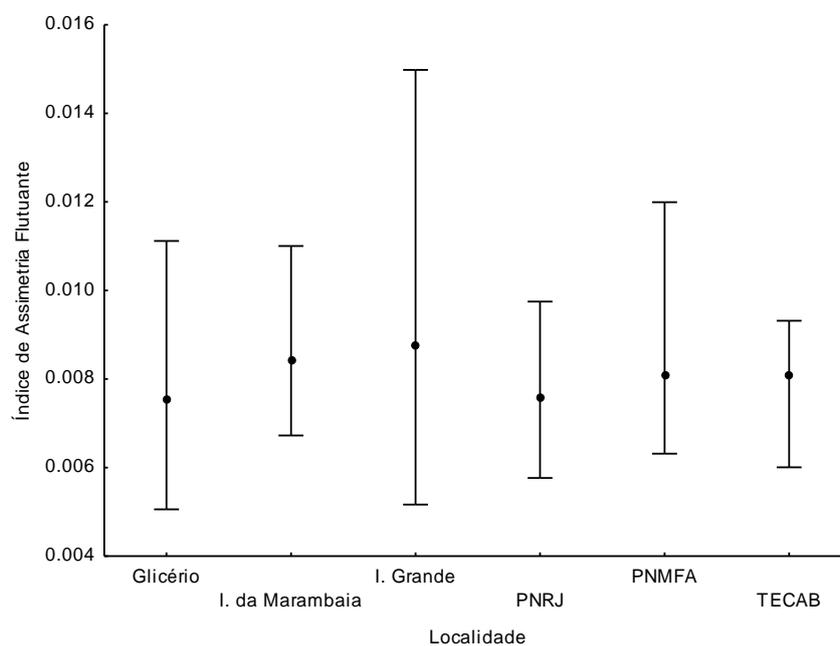


Figura 13: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista dorsal do crânio para as seis amostras de *Nectomys squamipes*. O ponto indica a mediana da amostra, enquanto a barra de erro mostra o máximo e o mínimo sem valores muito extremos (“outliers”).

A comparação para a forma da vista ventral do crânio entre as diferentes localidades foi feita a partir de uma ANOVA unifatorial. Não houve diferenças significativas ($F_{(5, 67)} = 1,6210$, $P = 0,16649$) entre as amostras em relação à Assimetria Flutuante na forma do ventre do crânio. A amostra de Glicério apresenta os menores índices de assimetria flutuante, entre 0,005 e 0,008, conseqüentemente apresentando média mais baixa (Figura 14). Por outro lado, as amostras Ilha da Marambaia e TECAB

apresentam os maiores índices de assimetria flutuante, entre 0,006 e 0,012 e entre 0,007e 0,012, respectivamente, com suas médias deslocadas para valores mais altos.

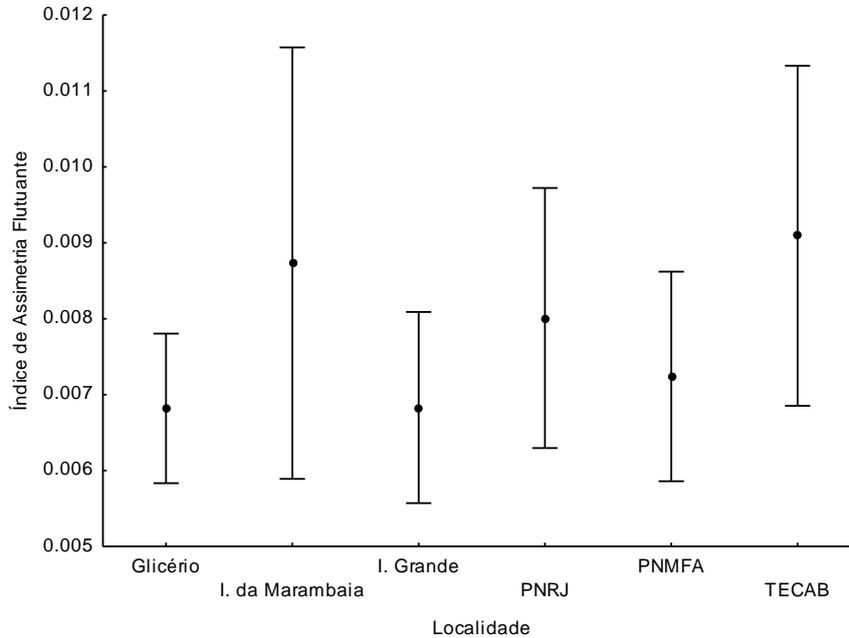


Figura 14: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista ventral do crânio para as seis amostras de *Nectomys squamipes*. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro o intervalo de 95% de confiança.

A comparação entre os Índices de Assimetria Flutuante baseados na configuração de marcos anatômicos da vista lateral da mandíbula foi feita usando ANOVA unifatorial. Essa análise apontou a existência de diferença entre as amostras ($F_{(5, 60)} = 4,6368, P = 0,0012$). Um teste *a posteriori* de Tukey para amostras desiguais —Unequal N HSD— (Tabela 6) indicou que apenas as amostras do PARNA Jurubatiba e do TECAB ($P < 0,05$) apresentaram índices de Assimetria Flutuante da mandíbula significativamente diferentes em relação à amostra de Glicério.

Observando a distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante relacionados à forma da mandíbula (Figura 15) é possível perceber que as amostras de Glicério, Ilha Grande e Ilha da Marambaia apresentam valores em média mais baixos, enquanto as amostras do PNRJ, PNMFA e TECAB apresentam valores em média mais altos.

Entretanto, as amostras de Ilha da Marambaia, Ilha Grande e PNMFA não se distinguem das demais devido à sobreposição de valores observada entre suas distribuições

Tabela 6: Teste Tukey para amostras desiguais (Unequal N HSD) entre as amostras geográficas utilizadas na ANOVA comparando os Índices de Assimetria Flutuante para a forma da mandíbula de *Nectomys squamipes*. Valores de *P* significativos destacados em negrito.

	Glicério	I. da Marambaia	I. Grande	PNRJ	PNMFA	TECAB
Glicério						
I. da Marambaia	0,993837					
I. Grande	0,954826	0,999994				
PNRJ	0,024129	0,343283	0,186009			
PNMFA	0,315232	0,733000	0,761200	0,984158		
TECAB	0,032476	0,255730	0,196724	0,999961	0,954431	

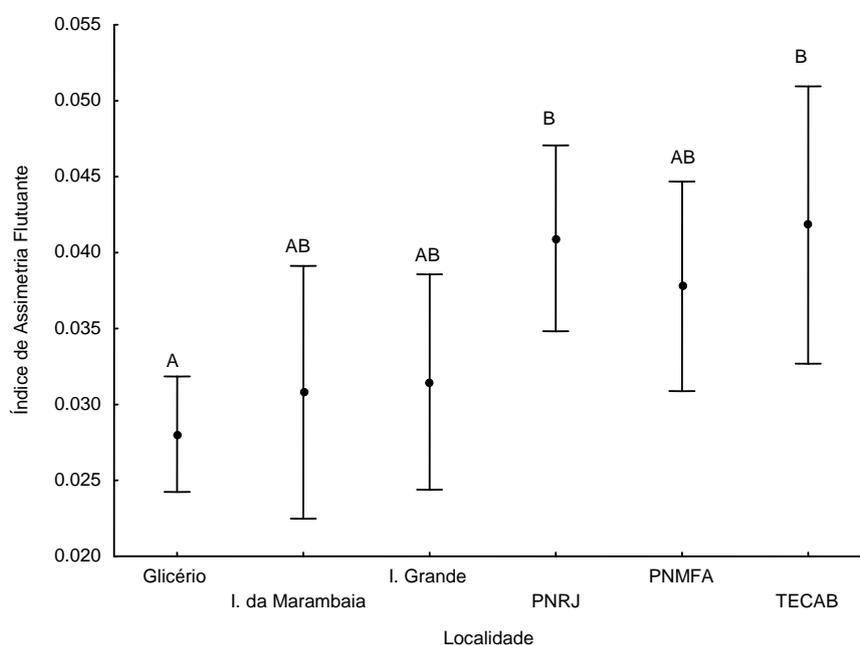


Figura 15: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da mandíbula para as seis amostras de *Nectomys squamipes*. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro o intervalo de 95% de confiança. Letras diferentes indicam amostras com diferença significativa no teste *Unequal N HSD*.

4.3. Assimetria Flutuante e Diversidade Genética em *Nectomys squamipes*

Para testar a relação entre a perda de variabilidade genética e o aumento da Assimetria Flutuante foram realizadas correlações de Pearson entre os índices de Assimetria Flutuante de forma do crânio e mandíbula e os valores de heterozigosidade média esperada para as amostras de Glicério ($H_e = 0,857$), Ilha Grande ($H_e = 0,544$) e Ilha da Marambaia ($H_e = 0,461$), obtidos por ALMEIDA *et al.*(2005) utilizando sete loci distintos.

Os valores médios dos índices de assimetria da forma do dorso do crânio (Figura 16, $r = -0,1674$; $P = 0,302$), assim como os dos índices da forma do ventre do crânio (Figura 17, $r = -0,1910$; $P = 0,264$) e os da mandíbula (Figura 17, $r = -0,1773$; $P = 0,298$) apresentaram uma fraca correlação negativa em relação aos valores de heterozigosidade média esperada das amostras de Glicério, Ilha Grande e Ilha da Marambaia, entretanto nenhuma das três correlações foi significativa.

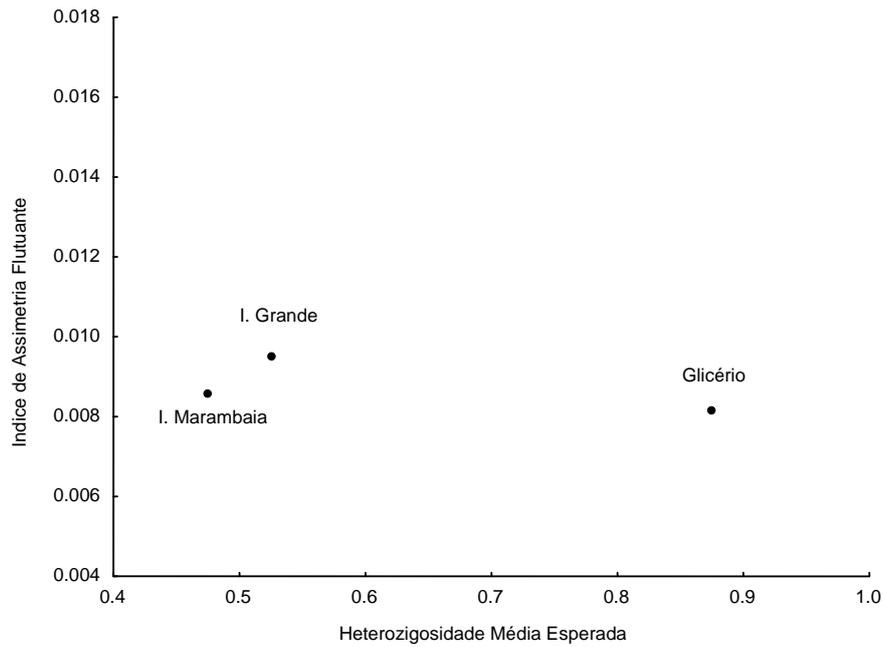


Figura 16: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma da vista dorsal do crânio de *N. squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações.

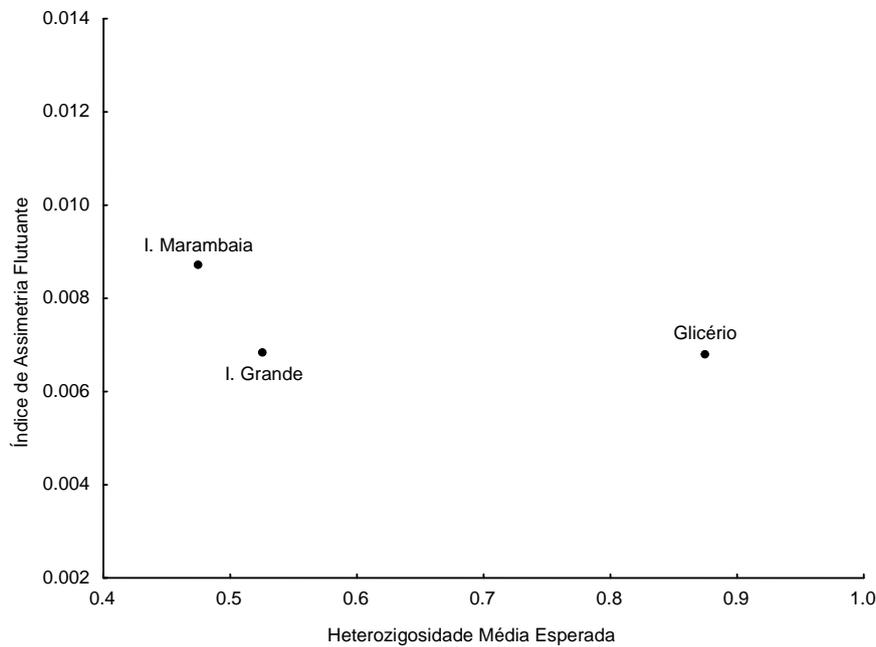


Figura 17: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma do vista ventral do crânio de *N. squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações.

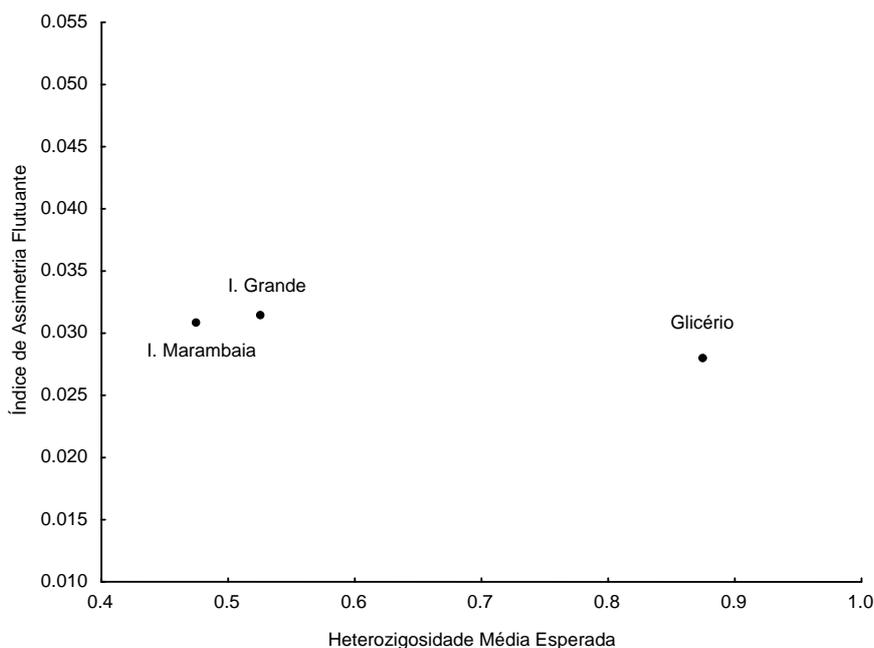


Figura 18: Relação entre a diversidade genética (medida a partir da heterozigosidade média esperada) e a Assimetria Flutuante da forma da mandíbula de *N. squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações.

4.4. Assimetria Flutuante de *Nectomys squamipes* e o tamanho do fragmento florestal

A correlação entre a Assimetria Flutuante das amostras de *N. squamipes* e a área do fragmento florestal no qual as amostras foram coletadas também foi testada usando correlações de Pearson. Nestas comparações, os valores das áreas em hectares foram transformados em seus logaritmos naturais para assegurar que ambas as variáveis apresentassem distribuição normal.

Os valores médios para os índices de Assimetria Flutuante da forma do dorso do crânio apresentam uma correlação negativa bem fraca e não significativa com o tamanho do fragmento (Figura 19, $r = -0,0312$; $P = 0,790$). Por outro lado, os valores médios dos índices de Assimetria Flutuante da forma do ventre do crânio e da forma da mandíbula apresentam correlações negativas significativas. Os tamanhos dos

fragmentos e forma da vista ventral apresentaram uma correlação fraca (Figura 20, $r = -0,2702$; $P = 0,021$) a forma da mandíbula e o tamanho dos fragmentos apresentaram uma correlação moderada (Figura 21, $r = -0,4685$; $P = 0,000$).

Figura 19: Relação entre o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da vista dorsal do crânio de *N. squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações.

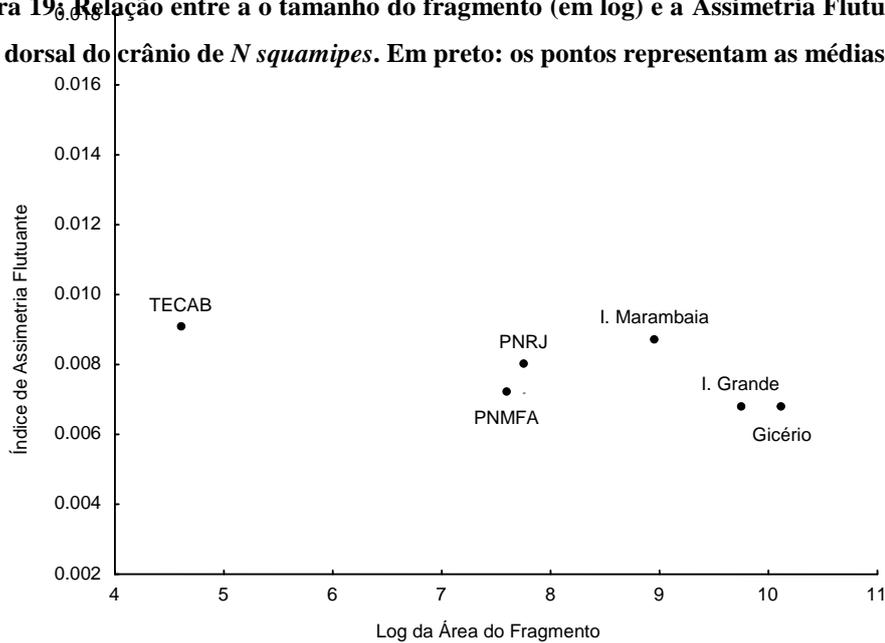


Figura 20: Relação entre o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da vista ventral do crânio de *N. squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações .

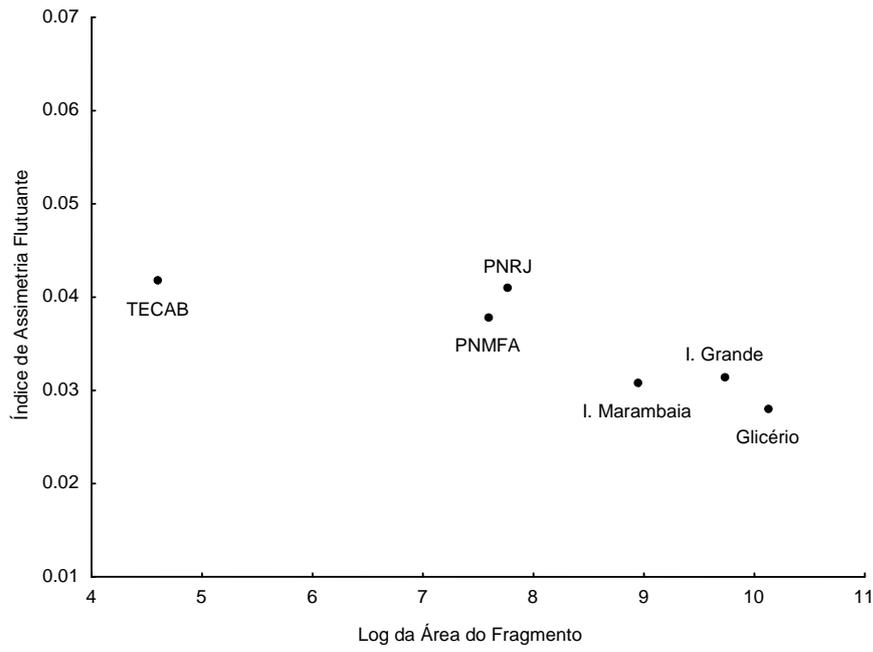


Figura 21: Relação entre o tamanho do fragmento (em log) e a Assimetria Flutuante da forma da mandíbula de *N squamipes*. Em preto: os pontos representam as médias das populações .

4.5. Comparação entre *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*

Algumas características ecológicas, como capacidade de deslocamento e padrão de uso do habitat, determinam a vulnerabilidade de uma espécie a extinções locais devido à fragmentação de habitat. Para testar se este conjunto de fatores tem algum efeito sobre a Assimetria Flutuante em populações de pequenos mamíferos neotropicais, os índices de Assimetria Flutuante de *Nectomys squamipes* em dois fragmentos (TECAB e PNRJ) foram comparados com os obtidos de *Marmosa paraguayana* coletadas nas mesmas localidades. Essas comparações foram feitas utilizando ANOVA unifatorial ou Kruskal- Wallis ANOVA.

A comparação entre Assimetria Flutuante para a vista dorsal entre as amostras de *N. squamipes* e *M. paraguayana* foi feita utilizando uma Kruskal- Wallis ANOVA. Essa análise apontou diferença significativa entre as amostras ($H_{(3, N=41)} = 18,22200$ $P = 0,0004$), sendo necessária uma análise *a posteriori* de comparações múltiplas para saber quais eram as amostras diferentes. A análise de comparações múltiplas (Tabela 7) apontou diferença entre *N. squamipes* do PNRJ e *M. paraguayana* de ambos os fragmentos. Ambas as amostras de *M. paraguayana* apresentam altos valores para as suas medianas (entre 0,006 e 0,016 e entre 0,006 e 0,022 respectivamente) e distribuição mais ampla do que ambas as amostras de *N. squamipes* (entre 0,006 e 0,010) (Figura 22), entretanto a mediana da amostra de *N. squamipes* do TECAB encontra-se dentro do intervalo de valores de ambas as amostras de *M. paraguayana*.

Tabela 7: Teste de comparações múltiplas entre as dos Índices de Assimetria Flutuante para a forma da vista dorsal do crânio de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*. Valores de *P* significativos destacados em negrito.

	<i>M. paraguayana</i>	<i>M. paraguayana</i>	<i>N. squamipes</i>	<i>N. squamipes</i>
	PNRJ	TECAB	PNRJ	TECAB
<i>M. paraguayana</i> PNRJ				
<i>M. paraguayana</i> TECAB	1,000000			
<i>N. squamipes</i> PNRJ	0,013590	0,000963		
<i>N. squamipes</i> TECAB	0,457072	0,057701	1,000000	

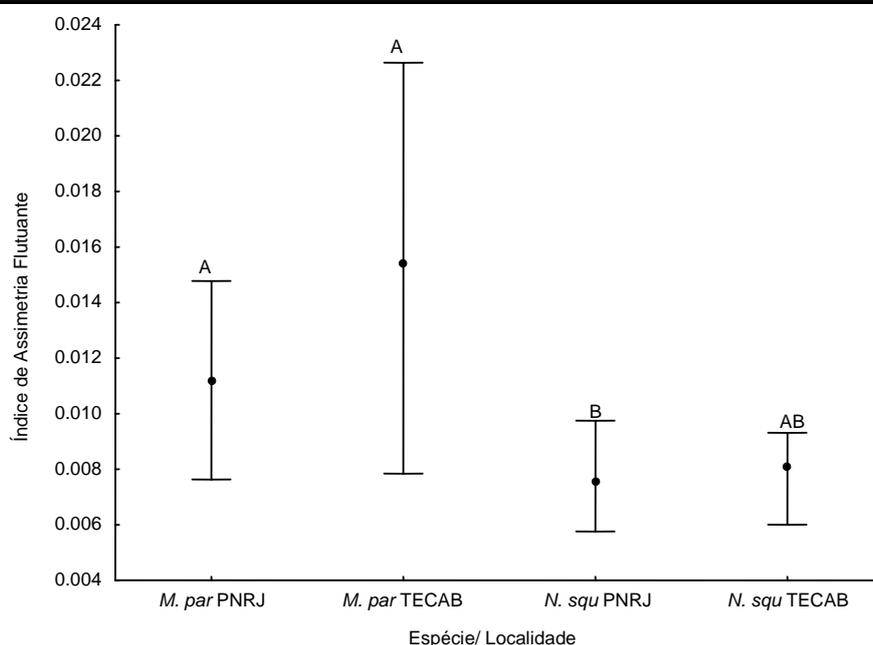


Figura 22: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista dorsal do crânio para as amostras de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a mediana da amostra, enquanto a barra de erro mostra a distribuição sem valores extremos (“outliers”). Letras diferentes indicam amostras significativamente diferentes no teste de comparações múltiplas.

A comparação dos índices de Assimetria Flutuante no ventre do crânio foi feita a partir de uma ANOVA unifatorial. Essa análise não apontou diferença significativa entre *N. squamipes* e *M. paraguayana* ($F_{(3, 38)} = 0,6466$, $P = 0,589915$). *Marmosa paraguayana* do PNRJ apresentam uma distribuição de valores mais restrita, entre 0,006

e 0,009 (Figura 23), enquanto *Nectomys squamipes* do TECAB apresenta o intervalo de valores mais amplo, entre 0,006 e 0,012.

A comparação entre as amostras em relação à assimetria da forma da mandíbula foi feita usando uma ANOVA unifatorial. Essa análise apontou diferença significativa entre as amostras ($F_{(3, 32)} = 5,6756$, $P = 0,003109$). O teste *a posteriori* de Tukey para amostras desiguais (Unequal N HSD, Tabela 8) apontou diferença significativa entre *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* no PNRJ.

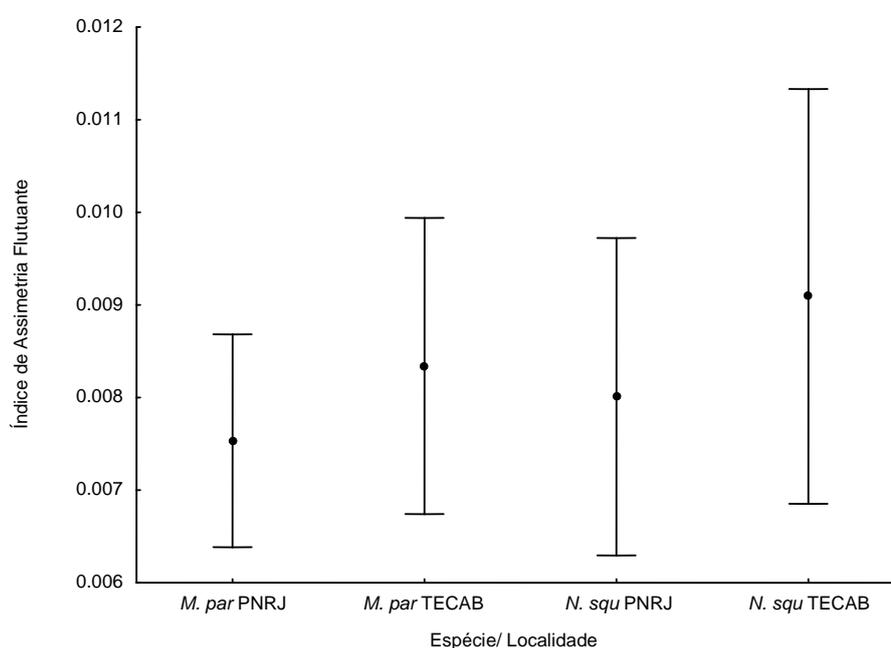


Figura 23: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da vista ventral do crânio para as amostras de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro mostra o intervalo de 95% de confiança ao redor da média.

Nectomys squamipes de ambas as localidades apresentam a média da amostra deslocada para valores mais altos, com os índices de assimetria entre 0,035 e 0,050 e 0,035 e 0,055 respectivamente, enquanto *M. paraguayana* do PNRJ, com os valores de assimetria entre 0,025 e 0,035, apresentam a média deslocada para valores mais baixos (Figura 24). *Marmosa paraguayana* do TECAB apresentam média menor que as do PNRJ,

entretanto, seus valores tem uma distribuição mais ampla, abrangendo o intervalo de variação de todas as outras amostras.

Tabela 8: Teste de Tukey para amostras desiguais (Unequal N HSD) entre os Índices de Assimetria Flutuante para a forma da mandíbula de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*. Valores de *P* significativos destacados em negrito.

	<i>M. paraguayana</i>	<i>M. paraguayana</i>	<i>N. squamipes</i>	<i>N. squamipes</i>
	PNRJ	TECAB	PNRJ	TECAB
<i>M. paraguayana</i> PNRJ				
<i>M. paraguayana</i> TECAB	0,992416			
<i>N. squamipes</i> PNRJ	0,035781	0,080749		
<i>N. squamipes</i> TECAB	0,032160	0,057503	0,997488	

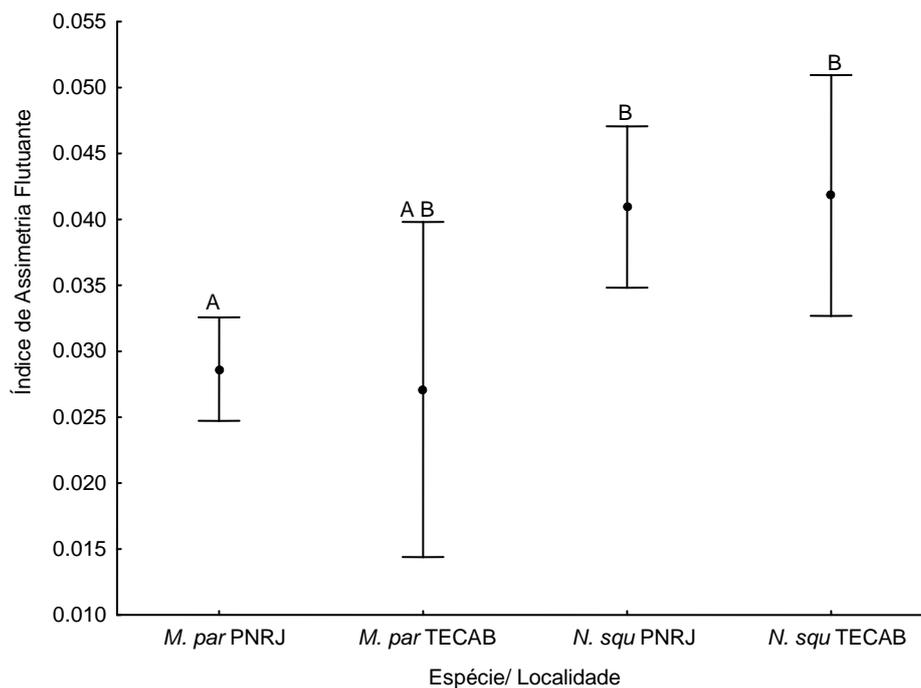


Figura 24: Distribuição dos Índices de Assimetria Flutuante em relação à forma da lateral da mandíbula para as amostras de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana* coletados no PNRJ e no TECAB. O ponto indica a média da amostra, enquanto a barra de erro mostra o intervalo de 95% de confiança ao redor da média.

4. Discussão

A relação dos níveis de Assimetria Flutuante nos indivíduos de uma população com a exposição destes indivíduos a diferentes tipos de estresse sugere que a Assimetria Flutuante possa ser utilizada como uma ferramenta para o monitoramento ambiental. A possibilidade de detectar alterações na assimetria antes de ocorrerem mudanças no valor adaptativo dos indivíduos em populações submetidas a estresse torna esse método interessante para esforços de conservação da biodiversidade (WILLIAMS, 2000).

No presente trabalho, comparamos a Assimetria Flutuante na forma do crânio e mandíbula entre amostras de *Nectomys squamipes* para avaliar os efeitos da redução e fragmentação de habitat. Também, foi possível estabelecer a relação do estresse decorrente da fragmentação com a diversidade genética nos níveis de Assimetria Flutuante em populações de pequenos mamíferos silvestres a partir de amostras coletadas em seis remanescentes de Mata Atlântica de tamanhos distintos do Estado do Rio de Janeiro. Ainda, foram comparadas amostras de *N. squamipes* com as da espécie de marsupial *Marmosa paraguayana* de dois dos remanescentes para testar a influência das diferenças bionômicas no acúmulo de assimetria flutuante.

5.1. Detecção e caracterização dos níveis de Assimetria Flutuante em populações de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*

As amostras de *N. squamipes* bem como as amostras de *M. paraguayana* apresentaram valores significativos para interação entre ‘indivíduo’ x ‘lado’ na Procrustes ANOVA, evidenciando níveis significativos de Assimetria Flutuante da forma para os dois conjuntos de caracteres cranianos e para a mandíbula.

Esse resultado é esperado, pois estruturas complexas tendem, no geral, a exibir algum nível de assimetria. Segundo GRAHAM *et al.* (2010), para características métricas, dois indivíduos não serão iguais, nem mesmo os dois lados em um indivíduo

simétrico ou duas medições de um mesmo objeto serão sempre idênticas. Diferenças, mesmo as muito pequenas, são sempre passíveis de serem encontradas, o que faz de antemão com que a hipótese nula, ou seja a hipótese de igualdade entre as características, seja rejeitada. Algumas razões para testar se a Assimetria Flutuante é significativamente diferente de zero são, (1) evitar a escolha de caracteres com quantias de assimetria muito pequenas e (2) se certificar de que os níveis de assimetria não são meros artefatos (erros) decorrentes do processo de digitalização ou mensuração dos caracteres.

Além de apresentarem diferença significativa para assimetria flutuante, as magnitudes de assimetria apresentada pelos três conjuntos de caracteres corresponderam a porcentagens semelhantes da variação total da forma, conforme quantificada na Procrustes ANOVA, tanto em *N. squamipes* quanto em *M. paraguayana*. A partir destes resultados, tanto a forma do dorso, quanto a forma do ventre do crânio e a forma da mandíbula foram utilizadas para investigar possíveis diferenças nas quantias de assimetria entre os exemplares das diferentes localidades.

As amostras de *Nectomys squamipes* apresentaram também valores significativos para o fator ‘lado’ nos testes para assimetria das três configurações de forma do crânio e mandíbula, sugerindo a existência de Assimetria Direcional. Assimetria Direcional é uma forma de desvio da simetria bilateral na qual a maioria da população apresenta lateralidade —maior desenvolvimento de um dos lados em relação ao outro— na mesma direção (GRAHAM *et al.*, 2010). Com base nos índices de assimetria de forma usados nesse trabalho, dada a sua natureza complexa e multivariada, não foi possível determinar para qual direção há os desvios de simetria nas população de *N. squamipes*.

A presença desse tipo de assimetria pode afetar análises de assimetria flutuante, pois a Assimetria Direcional tende a inflacionar os índices clássicos usados para medir Assimetria Flutuante (PALMER, 1994), além de evidenciar que parte das diferenças encontradas entre os lados dos indivíduos não são originárias apenas de perturbações no desenvolvimento, mas também de processos direcionais genéticos e ambientais (PALMER & STROBECK, 2003). Entretanto, em alguns casos, os desvios encontrados em torno da Assimetria Direcional média podem ser usados como inferência de perturbações durante o desenvolvimento do organismo, da mesma forma que a Assimetria Flutuante (PALMER & STROBECK, 2003). Sendo assim, foi dada continuidade às investigações em relação às diferenças na Assimetria Flutuante das amostras de *N. squamipes*.

As comparações entre as amostras de exemplares dos diferentes remanescentes de Mata Atlântica foram feitas com base nos índices de assimetria gerados a partir de três conjuntos distintos de características morfológicas. Os índices utilizados são considerados índices multivariados, já que a variação de cada um dos marcos anatômicos utilizados nas configurações contribui individualmente para a formação global de uma estimativa de assimetria. Índices multivariados oferecem maior confiança em relação ao padrão de assimetria do que índices baseados em apenas um caráter, tanto por atribuírem mais graus de liberdade às análises, quanto por oferecerem uma abordagem mais global do organismo, diminuindo a possibilidade do padrão de assimetria encontrado ser resultado de um artefato ou peculiaridade de um caráter em particular (PALMER, 1994).

As análises dos índices baseados nos três conjuntos de caracteres resultaram em padrões de variação que não são completamente concordantes entre si com respeito ao grau de diferenciação entre os fragmentos. Uma das razões para a obtenção de padrões

diferentes de variação na assimetria para cada conjunto de caracteres é que os distúrbios no desenvolvimento afetam as características morfológicas de maneira específica. Caracteres que apresentam tempos distintos de desenvolvimento irão diferir em suas respostas ao estresse, e conseqüentemente, em seus níveis de assimetria (VAN DONGEN, 2006). Ainda, o grau de assimetria pode diferir de acordo com particularidades do desenvolvimento da característica e sua ligação com o valor adaptativo do indivíduo. Em estruturas com maior importância funcional (*e.g.* habilidade de voar em aves) a pressão seletiva para um fenótipo simétrico tende a ser maior, tornando-as mais estáveis. Estruturas expostas à seleção direcional (*e.g.* ornamentos), por sua vez, tendem a mostrar maiores graus de instabilidade durante o desenvolvimento do organismo, sendo mais sensíveis aos efeitos de um estresse (VAN DONGEN, 2006).

As comparações entre os níveis de assimetria com base nos índices gerados pelas configurações de marcos anatômicos tanto da vista dorsal quanto da vista ventral do crânio não evidenciaram diferenças significativas entre os seis fragmentos para *Nectomys squamipes*. As distribuições dos valores dos índices de assimetria mostraram que ao menos uma das amostras insulares apresenta maior intervalo de variação nos índices de assimetria. Deste modo, os indivíduos de Ilha Grande exibem o maior intervalo de variação para os índices da vista dorsal e os indivíduos de Ilha da Marambaia o maior intervalo para os índices da vista ventral.

Já no caso das comparações das configurações de forma da mandíbula, foram observadas diferenças significativas em relação aos níveis de assimetria flutuante. Os indivíduos de Glicério, coletados no fragmento que apresenta a maior área, apresentaram índices de assimetria da forma da mandíbula estatisticamente diferentes dos índices dos indivíduos coletados no PNRJ e no TECAB, que estão entre os

remanescentes com menores áreas dentre todos os fragmentos estudados. As amostras que apresentam diferenças significativas em relação à quantia de assimetria na forma da mandíbula são as que se encontram em extremos opostos considerando o tamanho da área do fragmento. Os indivíduos oriundos dos fragmentos de tamanho intermediário, apesar de pertencerem a fragmentos de tamanhos distintos, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação a essa variável.

Alguns fatores podem ter levado à ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos, considerando as informações sobre assimetria originadas a partir das estruturas do dorso e ventre do crânio, bem como a não distinção entre os padrões de assimetria da mandíbula entre os demais indivíduos analisados. Um destes fatores, de cunho metodológico, é o número restrito de indivíduos pertencentes a cada fragmento. Em estudos sobre assimetria flutuante, as comparações entre os indivíduos são feitas a partir das diferenças entre suas variâncias, o que faz com que a habilidade dos testes em reconhecer diferenças entre eles seja dependente da acurácia das estimativas de variância e, conseqüentemente, do número de observações (GRAHAM *et al.*, 2010).

Em geral, o número amostral mínimo recomendado para estudos de Assimetria Flutuante é de 30 indivíduos e, quando há suspeitas sobre desvios da normalidade, amostras de 40 a 50 indivíduos, são preferíveis pois o número amostral influencia a capacidade de reconhecer tais desvios (PALMER, 1994). Nosso estudo teve como base amostras limitadas de populações naturais, colecionadas em projetos de inventários de curta duração e sem a possibilidade de obter um número maior de indivíduos que se aproximasse do mínimo recomendado para estudos de assimetria. Além do número reduzido de espécimes de cada localidade, as condições de preservação contribuíram para que o número de indivíduos de algumas amostras fosse ainda menor. O reduzido

número de indivíduos pertencentes às amostras utilizadas em nosso estudo, cerca de 12 indivíduos por amostra — sendo a menor amostra, do TECAB, com 6 indivíduos, e a maior amostra a de Glicério, com 22 indivíduos —, pode ter contribuído para que não fossem reconhecidas diferenças entre as amostras, obscurecendo possíveis diferenças entre elas com respeito aos seus níveis de assimetria.

Outro fator capaz de afetar o reconhecimento de diferenças entre os padrões de assimetria de amostras expostas à um determinado tipo de pressão ou estresse é a possibilidade de algumas populações recuperarem fenótipos mais simétricos poucas gerações após a exposição. Estudos com a exposição de *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) à diazinon, um inseticida organofosforado, e dieldrin, um agrotóxico organoclorado (CLARKE & MCKENZIE, 1987; MCKENZIE & CLARKE, 1988) mostram que após a exposição de uma população a estes agentes químicos os níveis de Assimetria Flutuante são inicialmente altos, dado o caráter mais assimétrico dos indivíduos resistentes a tais compostos. Entretanto, após algumas gerações, os níveis de Assimetria Flutuante da população exposta tendem a diminuir até atingirem valores constatados antes da indução do estresse.

Apesar das possíveis interferências dos fatores explicitados anteriormente, o padrão de diferenciação entre as amostras nas quantias de assimetria na forma da mandíbula é coerente com estudos anteriores sobre Assimetria Flutuante em roedores. MARCHAND *et al.* (2003) estudaram o efeito da fragmentação na assimetria craniana e dentária de *Myodes glareolus* e observaram que a população não perturbada apresentou quantias de assimetria significativamente menores em relação a três populações perturbadas. Estas populações perturbadas, por suas vez, não apresentaram diferenças entre si, apesar de seus diferentes graus de perturbação. Tais evidências suportaram a inferência de que estudos de Assimetria Flutuante fornecem potenciais informações para

identificar se há a ocorrência de perturbação em uma dada área, mas não para discernir graus mais sutis de perturbação das áreas.

De forma similar, nosso estudo foi capaz de detectar diferença entre a amostra de Glicério, o fragmento com maior área, e as amostras do PNRJ e TECAB, fragmentos com menores áreas. Os indivíduos de Glicério apresentaram os mais baixos níveis de assimetria, o que em comparação com os resultados de MARCHAND *et al.* (2003) a caracterizaria como uma população não perturbada. Por outro lado, as amostras do PNRJ e TECAB seriam consideradas como amostras de fragmentos perturbados, pois apresentam os maiores níveis de assimetria dentre todas as amostras. As demais amostras não são estatisticamente distintas nem da amostra de Glicério nem das amostras do PNRJ e TECAB, apesar de representarem fragmentos de tamanhos distintos. Deste modo, não é possível diferenciá-las quanto a seu grau de perturbação ou identificá-las como áreas perturbadas ou não perturbadas.

5.2. Correlações entre assimetria flutuante, heterozigosidade média e tamanho do fragmento

Nós testamos a relação entre as quantias de assimetria observadas nas amostras e dois fatores importantes para a conservação de populações naturais: a variabilidade genética, a partir da heterozigosidade média estimada para cada população, e a área disponível para a população, a partir do tamanho dos fragmentos florestais onde os indivíduos foram coletados. A variabilidade genética está diretamente relacionada ao tamanho da população, enquanto a área disponível, além de influenciar no tamanho populacional, pode incluir outras formas de estresse ambiental (PRIMACK & RODRIGUES., 2001).

Não foram observadas correlações significativas entre a heterozigosidade média esperada e as quantias de Assimetria Flutuante nem para a forma das vistas dorsal e ventral do crânio, nem para a forma da mandíbula de *Nectomys squamipes*. Entretanto tais resultados podem ter sido afetados pela restrição dos dados de heterozigosidade a apenas três (Ilha Grande, Ilha da Marambaia e Glicério) dos seis fragmentos explorados no presente trabalho. Dentre as populações com dados genéticos desconhecidos, estão as do PNRJ e TECAB, fragmentos de menor tamanho e que apresentaram as maiores quantias de assimetria. WHITE & SEARLE (2008), em seus estudos de assimetria em populações de *Sorex araneus* Linnaeus, 1758 (Soricomorpha: Soricidae) de diferentes ilhas, observaram uma correlação negativa significativa entre a heterozigosidade média esperada de suas populações e as quantias de assimetria flutuante. Ou seja, quanto menor os valores de heterozigosidade média, maiores serão as quantias de assimetria flutuante. Entretanto, eles apontaram que esta relação estava agregada à presença da população coletada na menor ilha em suas análises. Quando estes indivíduos, que apresentavam o menor valor de heterozigosidade média e as maiores quantias de Assimetria Flutuante eram retirados da análise, os dados restantes não apresentavam correlação significativa. Sendo assim, a inclusão dos dados de heterozigosidade das amostras do TECAB e PNRJ poderiam afetar o resultado das nossas análises.

A relação entre Assimetria Flutuante e heterozigosidade é o alvo da discussão de diversos estudos (*e.g.* HOELZEL *et al.*, 2002; HOSKEN *et al.*, 2000; VØLLESTAD *et al.*, 1999; WAYNE *et al.*, 1986). Vários deles apontam a existência de uma relação entre perda da variabilidade genética e aumento da assimetria (*e.g.* HOELZEL *et al.*, 2002; HUTCHISON & CHEVERUD, 1995; WAYNE *et al.*, 1986). Dentre estes estudos estão os que abordam comparações entre populações naturais, *i.e.* não manipuladas em laboratório, incluindo estudos com espécimes de museus. Entretanto,

outros estudos, geralmente comparando a diferença de variabilidade genética entre linhagens de laboratório em condições controladas (e.g. HOSKEN *et al.*, 2000) não demonstram relações significativas entre assimetria e heterozigosidade. A diferença entre a estimativa de heterozigosidade e a variabilidade genética geral, o uso de poucos caracteres ou de caracteres pouco informativos quanto à variação genética, e a possibilidade da assimetria estar relacionada a estresses diferentes daqueles investigados nos estudos são alguns dos motivos para a ausência de relação entre variabilidade genética e Assimetria Flutuante (VØLLESTAD *et al.*, 1999).

Em uma meta-análise envolvendo 41 estudos relacionando heterozigosidade e assimetria flutuante, VØLLESTAD *et al.* (1999) encontraram uma correlação significativa entre heterozigosidade e assimetria apenas em estudos de animais ectotérmicos. Mais recentemente, comparando heterozigosidade e Assimetria Flutuante em onze populações de *Alectoris chukar* (Gray, 1830) (Galliformes: Phasianidae), KARK *et al.* (2001) não encontraram relações tanto entre heterozigosidade média observada e esperada e a assimetria em populações, quanto entre o número de loci heterozigotos e a assimetria do indivíduo. Estes autores sugerem que a assimetria não deve ser aplicada de forma generalizada como uma estimativa de estresse genético, embora seja uma ferramenta útil para estimar estresse ambiental. Desta forma, as alterações nos padrões de assimetria não se relacionam direta e exclusivamente com a heterozigosidade dos indivíduos de uma população, sendo influenciada por um conjunto de fatores, dentre eles, as diversas formas de estresse ambiental.

Assimetria Flutuante e tamanho do fragmento florestal

As relações encontradas entre os níveis de assimetria de *Nectomys squamipes* e os tamanhos dos diferentes fragmentos variaram em relação às vistas dorsal e ventral do

crânio e lateral da mandíbula. Embora os índices de assimetria na forma do dorso do crânio não tenham apresentado relações significativas com o tamanho dos fragmentos, os índices de assimetria na forma do ventre do crânio e na forma da mandíbula apresentaram correlações negativas e significativas com o tamanho dos fragmentos. Tais correlações indicam que os fragmentos com as maiores áreas apresentam os menores índices de assimetria, enquanto os maiores índices são encontrados em fragmentos com as menores áreas.

As relações encontradas entre Assimetria Flutuante e fragmentação de habitat no presente estudo são similares às observadas em trabalhos anteriores. Em um estudo em uma área fragmentada no sudeste do Quênia, LENS *et al.* (1999) encontraram diferenças significativas entre os níveis de Assimetria Flutuante do comprimento do tarso de sete espécies de pássaros estritamente florestais. Os valores de assimetria, que não diferiram significativamente entre as espécies, apresentaram diferenças significativas entre o fragmento mais perturbado (cerca de 50 hectares), o fragmento de perturbação média (cerca de 90 hectares) e o fragmento menos perturbado (cerca de 220 hectares). Em uma comparação com espécimes de museu coletadas antes do início do processo de fragmentação, foram encontradas diferenças significativas para a Assimetria Flutuante na área do fragmento mais impactado, enquanto os espécimes coletados no fragmento menos impactado não mostraram diferenças significativas. ANCIÃES E MARINI (2000), em um estudo envolvendo comparações dos níveis de Assimetria Flutuante na asa e no tarso de espécies de pássaros entre sete áreas de mata contínua e sete fragmentos florestais de Mata Atlântica no sudeste do Brasil, encontraram diferenças significativas entre as áreas fragmentadas e as áreas controle em ao menos um dos caracteres estudados, tanto para a comunidade pássaros em geral como para cinco das seis espécies que foram analisadas separadamente.

Em ambos os trabalhos, ao discutir as possíveis causas das alterações nos níveis de assimetria flutuante, considera-se que uma das explicações para as diferenças entre áreas preservadas e áreas degradadas seria o grande aumento na frequência de endocruzamentos e a decorrente perda da variabilidade genética. Entretanto, nenhum dos dois estudos testam esta relação.

Em nosso trabalho, a Assimetria Flutuante apresentou correlação significativa com a área do fragmento, mas não foi encontrada nenhuma relação com os valores de heterozigosidade. Entretanto, para compreender o quanto da variação na Assimetria Flutuante encontrada em fragmentos florestais de áreas diferentes está relacionada a redução de variabilidade genética, é necessária a obtenção dos dados genéticos para as amostras do PNMFA, PNRJ e TECAB, que são oriundas dos fragmentos florestais com as menores áreas. Da mesma forma, tais dados são necessários para comparar se a redução de área ou perda de variabilidade genética influenciam os níveis de Assimetria Flutuante de modo distinto. Contudo, com base nas amostras usadas em ambas as análises, é possível observar que o tamanho do fragmento e a variabilidade genética não se relacionam de forma direta, já que as amostras de Ilha Grande e Ilha da Marambaia, apesar de apresentarem áreas bem distintas, apresentam valores de heterozigosidade média bastante próximos.

Observando a correlação entre a Assimetria Flutuante da forma da mandíbula e o tamanho dos fragmentos nota-se que, dentre as amostras analisadas, todas apresentam valores médios de Assimetria Flutuante próximos a reta da correlação, exceto a amostra do PNRJ. Essa amostra apresenta valores médios de Assimetria Flutuante bem elevados, sendo maiores que os valores encontrados para o TECAB que apresenta a menor área dentre os fragmentos analisados. Tais valores são maiores do que o esperado a partir do tamanho de área usado nas análises. A estimativa da área do fragmento utilizada neste

trabalho baseou-se na área do parque coberta por formação florestal, que corresponde a cerca de 15 % da área total do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (CARIS *et al.*, 2013). Entretanto, esta formação não apresenta-se continuamente distribuída, sendo interrompida por outras formações vegetais arbustivas ou adaptadas à solos mais secos e arenosos, como a formação aberta de *Clusia*, formação predominante nos cordões arenosos do PNRJ. As lagoas também ocupam um área considerável do território do parque, dentre as quais a maior é a lagoa Carapebus. Com área de 411 hectares (CALIMAN *et al.*, 2010), essa lagoa se estende por 4km no município de Carapebus, dividindo completamente a área do PNRJ. Esse extenso corpo d'água, bem como algumas áreas de formação vegetal aberta arbustiva que também não são utilizadas por *Nectomys squamipes*, podem atuar como barreiras geográficas à dispersão de indivíduos desta espécie. Ao considerar a área de formação florestal apenas da porção sul do PNRJ, na qual está inserido o ponto de coleta dos espécimes, temos uma estimativa de área do fragmento com dimensões próximas a do fragmento do TECAB, apresentando então uma relação área do fragmento /Assimetria Flutuante mais coerente. Tais fatos sugerem a possibilidade de estruturação geográfica das populações de *Nectomys squamipes* dentro da área do PNRJ, uma hipótese que poderá ser testada em futuros estudos genéticos.

5.3. Comparação entre *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*

As comparações entre os índices de Assimetria Flutuante de *N. squamipes* e *M. paraguayana* foram feitas com o intuito de entender se as diferenças de estruturação espacial e migração entre as espécies determinariam respostas distintas à fragmentação e detectáveis pelos índices de assimetria. Para tal, foram comparadas amostras das duas espécies coletadas no PNRJ e no TECAB. Marsupiais didelfídeos, grupo no qual esta

inserida *Marmosa paraguayana*, já foram utilizados em estudos de assimetria flutuante, apresentando diferenças significativas entre populações de áreas mais e menos fragmentadas (TEIXEIRA *et al.*, 2006). Nestas comparações, seria esperado que os maiores níveis de Assimetria Flutuante fossem apresentados pela espécie com maior sensibilidade aos estresses decorrentes da fragmentação. Deste modo, se *Nectomys squamipes* apresenta uma menor capacidade de migração do que *M. paraguayana* em paisagens fragmentadas, conforme sugerido por PASSAMANI & FERNANDEZ (2011a) e PIRES *et al.* (2002), esperaríamos que a primeira fosse mais sensível aos efeitos da fragmentação, conseqüentemente, apresentando maiores níveis de assimetria.

Nas comparações entre as amostras de *N. squamipes* e *M. paraguayana*, cada conjunto de marcos anatômicos exibiu um padrão diferente. A Assimetria Flutuante na forma do ventre do crânio não exibiu diferenças significativas entre amostras e espécies. Já a Assimetria Flutuante da forma do dorso do crânio e da forma da mandíbula apresentou diferenças significativas entre as espécies em ao menos uma das amostras. A comparação baseada na forma da mandíbula apontou diferença entre a amostra de *M. paraguayana* do PNRJ, com valores de Assimetria Flutuante baixos, e ambas as amostras de *N. squamipes*, com altos valores de assimetria flutuante. Já a comparação baseada na forma do dorso do crânio apontou diferença entre a amostra de *N. squamipes* do PNRJ, com valores baixos de assimetria flutuante, e ambas as amostras de *M. paraguayana*, que apresentaram valores mais altos de assimetria.

Uma razão para estes dois padrões contraditórios pode estar relacionada com a distância filogenética entre as espécies estudadas. Embora seja comum em estudos de Assimetria Flutuante a comparação utilizando espécies diferentes, em geral as comparações são feitas entre espécies do mesmo gênero (*e.g.* HOELZEL *et al.*, 2002; HUTCHISON & CHEVERUD, 1995), diferentes gêneros da mesma família (WAYNE

et al., 1986) ou espécies de diferentes famílias pertencentes a mesma ordem (ANCIÃES & MARINI, 2000). Entretanto, nenhum dos trabalhos utilizaram espécies de ordens diferentes para comparação. A grande distância filogenética entre estas duas espécies reflete-se na forma diferenciada de seus crânios e mandíbulas. Na busca de configurações de marcos anatômicos que melhor retratassem a forma do crânio e mandíbula, as configurações usadas para cada espécie foram geradas a partir dos marcos morfológicos de destaque para cada táxon, não necessariamente homólogos entre as espécies. Apesar de um determinado estresse afetar o desenvolvimento do organismo como um todo, estudos mostram que a resposta do organismo a esse estímulo é caráter-específico (VAN DONGEN, 2006), tornando os índices baseados em caracteres diferentes fracamente comparáveis. Logo, a quantidade de marcos anatômicos não homólogos entre as configurações utilizadas em nosso estudo pode ter afetado as comparações entre as duas espécies.

A presença de diversos ossos na composição da estrutura craniana faz com que a diversidade no padrão de formas encontrada entre as diferentes ordens de mamíferos, (FELDHAMER *et al.*, 2007), não se restrinja apenas a alteração na forma dos ossos. Essa variação de formas, ocasionada por diferenças na dieta, inserção muscular e desenvolvimento diferencial para determinados órgãos sensoriais, envolve também desvios no posicionamento e nas proporções de cada um dos ossos para a estrutura geral do crânio. Assim, houve uma maior tendência da escolha de marcos baseados em estruturas não homólogas para retratar a vista ventral e, principalmente, a vista dorsal dos crânios de *Nectomys squamipes* e *Marmosa paraguayana*.

Contudo, a mandíbula dos mamíferos é composta por um único par de ossos, os dentários, que encontram-se articulados entre si pela sínfise mandíbular (FELDHAMER *et al.*, 2007). Devido ao número limitado de acidentes e detalhes topográficos, as

variações de forma na mandíbula acabam concentradas no mesmo conjunto de processos e côndilos, mesmo em ordens diferentes de mamíferos. Portanto, o número de marcos homólogos acaba sendo maior na mandíbula do que nas demais vistas do crânio. Assim, dentre as estruturas utilizadas como fonte de informação no presente estudo, a mandíbula tende a ser a estrutura mais conservada para a comparação entre táxons filogeneticamente distantes.

O resultado obtido para a assimetria na forma da mandíbula é coerente com a hipótese de influência diferencial da fragmentação ambiental nas duas espécies em função de suas distinções ecológicas. Ambas as espécies são encontradas em fisionomias vegetais semelhantes, como por exemplo as áreas florestais dentro do PNRJ e área do TECAB. Contudo, *M. paraguayana* apresenta capacidade de deslocamento entre fragmentos duas vezes maior que a registrada para *N. squamipes*, embora ambas sejam capazes de se deslocarem por matrizes de pastagem (PASSAMANI & FERNANDEZ, 2011a; PIRES *et al.*, 2002). Ainda, apesar de ambas as espécies serem afetadas pela degradação de habitat, *M. paraguayana* faz amplo uso do espaço em paisagens fragmentadas sendo inclusive capaz de formar metapopulações (PIRES *et al.*, 2002, PIRES & FERNANDEZ, 1999), ocupando um número maior de fragmentos pequenos em relação a *N. squamipes* (VIEIRA *et al.*, 2009). Já *N. squamipes* seria mais sensível a tais impactos por ser afetada negativamente pela redução de seu habitat preferencial.

Tais diferenças de sensibilidade à fragmentação são refletidas na comparação entre os níveis de Assimetria Flutuante para as duas espécies. Enquanto as amostras de *M. paraguayana* tem seus valores médios de Assimetria Flutuante baixos, ambas as amostras de *N. squamipes* apresentam os valores médios de assimetria mais altos. A amostra de *M. paraguayana* do PNRJ, fragmento com a maior área nestas comparações,

difere significativamente de ambas as amostras de *N. squamipes*. Já amostra de *M. paraguayana* do TECAB, fragmento com área bastante reduzida e distante de outros fragmentos, não se diferencia das amostras de *N. squamipes* ou da amostra do PNRJ. Tais resultados sugerem que apesar de *M. paraguayana* ser em geral menos sensível à fragmentação, o tamanho reduzido da área do TECAB faz com que seus indivíduos tendam a apresentar mais desvios relacionados a assimetria flutuante.

Com relação às amostras de *N. squamipes*, a similaridade entre os valores de Assimetria Flutuante para das amostras do PNRJ e TECAB não só mostra a maior sensibilidade de *N. squamipes* à fragmentação comparada a *M. paraguayana*, como também sugere que ambos os fragmentos exercem impactos semelhantes nas populações deste roedor. Como discutido anteriormente, uma provável razão para tal semelhança é a possibilidade da área efetivamente utilizada pela população do PNRJ ser menor do que a estimada para este estudo, sendo mais similar à área do TECAB.

Embora baseado em uma configuração de marcos anatômicos com menor homologia entre as espécies, o padrão de assimetria exibido pela vista dorsal do crânio pode refletir diferenças nos padrões de desenvolvimento das duas espécies. Marsupiais apresentam grande diferença de tamanho entre neonatos e adultos, quando comparados com mamíferos placentários, como os roedores. Em geral, ninhadas de marsupiais pesam menos de 1 % da massa corporal da mãe, enquanto que em roedores o peso da ninhada pode chegar cerca de 50 % da massa corporal materna (FELDHAMER *et al.*, 2007). Assim, espécies marsupiais possuem um crescimento pós-natal maior do que espécies de roedores, apresentando um investimento metabólico duas vezes maior do que em roedores cricetídeos como *N. squamipes* para o crescimento (PORTO *et al.*, 2013). Caracteres que exibem taxas elevadas de crescimento tendem a acumular mais Assimetria Flutuante (DE COSTER *et al.*, 2013), pois conforme o investimento

energético é desviado para o crescimento, menos energia é reservada para mecanismos de precisão e estabilização do desenvolvimento (WILSON & MANNING, 1996). Dessa forma, a alta taxa de crescimento em marsupiais poderia explicar as diferenças de assimetria na vista dorsal do crânio entre *M. paraguayana* e *N. squamipes*.

5.4. Assimetria Flutuante e Conservação.

Para que ações de manejo e outras medidas para a conservação de populações naturais, incluindo espécies ameaçadas de extinção, possam ser planejadas e implantadas de forma coerente, é importante, dentre outras coisas, a identificação de métodos que permitam o monitoramento da qualidade e viabilidade das populações. Dentre estes, destacam-se os indicadores que evidenciem a presença de estresses ambientais antes que as populações sejam afetadas de maneira irreversível (TOMKINS & KOTIAHO, 2001).

Diversos estudos sugerem o uso de Assimetria Flutuante como um potencial indicador para diferentes estresses ambientais (*e.g.* LEAMY *et al.*, 1999; MARCHAND *et al.*, 2003; OLEKSYK *et al.*, 2004), incluindo a perda e fragmentação de habitats (*e.g.* ANCIÃES & MARINI, 2000; WAUTERS *et al.*, 1996), dada a capacidade de detecção de estresse antes que haja consequências mais severas, como alterações no valor adaptativo e presença de grandes deformações nos indivíduos de uma população (SARRE & DEARN., 1991). Estudos de Assimetria Flutuante já foram, inclusive, utilizados para o monitoramento de ações de manejo para *Parnassius apollo* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Papilionidae), uma espécie de borboleta ameaçada de extinção, na qual foi observada uma redução na variância da Assimetria Flutuante da população após alguns anos das ações de conservação, revertendo-a para níveis comparáveis aos encontrados antes da redução da espécie (SCHMELLER *et al.*, 2011).

Nosso trabalho utilizando amostras de *Nectomys squamipes* figura entre os poucos esforços de utilizar os níveis de Assimetria Flutuante como indicadores de estresse ambiental para a fauna de pequenos mamíferos neotropicais, sendo um dos primeiros a investigar tais relações para roedores sigmodontíneos em fragmentos de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro.

Embora apresente algumas das limitações dos estudos de Assimetria Flutuante apontadas por HUTCHISON & CHEVERUD (1995), que dificultam a detecção de diferenças em níveis baixos de assimetria, nosso trabalho foi capaz de apontar a relação entre o tamanho dos fragmentos e a magnitude de assimetria mandibular, fornecendo suporte para o uso desta metodologia como um indicador para fragmentação ambiental.

Nosso estudo pode servir também como base para futuras investigações sobre as relações entre Assimetria Flutuante e variabilidade genética, assim como para a influencia das estratégias bionômicas nas diversas espécies de pequenos mamíferos neotropicais e a percepção da fragmentação e redução ambiental como agente de estresse em uma mesma paisagem.

Ainda, os dados obtidos no presente estudo servem como indício de que, embora apresente uma extensa área bem preservada, ambientes heterogêneos como as restingas podem apresentar espécies com populações naturalmente descontínuas, possivelmente sendo este o caso das populações de *N. squamipes*, que ocorrem preferencialmente em áreas de floresta periodicamente inundada, dentro do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.

Diferentes abordagens podem também ser utilizadas em futuros estudos utilizando Assimetria Flutuante como indicador de estresse ambiental para pequenos mamíferos neotropicais. Além de características do crânio e esqueleto comumente obtidas em espécimes de museus, pode-se utilizar características biométricas medidas

nos animais ainda vivos para estudos de Assimetria Flutuante (e.g. ANCIÃES & MARINI., 2000; HELLE *et al.*, 2011; WAUTERS *et al.*, 1996). Entretanto, para esses caracteres é necessário utilizar a abordagem tradicional (para características lineares) ao invés das técnicas de morfometria geométrica.

Essa abordagem pode ser integrada a estudos de CMR (captura, marcação e recaptura) que permitem o acesso a um número maior de espécimes de forma pouco invasiva, podendo ser utilizada inclusive em espécies ameaçadas, permitindo o monitoramento temporal das populações no caso de estudos de longa duração.

6. Conclusões Gerais

- Em comparações utilizando amostras com números de indivíduos reduzidos, diferenças entre os padrões de Assimetria Flutuante são melhor detectadas usando estruturas definidas com poucos marcos anatômicos, como a mandíbula, do que estruturas como o crânio que necessitam de um maior número de marcos.
- Existe diferença significativa nos padrões de assimetria flutuante, ao menos para a forma da mandíbula, entre *Nectomys squamipes* do fragmento de Glicério que apresenta a maior área, e as amostras do fragmento do PNRJ e do TECAB, que apresenta a menor área.
- Os padrões de assimetria flutuante, tanto considerando a forma da mandíbula quanto a forma do ventre do crânio, apresentaram-se inversamente correlacionados com o tamanho do fragmento florestal. Ou seja, em fragmentos florestais de área reduzida, as populações ou amostras de *N. squamipes* tendem a apresentar altas quantias de Assimetria Flutuante.
- Não foram encontradas relações entre as quantias de Assimetria Flutuante da amostra e a variabilidade genética da mesma para *N. squamipes*.

- A similaridade entre as amostras de *N. squamipes* do PNRJ e do TECAB para os índices de Assimetria Flutuante na mandíbula pode representar uma evidência de estruturação geográfica de *N. squamipes* dentro da paisagem do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.
- A diferença entre as amostras de *N. squamipes* e de *Marmosa paraguayana* coletadas nos mesmos fragmentos para os índices de Assimetria Flutuante pode ser explicada por diferenças ecológicas das duas espécies, como a maior capacidade de deslocamento e persistência em áreas fragmentadas de *M. paraguayana* em relação a *N. squamipes*.
- Estudos de Assimetria Flutuante são uma interessante ferramenta para o monitoramento de estresse relacionado à restrição de habitat para espécies de pequenos mamíferos neotropicais.

7. Referências Bibliográficas

ALHO, C. J. R. Brazilian rodents: their habitats and habits. **Pymatuning Laboratory of Ecology, Special Publication**, v. 6, p. 143–166, 1982.

ALMEIDA, F. C.; MAROJA, L. S.; MOREIRA, M. A.; SEUÁNEZ, H. N.; CERQUEIRA, R. Population structure and genetic variability of mainland and insular populations of the Neotropical water rat, *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmodontinae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 4, p. 693–699, 2005.

ALVES, M. A. .; JENKINS, C. N.; CARAMASCHI, E. P.; SCARANO, F. R.; OLIVEIRA, F. J. G.; ZALMON, I. R.; MONTEIRO, R. F.; CAMARGO, A. F.; PIMM, S. L. Região de Petróleo e gás Natural. In: BERGALLO, H. G.; FIDALGO, E. C.; ROCHA, C. F. D.; UZÊDA, M. C.; COSTA, M. B.; ALVES, M. A. S.; SLUYS, M. V.; SANTOS, M. A.; COSTA, T. C. C.; COZZOLINO, A. C. R. (Eds.). **Estratégias e Ações para a conservação da Biodiversidade no Estado do Rio de Janeiro**. 1^a. ed. Rio de Janeiro: Instituto Biomas, 2009. p. 302–312.

ANCIÃES, M.; MARINI, M. Â. The effects of fragmentation on Fluctuating asymmetry in passerine birds of Brazilian tropical forests. **Journal of Applied Ecology**, v. 37, p. 1013–1028, 2000.

ASTÚA, D. Cranial sexual dimorphism in New World marsupials and a test of Rensch's rule in Didelphidae. **Journal of Mammalogy**, v. 91, n. 4, p. 1011–1024, 2010.

BERGALLO, H. G.; MAGNUSSON, W. E. Factors affecting the use of space by two rodent species in Brazilian Atlantic forest. **Mammalia**, v. 68, n. 2-3, p. 121–132, 1 jan. 2004.

BONVICINO, C. R.; LINDBERGH, S. M.; MAROJA, L. S. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. **Brazilian Journal of Biology-Revista Brasileira de Biologia**, v. 62, n. 4B, p. 765–74, nov. 2002.

BRANDT, R. S.; PESSÔA, L. M. Intrapopulational variability in cranial character of *Oryzomy subflavus* (WAGNER, 1842)(Rodentia: Cricetidae), in northeast Brazil. With 3 Figures and 4. **Zoologischer Anzeiger**, v. 233, n. 1/2, p. 45–55, 1994.

CALIMAN, A.; CARNEIRO, L. S.; SANTANGELO, J. M.; GUARIENTO, R. D.; PIRES, A P. F.; SUHETT, A L.; QUESADO, L. B.; SCOFIELD, V.; FONTE, E. S.; LOPES, P. M.; SANCHES, L. F.; AZEVEDO, F. D.; MARINHO, C. C.; BOZELLI, R. UIZ; ESTEVES, F. DE A.; FARJALLA, V. F. Temporal coherence among tropical coastal lagoons: a search for patterns and mechanisms. **Brazilian Journal of Biology-Revista Brasileira de Biologia**, v. 70, n. 3 Suppl, p. 803–14, out. 2010.

CAMARDELLA, A.; PESSÔA, L. M.; OLIVEIRA, J. A. DE. Sexual dimorphism and age variability in cranial characters of *Oryzomys subflavus* (Wagner, 1842)(Rodentia: Sigmodontinae) from northeastern Brazil. **Bonner Zoologische Beiträge**, v. 48, n. 1, p. 9–18, 1998.

CARIS, E. A. P.; KURTZ, B. C.; CRUZ, C. B. M.; SCARANO, F. R. Vegetation cover and land use of a protected coastal area and its surroundings , southeast Brazil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 4, 2013.

CARVALHO, A. L. G. DE; ARAÚJO, A. F. B. DE; SILVA, H. R. DA. Lagartos da Marambaia, um remanescente insular de Restinga e Floresta Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, 2007.

CHIARELLO, A. G. Density and population size of mammals in remnants of Brazilian Atlantic forest. **Conservation Biology**, v. 14, n. 6, p. 1649–1657, 2000.

CLARKE, G. M.; MCKENZIE, J. A. Developmental stability of insecticide resistant phenotypes in blowfly; a result of canalizing natural selection. **Nature**, v. 325, n. 6102, p. 345–346, 22 jan. 1987.

COUTINHO, L. C.; DE OLIVEIRA, J. A.; PESSÔA, L. M. Morphological variation in the appendicular skeleton of Atlantic Forest sigmodontine rodents. **Journal of morphology**, v. 274, n. 7, p. 779–92, jul. 2013.

DE COSTER, G.; VAN DONGEN, S.; MALAKI, P.; MUCHANE, M.; ALCÁNTARA-EXPOSITO, A.; MATHEVE, H.; LENS, L. Fluctuating asymmetry and environmental stress: understanding the role of trait history. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e57966, jan. 2013.

ERNEST, K. A. *Nectomys squamipes*. **Mammalian species**, n. 265, p. 1–5, 1986.

ERNEST, K. A.; MARES, M. A. Ecology of *Nectomys squamipes*, the neotropical water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behaviour. **Journal of Zoology**, v. 210, n. 4, p. 599–612, 1986.

ESBÉRARD, C. E. L.; JORDÃO-NOGUEIRA, T.; LUZ, J. L.; MELO, G. G. DE S.; MANGOLIN, R.; JUCÁ, N.; RAÍCES, D. S. L.; ENRICI, M. C.; BERGALLO, H. G. Morcegos da Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 8, n. 2, p. 147–153, 2009.

ESCÓS, J.; ALADOS, C. .; PUGNAIRE, F. .; PUIGDEFÁBREGAS, J.; EMLÉN, J. Stress resistance strategy in an arid land shrub: interactions between developmental instability and fractal dimension. **Journal of Arid Environments**, v. 45, n. 4, p. 325–336, ago. 2000.

FELDHAMER, G. A.; DRICKAMER, L. C.; VESSEY, S. H.; MERRITT, J. F.; KRAJEWSKI, C. **Mammalogy: Adaptation, Diversity, Ecology**. 3rd. ed. Baltimore: John Hopkins University Press, 2007.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. p. 224

FRANKLIN, A. B.; NOON, B. R.; GEORGE, T. L. What is habitat fragmentation? **Studies in Avian Biology**, n. 25, p. 20–29, 2002.

GALLIEZ, M.; FERNANDEZ, F. A. D. S. Spatial segregation between the water opossum *Chironectes minimus* and the water rat *Nectomys squamipes*: Just competition avoidance or a conservation problem as well? **Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde**, v. 77, n. 6, p. 447–450, nov. 2012.

GRAHAM, J. H.; RAZ, S.; HEL-OR, H.; NEVO, E. Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. **Symmetry**, v. 2, n. 2, p. 466–540, 2010.

HELLE, S.; HUHTA, E.; SUORSA, P. Fluctuating asymmetry as a biomarker of habitat fragmentation in an area-sensitive passerine, the Eurasian treecreeper (*Certhia familiaris*). **Ecological Indicators**, v. 11, n. 3, p. 861–867, 2011.

HERSHKOVITZ, P. A systematic review of the Neotropical water rats of the genus *Nectomys* (Cricetinae). n. 58, 1944.

HOELZEL, A. R.; FLEISCHER, R. C.; CAMPAGNA, C.; LE BOEUF, B. J.; ALVORD, G.; BOEUF, B. J. LE. Impact of a population bottleneck on symmetry and genetic diversity in the northern elephant seal. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, n. 4, p. 567–575, 25 jun. 2002.

HOSKEN, D.; BLANCKENHORN, W.; WARD, P. Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 13, p. 919–926, 2000.

HUTCHISON, D. W.; CHEVERUD, J. M. Fluctuating Asymmetry in Tamarin (*Saguinus*) Cranial Morphology: Intra- and Interspecific Comparisons Between Taxa With Varying Levels of Genetic Heterozygosity. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 4, p. 280–288, 1995.

KARK, S.; SAFRIEL, U. N.; TABARRONI, C.; RANDI, E. Relationship between heterozygosity and asymmetry: a test across the distribution range. **Heredity**, v. 86, n. Pt 2, p. 119–27, fev. 2001.

KLINGENBERG, C. P. A developmental perspective on developmental instability: theory, models and mechanisms. **Developmental Instability: Causes and Consequences**, p. 1–26, 2003.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ. Faculty of Life Sciences. **University of Manchester, UK: See http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm**, 2008.

KLINGENBERG, C. P. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. **Nature reviews. Genetics**, v. 11, n. 9, p. 623–35, set. 2010.

KLINGENBERG, C. P.; BARLUENGA, M.; MEYER, A. Shape Analysis Of Symmetric Structures: Quantifying Variation Among Individuals And Asymmetry. **Evolution**, v. 56, n. 10, p. 1909–1920, 2002.

KLINGENBERG, C. P.; MCINTYRE, G. S. Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. **Evolution**, v. 52, n. 5, p. 1363–1375, 1998.

KLINGENBERG, C. P.; MONTEIRO, L. R. Distances and Directions in Multidimensional Shape Spaces: Implications for Morphometric Applications. **Systematic Biology**, v. 54, n. 4, p. 678–688, ago. 2005.

KLINGENBERG, C. P.; NIJHOUT, H. F. Genetics of fluctuating asymmetry: a developmental model of developmental instability. **Evolution**, 1999.

LANDE, R. Genetic variation and phenotypic evolution during allopatric speciation. **American Naturalist**, v. 116, n. 4, 1980.

LEAMY, L. J.; DOSTER, M.; HUET-HUDSON, Y. Effects of methoxychlor on directional and fluctuating asymmetry of mandible characters in mice. **Ecotoxicology**, 1999.

LEAMY, L. J.; WORKMAN, M. S.; ROUTMAN, E. J.; CHEVERUD, J. M. An epistatic genetic basis for fluctuating asymmetry of tooth size and shape in mice. **Heredity**, v. 94, n. 3, p. 316–25, mar. 2005.

LENS, L.; VAN DONGEN, S.; WILDER, C. M.; BROOKS, T. M.; MATTHYSEN, E. Fluctuating asymmetry increases with habitat disturbance in seven bird species of a fragmented afro-tropical forest. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 266, n. 1425, p. 1241–1246, 22 jun. 1999.

MACEDO, J.; LORETTO, D. Classes de desenvolvimento em marsupiais: um método para animais vivos. **Mastozoología Neotropical**, v. 13, n. 1, p. 133–136, 2006.

MARCHAND, H.; PAILLAT, G.; BUTET, A. Fluctuating asymmetry in bank vole populations (Rodentia, Arvicolinae) reflects stress caused by landscape fragmentation in the Mont Saint Michel Bay. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 80, p. 37–44, 2003.

MCKENZIE, J. A.; CLARKE, G. M. Diazinon resistance, fluctuating asymmetry and fitness in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. **Genetics**, v. 120, n. 1, p. 213–220, 1 set. 1988.

MIKULA, O.; AUFRAY, J.-C.; MACHOLÁN, M. Asymmetric size and shape variation in the Central European transect across the house mouse hybrid zone. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 101, n. 1, p. 13–27, 24 set. 2010.

OLEKSYK, T. K.; NOVAK, J. M.; PURDUE, J. R.; GASHCHAK, S. P.; SMITH, M. H. High levels of fluctuating asymmetry in populations of *Apodemus flavicollis* from the most contaminated areas in Chernobyl. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 73, n. 1, p. 1–20, 2004.

PALMER, A. R. Fluctuating Asymmetry Analyses: A Primer. In: MARKOW, T. A. (Ed.). **Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1994. p. 335–364.

PALMER, A. R. Waltzing with Asymmetry Is fluctuating asymmetry a powerful new tool for biologists or just an alluring new dance step? **BioScience**, v. 46, n. 7, 1996.

PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating Asymmetry Analyses Revisited. In: POLAK, M. (Ed.). **Developmental Instability: Causes and Consequences**. London: Oxford University Press, 2003. p. 279–319.

PANKAKOSKI, E. Epigenetic Asymmetry as an Ecological Indicator in Muskrats. **Journal of Mammalogy**, v. 66, n. 1, p. 52–57, 1985.

PARSONS, P. A. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. **Heredity**, v. 68, p. 361—364, abr. 1991.

PASSAMANI, M.; FERNANDEZ, F. Movements of small mammals among Atlantic forest fragments in Espírito Santo, southeastern Brazil. **mammalia**, v. 75, p. 83–86, 2011a.

PASSAMANI, M.; FERNANDEZ, F. A. D. S. Abundance and richness of small mammals in fragmented Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Journal of Natural History**, v. 45, n. 9-10, p. 553–565, mar. 2011b.

PASSAMANI, M.; RIBEIRO, D. Small mammals in a fragment and adjacent matrix in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology-Revista Brasileira de Biologia**, v. 69, n. 2, p. 305–9, maio 2009.

PATTERSON, B. D.; PATTON, J. L. Fluctuating asymmetry and allozymic heterozygosity among natural populations of pocket gophers (*Thomomys bottae*). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 40, n. 1, p. 21–36, 14 maio 1990.

PIRES, A. D. S.; FERNANDEZ, F. A. D. S. Use of space by the marsupial *Micoureus demerarae* in small Atlantic Forest fragments in south-eastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 15, n. 3, p. 279–290, maio 1999.

PIRES, A. D. S.; LIRA, P. K.; FERNANDEZ, F. A. D. S.; SCHITTINI, G. M.; OLIVEIRA, L. C. Frequency of movements of small mammals among Atlantic Coastal Forest Fragments in Brazil. **Biological Conservation**, v. 108, p. 229–237, 2002.

PORTO, A.; SHIRAI, L. T.; DE OLIVEIRA, F. B.; MARROIG, G. Size variation, growth strategies, and the evolution of modularity in the mammalian skull. **Evolution; international journal of organic evolution**, v. 67, n. 11, p. 3305–22, nov. 2013.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina: E. Rodrigues, 2001. p. 328

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, jun. 2009.

ROHLF, F. J. **TpsDig2, Version 2.10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY, 2006.**

SARRE, S. Habitat fragmentation promotes fluctuating asymmetry but not morphological divergence in two geckos. **Researches on Population Ecology**, 1996.

SARRE, S.; DEARN, J. M. J. Morphological variation and fluctuating asymmetry among insular populations of the Sleepy Lizard, *Trachydosaurus rugosus* Gray (Squamata : Scincidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 39, p. 91–104, 1991.

SCHMELLER, D. S.; DOLEK, M.; GEYER, A.; SETTELE, J.; BRANDL, R. The effect of conservation efforts on morphological asymmetry in a butterfly population. **Journal for Nature Conservation**, v. 19, n. 3, p. 161–165, jul. 2011.

SOS MATA ATLÂNTICA; INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica, período de 2000 a 2005.** Disponível em: <<http://www.sosma.org.br/>>.

STATSOFT, I. **Statistica (data analysis software system)**, 2007. Disponível em: <www.statsoft.com>

STEIN, B. Morphology and allometry in several genera of semiaquatic rodents (*Ondatra*, *Nectomys*, and *Oryzomys*). **Journal of Mammalogy**, v. 69, n. 3, p. 500–511, 1988.

TEIXEIRA, C. P.; HIRSCH, A.; PERINI, H.; YOUNG, R. J. Marsupials from space: fluctuating asymmetry, geographical information systems and animal conservation. **Proceedings. Biological sciences / The Royal Society**, v. 273, n. 1589, p. 1007–12, 22 abr. 2006.

TOMKINS, J. L.; KOTIAHO, J. S. Fluctuating Asymmetry. **Encyclopedia Of Life Sciences**, p. 1–5, 2001.

VAN DONGEN, S. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 19, n. 6, p. 1727–43, nov. 2006.

VIEIRA, M. V.; OLIFIERS, N.; DELCIELLOS, A. C.; ANTUNES, V. Z.; BERNARDO, L. R.; GRELLE, C. E. V.; CERQUEIRA, R. Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1191–1200, jun. 2009.

VIVEIROS DE CASTRO, E. B.; FERNANDEZ, F. A. D. S. Determinants of differential extinction vulnerabilities of small mammals in Atlantic forest fragments in Brazil. **Biological Conservation**, v. 119, n. 1, p. 73–80, set. 2004.

VØLLESTAD, L. A.; HINDAR, K.; MØLLER, A. P. A meta-analysis of fluctuating asymmetry in relation to heterozygosity. **Heredity**, v. 83 (Pt 2), n. May 1998, p. 206–18, ago. 1999.

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

WADDINGTON, C. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. **Nature**, v. 159, n. 3811, p. 563–565, 1942.

WAUTERS, L. A.; DHONDT, A. A.; KNOTHE, H.; PARKIN, D. T. Fluctuating asymmetry and body size as indicators of stress in red Squirrel populations in woodland fragments. **The Journal of Applied Ecology**, v. 33, n. 4, p. 735–740, 1996.

WAYNE, R. K.; MODI, W. S.; O'BRIEN, S. J. Morphological variability and asymmetry in the Cheetah (*Acinonyx jubatus*), a genetically uniform species. **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 78–85, 1986.

WHITE, T. A.; SEARLE, J. B. Mandible asymmetry and genetic diversity in island populations of the common shrew, *Sorex araneus*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 21, n. 2, p. 636–41, mar. 2008.

WILLIAMS, M. Monitoring with callipers: the potential value of fluctuating asymmetry measurement in conservation monitoring, management and research. **Ecological Management**, n. 8, 2000.

WILSON, J.; MANNING, J. Fluctuating asymmetry and age in children: evolutionary implications for the control of developmental stability. **Journal of Human Evolution**, v. 30, p. 529–537, 1996.

Apêndice

Os espécimes utilizados no trabalho encontram-se listados abaixo por localidade e por espécie. Cada indivíduo encontra-se identificado pelo número de tombo da coleção de Mamíferos do Museu Nacional (MN) ou da Coleção de Mamíferos do NUPEM/UFRJ (NPM). Cada espécime tem determinado o sexo, sendo ‘♂’ para macho, ‘♀’ para fêmea ou ‘I’ quando o sexo for indeterminado. São discriminados também o tipo de análise em que foi utilizado, sendo usado ‘D.’ para determinar os espécimes usados nas análises para a vista dorsal do crânio, ‘V.’ para determinar os espécimes usados nas análises para a vista ventral do crânio e ‘M.’ para os usados nas análises para a mandíbula.

Glicério, Macaé, RJ.

Nectomys squamipes.

MN33806, ♂, D, V, M; **MN33807**, ♂, D, V, M; **MN33808**, ♂, D, V, M; **MN33809**, ♀, D, V, M; **MN33810**, ♂, D, V, M; **MN33811**, ♂, D, V, M; **MN33812**, ♀, D, V, M; **MN33813**, ♂, D, V, M; **MN33814**, ♂, D, V; **MN33815**, ♂, D, V, M; **MN33816**, ♀, D, V, M; **MN33817**, ♀, D, M; **MN33818**, ♀, V; **MN33819**, ♂, D, V, M; **MN33820**, ♂, D, V, M; **MN33821**, ♂, D, M; **MN33822**, ♂, D, V, M; **MN33824**, ♂, D, V, M; **MN33825**, ♂, D; **MN42680**, ♀, D, V, M; **MN42681**, ♂, D, V, M; **MN42682**, ♀, D, V, M; **MN42683**, ♀, D, V, M; **MN42684**, ♂, V, M.

Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ.

Nectomys squamipes

MN62194, ♂, D, V, M; **MN62195**, ♂, D, M; **MN62196**, ♂, D, V, M; **MN62198**, ♂, D, V, M; **MN62199**, ♂, D, V, M; **MN62200**, ♂, D, M; **MN62201**, ♂, D, V, M.

Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ.

Nectomys squamipes

MN24367, ♂, D, M; MN24368, ♂, D, V, M; MN24926, ♀, D, V, M; MN26848, ♂, D, V; MN30516, ♀, D, V, M; MN31024, ♂, D, V, M; MN31025, ♀, V, M; MN62202, ♂, D, M; MN62203, ♀, D, V, M; MN62204, ♂, D, V, M; MN67032, ♂, V.

Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ.

Marmosa paraguayana,

NPM104, ♂, D, V, M; NPM107, ♂, D, V, M; NPM135, ♂, D, V, M; NPM137, ♀, V, M; NPM153, ♀, D, V, M; NPM154, ♀, D, V; NPM495, ♂, D, V, M; NPM500, ♂, D, V, M; NPM501, ♂, D, V, M; NPM504, ♂, D, V, M; NPM505, ♂, V, M; NPM525, I, D, V, M.

Nectomys squamipes

NPM081, I, V; NPM087, ♂, D, V, M; NPM089, ♀, D, V; NPM098, ♂, D, V, M; NPM099, ♂, D, V, M; NPM116, ♂, D, V, M; NPM117, ♂, D, V, M; NPM124, ♀, D, V, M; NPM148, ♂, D, V, M; NPM173, ♂, D, V; NPM276, ♂, D, V, M; NPM452, ♂, D, V, M; NPM453, ♂, D, V, M; NPM454, ♂, D, V, M; NPM483, I, D, V.

Parque Natural Municipal Fazenda Atalaia, Macaé, RJ.

Nectomys squamipes.

NPM013, ♀, D, V, M; NPM024, ♀, D, V, M; NPM026, ♂, D, V, M; NPM039, ♀, D, V, M; NPM040, ♂, D, V, M; NPM043, ♀, D, V; NPM048, ♀, D, V, M; NPM049, ♂,

D, V; **NPM050**, ♀, D, V, M; **NPM054**, ♀; V; **NPM057**, ♂; V, M; **NPM239**, ♂, D, V;
NPM241, ♂, D, V.

TECAB, Macaé, RJ.

Marmosa paraguayana,

NPM078, ♀, D, V; **NPM094**, ♀, D, V, M; **NPM096**, ♀, D, V, M; **NPM109**, ♂, D, V,
M; **NPM110**, ♀, D, V, M; **NPM112**, ♀, D, V, M; **NPM127**, ♀, D, V, M.,

Nectomys squamipes

NPM076, ♂, D, V, M; **NPM086**, ♂, D, V, M; **NPM088**, ♂, D, V, M; **NPM147**, ♀, D,
V, M; **NPM285**, ♀, D, V, M; **NPM313**, ♂, D, V, M; **NPM324**, ♂, D, V, M; **NPM326**,
♂, D, V, M; **NPM369**, ♀, D; **NPM420**, ♂, D, V, M.