

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva

Alometria ontogenética em três espécies de *Callithrix*:
congruência da variação da forma do crânio com a filogenia
molecular (Primates: Callitrichinae)

ADRIELLE M. CEZAR

*Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Biodiversidade e Biologia Evolutiva,
curso de Mestrado, da Universidade
Federal do Rio de Janeiro para
obtenção do grau de Mestre.*

Orientadora: Dr^a. Leila Maria Pessôa

Co-Orientador: Dr. Alcides Pissinatti

Rio de Janeiro

2017

ADRIELLE M. CEZAR

Alometria ontogenética em três espécies de *Callithrix*:
congruência da variação da forma do crânio com a filogenia
molecular (Primates: Callitrichinae)

*Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Biodiversidade e Biologia Evolutiva,
curso de Mestrado, da Universidade
Federal do Rio de Janeiro para
obtenção do grau de Mestre.*

Orientadora: Dr^a. Leila Maria Pessôa

Co-Orientador: Dr. Alcides Pissinatti

Rio de Janeiro

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

CEZAR, Adrielle Marins

Alometria ontogenética em três espécies de *Callithrix*: congruência da variação da forma do crânio com a filogenia molecular (Primates: Callitrichinae). Dissertação de Mestrado: Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Leila Maria Pessôa, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Alcides Pissinatti, Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, 2017.

Alometria ontogenética em três espécies de *Callithrix*: congruência da
variação da forma do crânio com a filogenia molecular
(Primates: Callitrichinae)

Adrielle Marins Cezar

Banca examinadora:

Dr. João Alves de Oliveira

Museu Nacional – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Alzira Maria Paiva de Almeida

Fundação Oswaldo Cruz

Dra. Maria Lucia Lorini

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Suplentes:

Dr. William Corrêa Tavares

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Michelle Regina Lemos Klautau

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro, 28 de julho de 2017

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Leila Pessôa pelo apoio, incentivo, motivação, carinho, exemplo e orientação em todos os momentos ao longo do desenvolvimento deste trabalho, tornando possível sua realização.

À banca examinadora Dra. Maria Lucia Lorini, Dra. Alzira Almeida e Dr. João Alves de Oliveira, por dedicarem parte de seu precioso tempo para contribuir com meu trabalho.

Às instituições de fomento e coleções visitadas: CNPq, Centro de Primatologia do Rio de Janeiro e Museu Nacional-UFRJ.

Ao Dr. João Oliveira (Mastozoologia MN-UFRJ) por me apresentar a coleção de *C. kulli* viabilizando o meu projeto e por sua atenção durante as visitas ao Museu.

Ao meu co-orientador Dr. Alcides Pissinatti (CPRJ) pela permissão e acesso aos espécimes nas coleção e por toda a atenção durante as visitas a essa instituição, viabilizando assim este projeto.

Aos meus amigos e familiares pelo apoio durante essa jornada e por acima de tudo acreditarem sempre em minha capacidade. Muito obrigada!

Aos colegas de laboratório do Fundão e do Museu Nacional, por me receberem sempre bem e serem tão generosos e atenciosos, se disponibilizando a me ajudar em tudo que precisei.

Às minhas meninas: Penélope, Sophia e Joana por terem passado grande parte do tempo em que este trabalho estava sendo escrito ao meu lado me passando boas energias.

Sumário

Lista de tabelas	2
Lista de figuras	4
Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
História taxonômica das espécies estudadas	10
<i>Callithrix penicillata</i> É. Geoffroy in Humboldt, 1812	10
<i>Callithrix geoffroyi</i> É. Geoffroy in Humboldt, 1812	12
<i>Callithrix kuhlii</i> Coimbra-Filho, 1985	14
Justificativa	16
Material e métodos	19
Análises qualitativas	19
Análises quantitativas	20
Estatística univariada	21
Estatística multivariada	21
Alometria	22
Alometria bivariada	22
Alometria multivariada	23
Análise molecular	24
Resultados	26
Varição sexual	27
Classificação etária	27
Análise qualitativa do topotipo de <i>Callithrix kuhlii</i>	29
Análises quantitativas	30

Estatística descritiva de <i>Callithrix kuhlii</i>	30
Estatística descritiva de <i>Callithrix penicillata</i>	31
Estatística descritiva de <i>Callithrix geoffroyi</i>	31
Análise dos componentes principais em <i>Callithrix kuhlii</i>	38
Análise dos componentes principais em <i>Callithrix penicillata</i>	38
Análise dos componentes principais em <i>Callithrix geoffroyi</i>	39
Análise dos componentes principais interespecífica	40
Análise dos componentes principais entre os adultos, incluindo <i>Callithrix jacchus</i>	41
Análise discriminante em <i>Callithrix kuhlii</i>	42
Análise discriminante em <i>Callithrix penicillata</i>	43
Análise discriminante em <i>Callithrix geoffroyi</i>	44
Análise discriminante interespecífica	45
Análise discriminante entre os adultos, incluindo <i>Callithrix jacchus</i>	46
Alometria bivariada	47
Alometria multivariada	47
Análise molecular	50
Discussão	51
A importância do estabelecimento de classes etárias para estudos evolutivos em <i>Callithrix</i>	51
Análises quantitativas intraespecíficas	53
Análises quantitativas interespecíficas	54
Estudo da alometria	55
Congruência entre a variação vista no crânio e a filogenia molecular	56
Conclusão	58
Referências	59

Lista de Tabelas

Tabela 1: Iniciadores usados para amplificar (sublinhado) e sequenciar o gene MT-CYB, com a sequência discriminada, a posição do iniciador e a fonte; 1= Casado *et al.* (2010); 2= Cassens *et al.* (2000); 3= Irwin *et al.* (1991); 4= Menezes *et al.* (2010); 5= Bonvicino *et al.* (2001).

Tabela 2: Listas das amostras utilizadas nas análises filogenéticas, discriminando o número de campo ou número de acesso do GenBank, o táxon, e a localidade.

Tabela 3: Número amostral de espécimes medidos, especificando as classes de idade, de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*.

Tabela 4: Classificação etária de *Callithrix kuhlii* com base em caracteres craniodentários.

Tabela 5: Estatística descritiva das medidas cranianas entre todas as classes etárias de *Callithrix kuhlii* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL=143.

Tabela 6: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix kuhlii*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 7: Estatística descritiva das medidas cranianas entre as classes etárias de *Callithrix penicillata* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL= 37.

Tabela 8: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix penicillata*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 9: Estatística descritiva das medidas cranianas entre as classes etárias de *Callithrix geoffroyi* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL= 15.

Tabela 10: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix geoffroyi*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 11: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix kuhlii*.

Tabela 12: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix penicillata*.

Tabela 13: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix geoffroyi*.

Tabela 14: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética entre as três espécies de *Callithrix*.

Tabela 15: Coeficientes das funções lineares entre as fases etárias de *Callithrix kuhlii*.

Tabela 16: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix penicillata*.

Tabela 17: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix geoffroyi*.

Tabela 18: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix*.

Tabela 19: Distância de Mahalanobis entre as espécies de *Callithrix*.

Tabela 20: Coeficientes das funções lineares entre os adultos de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata*, *C. jacchus* e *C. geoffroyi*.

Tabela 21: Alometria bivariada de *Callithrix kuhlii*.

Tabela 22: Alometria bivariada de *Callithrix penicillata*.

Tabela 23: Alometria bivariada de *Callithrix geoffroyi*.

Tabela 24: Coeficientes alométricos multivariados calculados para cada medida de cada espécie analisada.

Tabela 25: Estimativas de distância genética (K2p) entre as espécies de *Callithrix*.

Lista de Figuras

Figura 1: Ilustração das imagens das seis espécies de saguis do gênero *Callithrix* e suas respectivas distribuições geográficas naturais. Adaptado de Rylands *et al.*, 2008.

Figura 2: Comparação entre as propostas filogenéticas para o gênero *Callithrix* com base em dados moleculares. A: 4 genes mitocondriais e 6 nucleares (Buckner *et al.*, 2014) B: 54 genes nucleares (Perelman, 2011) C: Gene mitocondrial ND1 (Tagliaro, 2000).

Figura 3: Medidas cranianas extraídas dos espécimes de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*; onde: 1: CT, 2: LT, 3: DOI, 4: DOE, 5: LM, 6: AM, 7: CCM, 8: CFM, 9: LFM e 10: AZ.

Figura 4: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix kuhlii*.

Figura 5: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix penicillata*.

Figura 6: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix geoffroyi*.

Figura 7: Diferença observada na coloração da pelagem na região do alto da cabeça entre o topótipo de *Callithrix kuhlii* e um indivíduo de ilhéus. À esquerda o indivíduo de ilhéus (MNRJ 11036) e à direita o topotipo (MNRJ 23798).

Figura 8: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix kuhlii*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: I, vermelho: II, verde: III, azul escuro: IV, turquesa: V, rosa: VI e amarelo: VII.

Figura 9: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix penicillata*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: II, vermelho: III, verde: IV, azul escuro: V, turquesa: VI e rosa: VII.

Figura 10: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix geoffroyi*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: II, vermelho: III, verde: IV, azul escuro: V, turquesa: VI e rosa: VII.

Figura 11: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para as três espécies de *Callithrix* ao longo da ontogenia, onde: preto: *C. kuhlii*, verde: *C. penicillata* e vermelho: *C. geoffroyi*.

Figura 12: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e

PC2) para as quatro espécies de *Callithrix*, onde: preto: *C. kuhlii*, verde: *C. penicillata*, vermelho: *C. geoffroyi* e azul: *C. jacchus*.

Figura 13: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix kuhlii*. Onde, preto: classe I, vermelho: classe II, verde: classe III, azul: classe IV, turquesa: classe V, rosa: classe VI e amarelo: classe VII. Número de grupos: 6. Lambda de Wilks: 0.021124. Valor de F aproximado= 11.968, $p < 0.00001$.

Figura 14: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix penicillata*. Onde, preto: classe II, vermelho: classe III, verde: classe IV, azul: classe V, turquesa: classe VI e rosa: classe VII. Número de grupos: 5. Lambda de Wilks: 0.0018236. Valor de F aproximado= 3.1974, $p < 0.00001$.

Figura 15: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix geoffroyi*. Onde, preto: classe II, vermelho: classe III, verde: classe IV, azul: classe V, turquesa: classe VI e rosa: classe VII. Número de grupos: 5. Lambda de Wilks: 1.3029e-07. Valor de F aproximado= 4.9663, $p = 0.001$ (não significativo).

Figura 16: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) ao longo da ontogenia ds três espécies. Onde, preto: *Callithrix kuhlii*, verde: *C. penicillata* e vermelho: *C. geoffroyi*. Número de grupos: 3. Lambda de Wilks 0.10775. Valor de F aproximado= 7.3671, $p < 0.00001$.

Figura 17: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para os adultos da classe V das três espécies. Onde, preto: *Callithrix kuhlii*, verde: *C. penicillata*, azul: *C. jacchus* e vermelho: *C. geoffroyi*. Número de grupos: 3. Lambda de Wilks 0.12951. Valor de F aproximado= 5.9311, $p < 0.00001$.

Figura 18: Alometria bivariada para as três espécies de *Callithrix* analisadas.

Figura 19: Topologia de máxima verossimilhança e Inferência Bayesiana com MT-CYB mostrando as relações filogenéticas das espécies de *Callithrix*. Os números próximos aos nós representam valores de bootstrap.

Resumo

O gênero *Callithrix* possui a mais ampla distribuição na sub-família Callithrichinae, ocorrendo desde o Maranhão e Ceará, ao leste do Brasil, seguindo pelo sul e centro-oeste, passando por Goiás e chegando até São Paulo e Rio de Janeiro. O grupo passou por muitas revisões nas últimas décadas. Por muito tempo todas as espécies atuais foram consideradas sub-espécies de *C. jacchus* já que as formas são muito semelhantes morfológicamente entre si, distinguindo-se principalmente pela coloração da face e dos tufos auriculares, caracteres muito utilizados na identificação destas espécies. Mas muitas vezes esse critério não se faz suficiente, principalmente em áreas de sobreposição na distribuição, em indivíduos jovens e pela possibilidade de formação de híbridos. *Callithrix kuhlii* foi descrita mais recentemente e antes era considerada uma forma híbrida entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi*. No presente estudo, temos como objetivo descrever e comparar o desenvolvimento do crânio das espécies *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi* ao longo da ontogenia, identificando diferenças e similaridades entre as espécies estudadas e integrando o conhecimento da variação no nível morfológico com os resultados da filogenia molecular proposta. Foi analisada através de uma abordagem qualitativa e da morfometria multivariada a morfologia craniana de indivíduos das três espécies depositados nas coleções do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ) e do Museu Nacional (MN-UFRJ). A análise qualitativa da morfologia craniana possibilitou observar sete classes etárias para *C. kuhlii* que também puderam ser utilizadas para as demais espécies. A análise morfométrica do crânio mostrou diferenças significativas entre as classes etárias e também entre as três espécies estudadas. Análises filogenéticas de máxima verossimilhança foram realizadas com cinco das seis espécies do gênero baseadas em sequências do marcador mitocondrial Citocromo b (MT-CYB) e revelaram o monofiletismo de *Callithrix*, com a espécie *Callithrix aurita* sendo a mais basal do grupo, seguida de *C. geoffroyi* e do clado incluindo *C. kuhlii*, um agrupamento terminal com *C. penicillata* e *C. jacchus*. O estudo da alometria mostrou que as espécies aqui estudadas possuem trajetórias ontogenéticas próprias e distintas entre si, com tendência à redução do tamanho do crânio nas espécies mais derivadas. *C. kuhlii* e *C. penicillata* são menores com processadores diferentes um do outro, que tiveram origens distintas em cada uma delas.

Palavras chave: Ontogenia; alometria; primatas; saguis.

Abstract

The *Callithrix* genus has the widest distribution in the Callithrichinae subfamily, occurring from Maranhão and Ceará, to the east of Brazil, following the south and center-west, passing through Goiás and reaching as far as São Paulo and Rio de Janeiro. The group had many revisions in recent decades. For a long time all the species were considered subspecies of *C. jacchus* since the forms are very similar morphologically to each other, distinguishing themselves mainly by the coloration of the face and auricular tufts, characters very used in the identification of these species. But often this criterion is not enough, especially in areas of overlap in distribution, in young individuals and by the possibility of hybrid formation. *Callithrix kuhlii* is the species that was described more recently and was previously considered a hybrid between *C. penicillata* and *C. geoffroyi*. Here, we describe and compare the skull development of the species *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* and *C. geoffroyi* throughout the ontogeny, identifying differences and similarities among them and integrating the knowledge of the variation in the morphological level with the results of the proposed molecular phylogeny. The cranial morphology of individuals of the three species deposited in the collections of the Center of Primatology of Rio de Janeiro (CPRJ) and of the National Museum (MN-UFRJ) was analyzed through a qualitative approach and multivariate morphometry. The qualitative analysis of the cranial morphology made it possible to observe seven age classes for *C. kuhlii* that could also be used for the other species. The morphometric analysis of the skull showed significant differences between the age classes and also among the three species studied. Phylogenetic analyzes of maximum likelihood were performed with five of the six species of the genus based on sequences of the mitochondrial marker Cytochrome b (MT-CYB) and revealed the monophyly of *Callithrix*, with *Callithrix aurita* being the most basal group, followed by *C. geoffroyi* and the clade including *C. kuhlii*, a terminal cluster with *C. penicillata* and *C. jacchus*. The study of allometry showed that the species studied here have ontogenetic trajectories unique to each other, with a tendency to reduce the size of the skull in the most derived species. *C. kuhlii* and *C. penicillata* are smaller with processor generators different from one another. Which had different origins in each of them.

Key words: Ontogeny; allometry; primates; marmosets.

Introdução

Diferentes classificações têm sido adotadas nas últimas décadas para os primatas neotropicais. Uma das primeiras se baseia em caracteres morfológicos e foi proposta por Hershkovitz (1977) onde ele reconhece a existência de três famílias: Callitrichidae, Callimicomonidae e Cebidae. Uma outra classificação foi proposta por Rosenberger (1981) e apoiada por Schneider *et al.* (1993). Esta proposta reconhece, dentre outras, duas das famílias aceitas atualmente: Cebidae e Atelidae. Atualmente esta última classificação é a mais aceita e, com o apoio de dados moleculares, além destas duas famílias também é aceita como válida a família Pitheciidae (Rylands, 2000; Groves, 2001).

Na clássica classificação de Hershkovitz (1977), o gênero *Callithrix* está incluído na família Callitrichidae juntamente com os gêneros *Cebuella*, *Saguinus* e *Leontopithecus*. Já de acordo com Rosenberger (1981), a família Cebidae é subdividida em duas subfamílias, Cebinae e Callitrichinae, esta última incluindo o gênero *Callithrix*, juntamente com *Cebuella*, *Saguinus*, *Leontopithecus* e *Callimico*.

Hershkovitz (1977) reconheceu apenas uma espécie de sagui para o atual gênero *Callithrix*, *Callithrix jacchus*, com cinco subespécies: *C. jacchus jacchus*, *C. jacchus penicillata*, *C. jacchus geoffroyi*, *C. jacchus flaviceps* e *C. jacchus aurita*. A estas subespécies ele se referia como o grupo “Jacchus” em oposição ao grupo “Argentata”. O grupo “Argentata” seria constituído pelas espécies amazônicas *C. argentata* (com três subespécies) e *C. humeralifer* (também com três subespécies). Desde então, foram descobertas mais espécies de saguis amazônicos (Ferrari e Lopes, 1992; Van Roosmalen *et al.*, 1998) e tratamentos taxonômicos posteriores a Hershkovitz (1977) optaram pela classificação de todas as formas como espécies distintas além de incluir as espécies do grupo “Argentata” em um novo gênero, *Mico* (Mittermeier e Coimbra-Filho 1981, Mittermeier *et al.*, 1988, Rylands *et al.*, 1993, 2000, Natori 1986, 1990).

O gênero *Callithrix* Erxleben, 1777, possui a mais ampla distribuição na subfamília Callitrichinae, ocorrendo desde o estado do Maranhão e Ceará, ao leste do Brasil, seguindo em direção ao sul do território brasileiro, até Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (Fig. 1). As espécies de *Callithrix* ocorrem ao longo de territórios de florestas costeiras do nordeste e sudeste brasileiros até florestas de galeria do planalto central (Mendes, 1997). Os membros deste gênero são conhecidos popularmente como saguis.

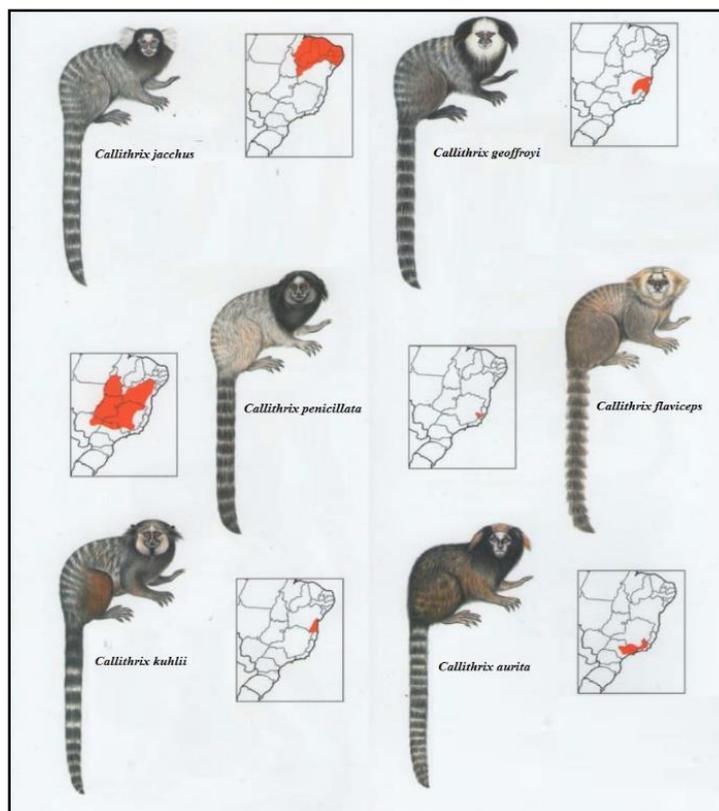


Figura 1: Ilustração das imagens das seis espécies de saguis do gênero *Callithrix* e suas respectivas distribuições geográficas naturais. Adaptado de Rylands *et al.*, 2008.

As espécies de *Callithrix*, assim como em primatas de um modo geral, são identificadas principalmente por características de coloração e de pelagem, como presença ou ausência de tufos auriculares, coloração e disposição dos pelos dos tufos (quando presentes), anelacão caudal, presença ou ausência de manchas coloridas. Considerando-se que primatas, em geral, são animais de orientação essencialmente visual, a importância biológica dos padrões de pelagem e coloração não pode ser subestimada (Vivo, 1991). Mas muitas vezes esse critério não se faz suficiente, principalmente em áreas de sobreposição na distribuição, em indivíduos jovens, os quais ainda não possuem a pelagem bem desenvolvida, e pela possibilidade de formação de híbridos.

Algumas questões taxonômicas e de relacionamento entre as espécies passaram por muitas mudanças nas últimas décadas. Por muito tempo todas as formas específicas atuais foram consideradas sub-espécies de *C. jacchus* já que as formas são muito semelhantes morfológicamente entre si, distinguindo-se principalmente pela coloração da face e dos tufos auriculares. Coimbra-Filho (1981) considerou que os saguis da mata atlântica, o grupo “Jacchus” reconhecido por Hershkovitz (1977), deveriam ser tratados como espécies e não como subespécies de *C. jacchus*. Examinando apenas a cor e os padrões da pelagem, Rosenberger (1984) argumentou que eles deveriam ser considerados espécies distintas, mas

destacou que mais informações seriam necessárias - genética e morfologia. Vivo (1991) classificou todos os saguis, exceto *Callithrix kuhlii* (que ele não reconheceu como distinto de *C. penicillata*), como espécies válidas. Segundo o autor, não existem evidências de uma intergradação generalizada entre as formas ou variação clinal, afirmando que o uso de classificações subespecíficas apenas com base na similaridade na pelagem entre formas seria inadequado. A falta de evidências para a classificação dos saguis do grupo "Jacchus" como subespécies de *C. jacchus* levou Groves (2005) a classificá-las como seis espécies distintas, seguindo explicitamente o conceito de espécie filogenética. Vale ressaltar que *Callithrix kuhlii* foi descrita muito recentemente e antes era considerada uma forma híbrida entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* (Coimbra-Filho *et al.*, 2006).

Herskovitz (1975, 1977) e Alonso *et al.* (1987) relataram hibridação na natureza. No entanto, Mittermeier e Coimbra-Filho (1981) argumentaram que a questão era controversa e estava atrelada a algumas questões relacionadas à introdução antrópica e às causas da variação na morfologia entre e dentro das espécies. Marroig *et al.* (2004) também não conseguiram encontrar evidências de intergradação ao longo das zonas de contato, mas sim "uma fronteira morfológica nítida e íngreme entre táxons, sem tendência de as espécies serem mais morfológicamente semelhantes nas zonas de contato do que em outras partes de suas áreas". Populações híbridas de *C. penicillata* e *C. geoffroyi* têm sido observadas em algumas partes da Serra da Piedade, ao longo do Rio Piracicaba, afluente do Alto Rio Doce, onde a floresta litorânea atlântica dá lugar ao cerrado (Coimbra-Filho *et al.* 1993, Passamani *et al.*, 1997). Híbridos férteis já foram produzidos em cativeiro (Hill 1957, Coimbra-Filho 1970, 1971, 1973, 1974, 1978, Coimbra-Filho *et al.*, 1993). Mendes (1997) sugeriu uma barreira pré-zigótica entre as espécies e Alonso *et al.* (1987) acreditam que exista um mecanismo comportamental de isolamento reprodutivo devido à pouca penetração de genes de uma espécie na população da outra em uma área de intergradação. Contudo, falta clareza na compreensão do processo de hibridização e nas consequências evolutivas para as espécies.

História taxonômica das espécies estudadas

***Callithrix penicillata* É. Geoffroy in Humboldt, 1812**

Humboldt descreveu a espécie *Simia penicillata* em 1812 na seção "Observations de Zoologie et d'Anatomie Comparée", décima parte da obra "Voyage de Humboldt et Bonpland", atribuindo a autoria do nome específico a É. Geoffroy St. Hilaire. Geoffroy descreveu a espécie "Jacchus penicillata" poucos meses após a publicação do trabalho de

Humboldt, o que foi então considerado um sinônimo júnior (Coimbra-Filho *et al.*, 2006). O espécime descrito por Geoffroy no “Annales du Museum Dhistoire Naturelle de Paris” em 1812, foi coletado por Alexandre Rodrigues Ferreira em sua “Viagem Philosophica”, onde percorreu as capitanias do Grão-Pará, Rio Negro, Mato Grosso e Cuiabá entre 1783 e 1792 (Vanzolini, 2004), e foi retirado do Museu Real d'Ajuda, em Lisboa, em 1808, durante a invasão de Portugal por Napoleão Bonaparte. O espécime possuía a localidade “Brasil” e, embora o holótipo não exista mais, a descrição original diz o seguinte:

"2. Pincel (preto). *Jacchus penicillatus* Geoff, 1812. 11 9. (Pelagem cinza: parte posterior do corpo e cauda anelada com marrom e cinza: uma mancha branca na testa: um pincel de pelo preto e muito longo antes das orelhas: a cabeça e o pescoço pretos.)"

O neótipo da espécie foi posteriormente designado em 1901 por Thomas e é uma fêmea adulta que está depositada no Museu de Londres.

Segundo Coimbra-Filho *et al.* (2006), Spix, em 1823, foi o primeiro a fornecer uma localidade mais precisa para *Simia penicillata*: Floresta de baixa altitude em Minas Gerais. Já em 1904, Thomas não seguiu a localidade fornecida por Spix e descreveu *Callithrix penicillata penicillata* com localidade tipo “Lamarão, próximo à Bahia” e também *Callithrix penicillata jordani*, localidade tipo Araguari, Rio Jordão, Minas Gerais. Durante muitos anos a designação de duas sub-espécies feita por Thomas foi aceita, entretanto em 1991, De Vivo considerou apenas uma espécie para *C. penicillata*, desconsiderando as formas sub-específicas. Sendo assim, a localidade tipo “Lamarão-Bahia” designada por Thomas é a mais aceita atualmente.

Callithrix penicillata é conhecido popularmente como mico-estrela ou sagui-de-tufos-pretos. Possui tufos auriculares longos e negros, de disposição pré-auricular, em forma de pincel. Apresentam coloração negra ou castanho-escura da face e cabeça até a escápula. A coloração geral do corpo é cinzenta, com o baixo dorso estriado (Auricchio, 2011). A distribuição geográfica da espécie é bem ampla, ocorrendo naturalmente nos estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, sudoeste do Piauí, Maranhão e norte de São Paulo, ao norte dos rios Tietê e Piracicaba (Hershkovitz, 1977). Esta espécie possui a distribuição muito associada ao Cerrado e à Caatinga. No estado da Bahia a espécie ocorre ao sul do rio São Francisco, não ocorrendo naturalmente na Mata Atlântica (Rylands e Mendes, 2008). Nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina a espécie ocorre atualmente mas por introdução antrópica (Rylands e Mendes, 2008). O limite da distribuição ao norte do Brasil é o sul dos rios Grande e São Francisco enquanto o limite ocidental parece ser delimitado pelo rio Araguaia, na região da Serra das Cordilheiras, que se estende para o

nordeste do Mato Grosso do Sul, a leste da Serra de Maracaju para o nível dos rios Pardo ou Taquaraçu (Rylands e Mendes 2008). *C. penicillata* estende a sua distribuição entre o alto rio São Francisco e o rio Jequitinhonha, ao longo das encostas ocidentais da Serra do Espinhaço, e ocorre em ambos os lados do rio Jequitinhonha em direção ao extremo leste do rio Araçuaí. A espécie está restrita ao norte do rio Araçuaí, com *C. geoffroyi* ocorrendo ao sul, resultado de uma introdução recente (1975) próxima a Belmonte (Rylands *et al.* 1988; Rylands e Mendes, 2008). Esta espécie é típica da região do Cerrado de Minas Gerais, no entanto, a destruição de áreas de floresta e o resultado de introduções (liberação equivocada de indivíduos confiscados) permitiram que *C. penicillata* se estabelecesse e, em alguns casos, provavelmente poderá até substituir as espécies de calitriquídeos nativos de numerosas localidades de leste a sul de sua distribuição original (Vivo, 1991; Coimbra-Filho 1984; Rylands e Mendes, 2008). *Callithrix penicillata* habita florestas ripárias, floresta decidual, floresta semidecidual, cerrado e cerradões. Não é restrito a habitats primários, tem preferência por florestas secundárias e florestas alteradas (Rylands e Mendes 2008). Há suspeitas de que a distribuição atual do táxon está reduzida em relação à sua área de ocupação histórica devido à perda de habitat, principalmente no Cerrado. A extensão de ocorrência da espécie é maior que 20.000km² e infere-se que sua área de ocupação seja maior que 2.000km² (Rylands e Mendes 2008).

***Callithrix geoffroyi* É. Geoffroy in Humboldt, 1812**

Assim como *Callithrix penicillata*, a espécie *Callithrix geoffroyi* também foi descrita por Humboldt em 1812, como *Simia geoffroyi* na seção “Observations de Zoologie et d’Anatomie Comparée”, décima parte da obra “Voyage de Humboldt et Bonpland”, atribuindo a autoria do nome a É. Geoffroy St. Hilaire. Geoffroy descreveu a espécie como *Jacchus leucocephalus* no “Annales du Museum Dhistoire Naturelle de Paris” em 1812, o espécime testemunho foi coletado por Alexandre Rodrigues Ferreira em sua “Viagem Philosophica” e está depositado no museu de Paris. Na descrição de Geoffroy St. Hilaire diz o seguinte:

“3. Sagui da cabeça branca. *Jacchus leucocephalus*. Pelagem vermelha: cabeça e peito branco: alto do pescoço preto: cauda anelada cinza e preto: tufo preto na frente e atrás das orelhas. ”

A localidade tipo de *C. geoffroyi* foi posteriormente restrita à “próximo à Vitoria”, entre os rios Espírito Santo e Jucu, por Cabrera (1958) que atribuiu a ação a Wied-Neuwid.

Callithrix geoffroyi é conhecido popularmente como sagui-da-cara-branca. Possui tufo auricular longos e negros, de disposição pré-auricular e apresenta uma máscara branca característica na face. Ocorre atualmente nos estados da Bahia, Espírito Santo e no nordeste de Minas Gerais como residente e nativo, e em Santa Catarina foi introduzido (Rylands e Mendes 2008). Naturalmente, a espécie corre ao norte do rio Jequitinhonha e do rio Araçuaí ao sul até perto da fronteira estadual do Espírito Santo e Rio de Janeiro (Hershkovitz 1977, Coimbra-Filho 1984, Rylands *et al.*, 1988). As populações que hoje ocorrem ao sul do Rio Jequitinhonha não são naturais e resultaram de animais liberados perto de sua foz, em Belmonte, por volta de 1975 (Coimbra-Filho, 1986). De lá, a espécie se espalhou para o leste e hoje também ocorre em florestas de galeria em toda a região de matagal seco (caatinga) do meio do rio (Rylands *et al.*, 1988). Vivo (1991) limitou a distribuição em Minas Gerais para o leste da Serra do Espinhaço. A distribuição de *C. geoffroyi* sobrepõe-se a de *C. flaviceps* no sul do Espírito Santo (sul do Rio Doce) e também no sudeste de Minas Gerais. No entanto, *C. geoffroyi* é geralmente restrito a áreas de planície, abaixo de 500-700 m enquanto *C. flaviceps* ocorre em altitudes acima de 400-500 m (Coimbra-Filho, 1971, Coimbra-Filho *et al.*, 1981). Hershkovitz (1977) afirmou que a localidade de maior altitude registrada para *C. geoffroyi* é Santa Teresa (659 m acima do nível do mar). Populações híbridas entre as duas espécies foram registradas para elevações intermediárias (em torno de 800 m) (Mendes, 1997). A ocorrência de *C. geoffroyi* foi registrada também na face oriental da Serra do Cipó a 1274 metros de altitude (Oliveira *et al.* 2003). Populações híbridas de *C. penicillata* e *C. geoffroyi* foram observadas em alguns locais da Serra da Piedade ao longo do rio Piracicaba, afluente do alto rio Doce, onde a Mata Atlântica é substituída pelo Cerrado (Coimbra-Filho *et al.* 1993, Passamani *et al.* 1997). *C. geoffroyi* habita floresta ombrófila densa, floresta semi-decidual do bioma Mata Atlântica e floresta decidual do bioma Caatinga (Rylands *et al.* 1988, Passamani, 1996). Não é restrito a habitats primários e apresenta tolerância a modificações/perturbações no ambiente, podendo ser considerada uma espécie adaptada a ambientes alterados (Rylands e Mendes, 2008). A extensão de ocorrência da espécie é maior que 20.000km² e infere-se que sua área de ocupação seja maior que 2.000km² (Rylands e Mendes, 2008).

***Callithrix kuhlii* Coimbra-Filho, 1985**

Callithrix kuhlii é a espécie de sagui descrita mais recentemente, sendo antes considerada uma forma híbrida entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* (Hershkovitz, 1977).

Wied-Neuwied (1826) foi o primeiro a apresentar uma descrição para a espécie, como *Hapale penicillatus Kuhlii*, mas, segundo Coimbra-Filho *et al.* (2006), ele teria ‘latinizado’ o nome de Heinrich Kuhl a “Kuhlius” antes de se referir à espécie usando o genitivo Kuhlii. Segundo o artigo 33 (d) do Código de Nomenclatura Zoológica "o uso de uma terminação -i em uma ortografia posterior de um nome de grupo de espécies, que é um genitivo baseado em um nome pessoal no qual a ortografia original correta termina com -ii, ou vice-versa, constitui uma ortografia posterior incorreta, mesmo que a alteração na ortografia seja deliberada". Sendo assim, o uso do nome específico ‘kuhli’ com ‘i’ seria incorreto. Embora outros trabalhos tenham sido publicados posteriormente citando a espécie, o primeiro trabalho contendo uma descrição para *Callithrix kuhlii* foi o de Coimbra-Filho (1985), que é então considerado o autor da espécie.

Coimbra-Filho e Mittermeier (1973) consideraram que havia duas subespécies distintas para *C. penicillata*. Uma subespécie (*C. p. penicillata*) ocorria na floresta costeira do sul da Bahia e a outra (*C. p. jordani* Thomas, 1904) ocorria no interior do Brasil central e sudeste. Hershkovitz (1975, 1977) discutiu os argumentos de Coimbra-Filho (1971) e Coimbra-Filho e Mittermeier (1973), concluindo que a forma de ocorrência no sul da Bahia era a que foi descrita pela primeira vez por Prinz Maximilian zu Wied-Neuwied (1826) como *Hapale penicillatus Kuhlii* [sic], mas esta seria na verdade um híbrido entre *C. j. penicillata* e *C. j. geoffroyi*. Mittermeier e Coimbra-Filho (1981) insistiram que aquilo a que então se referiam como *C. penicillata kuhlii* era uma forma subespecífica válida e possivelmente uma espécie válida (Coimbra-Filho, 1985). Mittermeier *et al.* (1988) sustentou que o sagui do sul da Bahia era uma forma distinta. Vivo (1991) considerou cinco espécies válidas, considerando *Callithrix kuhlii* como um sinônimo junior de *C. penicillata*, embora não um híbrido.

O espécime tipo de *H[apale] penicillatus Kuhlii* Wied-Neuwied, 1826, foi designado posteriormente por Hershkovitz (1975) como um macho coletado por Wied-Neuwied próximo ao Rio Belmonte, Bahia (1975, p.142; 1977, p. 502). Este espécime seria parte da coleção de Wied-Neuwied segundo Hershkovitz, de acordo com Ávila-Pires (1965), esta coleção foi comprada por D. Elliot em 1869 para ser estocada no American Museum of Natural History, em Nova York. Ávila-Pires (1965) não incluiu o espécime citado por Hershkovitz como o tipo em suas descrições dos espécimes coletados por Wied e depois Hershkovitz argumentou que Wied o descrevera na verdade como uma subespécie. Segundo Robert S. Voss, Divisão de Zoologia de Vertebrados, American Museum of Natural History, o tipo de *Hapale penicillatus kuhlii* foi perdido (Coimbra-Filho *et al.*, 2006). Hershkovitz

(1975, 1997) provavelmente não examinou o tipo que ele designou, mencionando apenas que os três espécimes de Ilhéus que ele examinou concordaram com a descrição de Wied do macho de Belmonte. Por sugestão de Voss (em 10 de maio de 2006), um dos três espécimes de Ilhéus mencionados por Hershkovitz (1975) poderia ser designado neótipo, mas seria necessária uma investigação aprofundada afim de determinar se o tipo de Belmonte ainda pode ser localizado. Alternativamente, mas de forma menos satisfatória, um exemplar no Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ 23794. Passuí, Belmonte, Bahia. Macho. Coletor desconhecido. 16 de julho de 1949. Pele) poderia ser designado como topotipo (Coimbra-Filho *et al.*, 2006).

A espécie pe caracterizada pela presença de tufo pré-auriculares pretos, bochechas e garganta cinza claro, bege ou castanho claro, mãos e pés pretos, culotes castanho avermelhado e cauda anelada (Coimbra-Filho, 1985). Os adultos de *Callithrix kuhlii* são ligeiramente maiores que *C. penicillata* e os jovens diferem visivelmente dos de *C. penicillata*, sendo mais escuros (Coimbra-Filho, 1985). A distribuição conhecida se dá nos estados da Bahia e Minas Gerais, onde é residente e nativo, ocorrendo, em Minas Gerais, nas florestas húmidas de baixa altitude e florestas mesófilas de maior altitude entre o Rio Jequitinhonha (ao sul) e do Rio de Contas (ao norte), e no sul do estado da Bahia, Brasil (Coimbra-Filho, 1985). É possível que sua distribuição originalmente se estendesse ao longo da costa da Bahia até o Rio Paraguaçu, ou até mesmo o Rio São Francisco, no passado, mas atualmente a degradação e destruição das florestas, aliada à mistura generalizada de populações com *C. jacchus* e *C. penicillata* através de introduções torna isto difícil ou impossível de verificar hoje. Da mesma forma, é possível que num passado recente a distribuição se estendesse ao sul do Rio Jequitinhonha até o Rio Jucuruçu, Bahia, mas novamente isso é agora difícil de afirmar (Coimbra-Filho *et al* 1991, Coimbra-Filho e Câmara, 1996). *Callithrix kuhlii* habita floresta ombrófila densa, floresta ombrófila submontana e restinga, não é restrito a habitats primários, ocorrendo em floresta secundária, seringais abandonados, áreas de cabruca e plantações de Piaçava (Rylands e Kierullf, 2008). É preciso uma maior amostragem para se estabelecer os limites de distribuição, apesar de estar relacionada com a ocorrência de floresta ombrófila densa. A extensão de ocorrência da espécie é calculada em 23.330 km² e infere-se que sua área de ocupação seja maior que 2.000km² (Neves, 2008).

Justificativa

Embora hoje sejam aceitas seis espécies distintas no gênero e muitos estudos de filogenia venham sendo realizados, questões taxonômicas dentro do grupo ainda não estão resolvidas.

Diversos estudos mostram que as três espécies aqui estudadas divergiram recentemente. Nos estudos utilizando marcadores mitocondriais, *Callithrix penicillata* aparece como grupo irmão de *Callithrix jacchus*, sendo este clado um grupo irmão de *Callithrix kuhlii* (Fig. 2a e 2b) (Tagliaro *et al.*, 1997; Buckner *et al.*, 2014; Cezar *et al.*, no prelo). Sena *et al.* (2012) e Tagliaro *et al.* (2000) (Fig. 2c), também utilizaram marcadores mitocondriais, entretanto encontraram um grupo polifilético, com um clado incluindo *Callithrix penicillata* e *Callithrix geoffroyi* divergindo logo após *Callithrix aurita*, em seguida há outro clado incluindo *Callithrix penicillata* agrupado com *Callithrix kuhlii*, e por fim *Callithrix penicillata* agrupado com *Callithrix jacchus* aparecem como clado mais recente, porém os autores atribuíram este resultado ao uso de um marcador de tamanho pequeno e de uma amostra reduzida. Perelman *et al.* (2011), utilizando marcadores nucleares, encontraram *Callithrix kuhlii* divergindo logo após *Callithrix aurita*, seguido de *Callithrix geoffroyi* e do clado incluindo *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*, entretanto marcadores nucleares em primatas do Novo Mundo costumam ser muito conservados, o que pode ser a causa deste resultado. Tagliaro *et al.* (1997) analisaram as sequências da região de controle do DNA mitocondrial para todas as espécies do gênero, exceto para *Callithrix flaviceps*. Ao reconstruir a filogenia de *Callithrix*, concluíram que suas árvores não apresentam *Callithrix kuhlii* como um grupo monofilético, embora sua parafilia tenha sido fracamente suportada. Os resultados obtidos também não mostraram uma clara distinção taxonômica entre *C. kuhlii*, *C. penicillata* e possivelmente *C. jacchus*, o que consideraram uma proposta que precisa ser mais explorada. Entretanto, eles encontraram forte apoio de que *C. aurita* e *C. geoffroyi* são entidades evolutivas distintas.

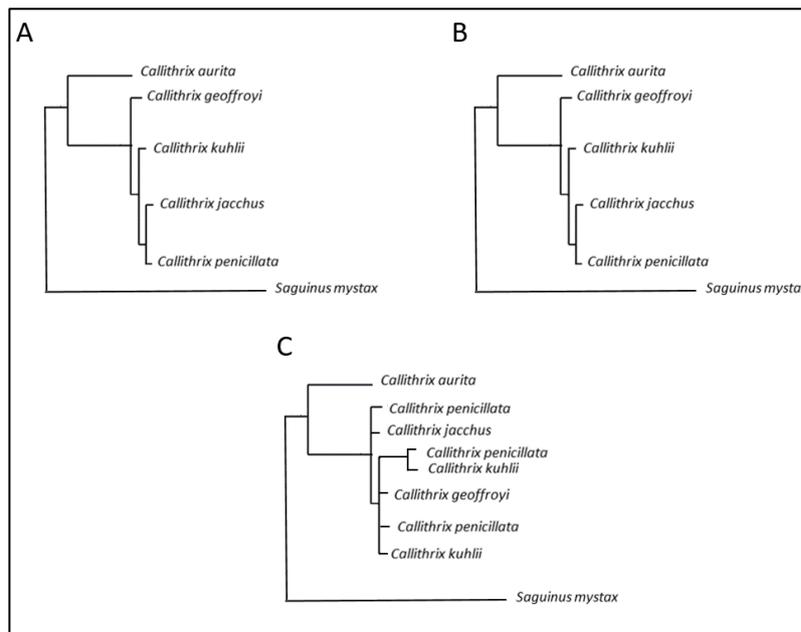


Figura 2: Comparação entre as propostas filogenéticas para o gênero *Callithrix* com base em dados moleculares. A: 4 genes mitocondriais e 6 nucleares (Buckner *et al.*, 2014) B: 54 genes nucleares (Perelman, 2011) C: Gene mitocondrial ND1 (Tagliaro, 2000).

, Como esperado as seis espécies do gênero, possuem o cariótipos parecidos, todas apresentam o $2N=46$ e diferem entre si principalmente pela morfologia do cromossomo Y (Nagamachi *et al.*, 1997). Estudos da morfologia cromossômica das espécies de *Callithrix* mostram que os saguis do leste brasileiro têm número diploide igual a 46, com 30 autossomos metacêntricos, 14 autossomos acrocêntricos, um cromossomo X submetacêntrico conservado e um cromossomo Y que é altamente variável em tamanho e morfologia (Nagamachi *et al.* 1997; Hsu e Hampton, 1970; Pedreira e Peixoto, 1975). Não são observadas diferenças significativas entre as espécies através das análises dos padrões de bandas C e bandas G dos cromossomos. (Nagamachi, 1995; Nagamachi *et al.*, 1997). As regiões centroméricas de todos os pares autossômicos apresentam heterocromatina constitutiva. Bandas NOR foram observadas apenas nos cromossomos acrocêntricos em todas as espécies, exceto em *C. jacchus* que mostra marcação de bandas NOR também no cromossomo Y (Nagamachi *et al.*, 1997).

Trabalhos que incluam apenas citogenética e biologia molecular têm se mostrado insuficientes na sua contribuição para o debate sobre o status taxonômico e das relações evolutivas entre as espécies de *Callithrix*, sendo importante para responder a essas questões que se façam estudos morfológicos (Coimbra-Filho *et al.*, 2006).

Fuzessy *et al.*, (2014) analisaram a variação na coloração da pelagem de híbridos entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* e não observaram o padrão de coloração castanho avermelhado dos culotes encontrado em *C. kuhlii*, embora tenham observado padrões de

morfotipos faciais intermediários entre as duas espécies parentais, sendo um deles semelhante ao observado em *C. kuhlii*, corroborando a hipótese de *C. kuhlii* ser uma espécie válida e não uma forma híbrida. Caracteres cranianos que diferenciem as espécies e variações ao longo do desenvolvimento de cada uma são pouco estudados. A identificação apenas pela coloração e pelos tufos auriculares não é eficiente para jovens, já que estes não apresentam tufos bem desenvolvidos e a pelagem pode sofrer variação ao longo do desenvolvimento. Além disso, *Callithrix penicillata* e *C. kuhlii* apresentam a morfologia dos tufos auriculares muito semelhantes, quando adultos ambos possuem tufos pré-auriculares negros. As espécies também possuem o cariótipo parecido, todas apresentam o $2N=46$ e diferem entre si principalmente pela morfologia do cromossomo y (Nagamachi *et al.*, 1997).

A identificação das seis espécies de *Callithrix* se baseia principalmente na coloração da pelagem do corpo e dos tufos auriculares de indivíduos adultos (Auricchio, 2011; Fuzessy *et al.*, 2014). No entanto a identificação feita apenas pelos tufos auriculares não é eficiente, principalmente para os indivíduos mais jovens, já que estes não apresentam os tufos bem desenvolvidos, e não é útil também para identificar os híbridos, pois estes costumam apresentar caracteres intermediários entre as espécies parentais, enquanto caracteres da morfologia craniana e corporal se mostram mais eficientes (Cezar *et al.*, *no prelo.*).

Não existem trabalhos na literatura abordando a ontogenia destas espécies. Estudos dessa natureza podem trazer maior clareza na classificação taxonômica do grupo além de fornecer informações inéditas sobre a biologia e evolução do grupo.

O estudo da ontogenia é fundamental para se entender a história evolutiva dos organismos porque as alterações ocorridas ao longo do desenvolvimento de uma mesma espécie são únicas (Alberch *et al.*, 1979), sendo possível resgatar informações que o estudo de genes ou apenas de indivíduos adultos não revelam. A alometria, por sua vez, caracteriza padrões de variações de tamanho que geralmente estão associados à variação na forma e reporta-se ao espaço ocupado pelo caráter, que são mecanismos distintos e complementares (Klingenberg e Spence, 1993). No século XIX a alometria era frequentemente associada apenas à ontogenia, já no século XX, com os trabalhos de Huxley (1924; 1932) ela começou a ser relacionada também à filogenia, o que foi continuado por estudos de taxas de crescimento alométricos geneticamente controladas ou fixadas (Cock, 1966; Davis 1962).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo descrever e comparar o desenvolvimento do crânio das espécies *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi* ao longo da ontogenia, com ênfase na variação alométrica. E, especificamente, identificar

diferenças e similaridades na alteração ontogenética da morfologia das espécies estudadas através de um morfoespaço multivariado, integrando o conhecimento da variação no nível morfológico com os resultados da filogenia molecular proposta.

Material e métodos

Análises qualitativas

Foram selecionadas séries ontogenéticas cranianas de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi* depositados nas coleções do Museu Nacional UFRJ (MN) e do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ). Os espécimes eram provenientes de locais próximos à localidade tipo ou da área de distribuição exclusiva de cada espécie, sem registros de sobreposição com nenhuma outra espécie do gênero. A amostra de *C. penicillata* foi proveniente dos municípios de Barreiras, Malhada e Riachão das Neves, na Bahia, de Uberlândia e Araguari, em Minas Gerais, e de Jataí, em Goiás. Já os espécimes de *C. geoffroyi* foram procedentes dos municípios de Vitória, Linhares, Vila Velha e Ibirapu, no estado do Espírito Santo. Os indivíduos de *C. kuhlii* foram provenientes do município de Ilhéus, no estado da Bahia, e a maior parte desta amostra se deu graças à campanha da *International Health Board*, em sua missão de implantação do programa nacional de combate à febre amarela. Durante esta campanha foram coletados milhares de mamíferos, dentre os quais muitos se encontram depositados na coleção Mastozoológica do Museu Nacional (UFRJ).

A identificação dos espécimes seguiu Hershkovitz (1977) e Coimbra-Filho *et al.*, (2006), onde foram observados caracteres cranianos gerais para o gênero *Callithrix*: abertura do nasal piriforme, presença do forâmen malar posicionado abaixo e lateralmente às órbitas e presença do forâmen infraorbital; e, quando possível, os caracteres de coloração da pelagem para cada uma das espécies.

A determinação etária ocorreu a partir da avaliação de caracteres craniodentários, sendo alguns já utilizados por trabalhos anteriores (Yamamoto, 1993; Accioly, 2000; Avelar, 2007) para o grupo e outros definidos neste estudo.

Foi analisado também neste estudo o exemplar MNRJ 23794, que se trata de um topótipo de *C. kuhlii* (Coimbra-Filho *et al.*, 2006) e sua pelagem foi comparada com outros indivíduos de *C. kuhlii*.

Análises quantitativas

Depois de classificar o material de acordo com a categoria etária, foram tomadas dez medidas lineares com paquímetro para verificar a variação ontogenética e entre as espécies. As análises estatísticas foram baseadas nestas dez medidas (Fig. 3), sendo elas:

- 1- Comprimento total do crânio (CT): distância do ponto mais saliente da maxila superior, entre os incisivos, até o ponto mais saliente da região posterior do crânio;
- 2- Largura total do crânio (LT): distância de uma extremidade lateral a outra do basioccipital;
- 3- Distância intraorbital (DOI): distância interna entre os pontos externos das órbitas;
- 4- Distância extraorbital (DOE): distância externa entre os pontos externos das órbitas;
- 5- Largura da mandíbula (LM): distância entre os côndilos mandibulares;
- 6- Altura da mandíbula (AM): distância da base da mandíbula até a inserção dos incisivos na altura da sínfise mandibular;
- 7- Comprimento da série molar (CCM): distância entre o canino e o último molar superior;
- 8- Comprimento do forâmen magno (CFM): distância entre os pontos internos de maior afastamento no foramen magnum no sentido anteroposterior;
- 9- Largura do forâmen magno (LFM): distância entre os pontos internos de maior afastamento no foramen magnum lateralmente;
- 10- Comprimento interno do arco zigomático (AZ): distância entre os pontos internos mais distantes do arco zigomático.

Todas as mensurações foram feitas utilizando um paquímetro digital de precisão de 0,01 milímetros.

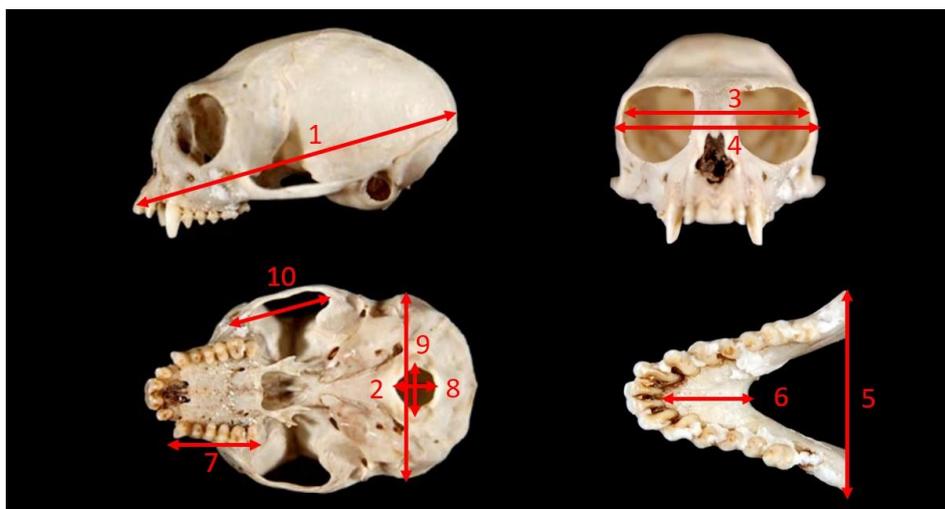


Figura 3: Medidas cranianas extraídas dos espécimes de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*; onde: 1: CT, 2: LT, 3: DOI, 4: DOE, 5: LM, 6: AM, 7: CCM, 8: CFM, 9: LFM e 10: AZ.

Medidas de caracteres ausentes nos indivíduos foram estimadas através do algoritmo *Multivariate Imputation by Chained Equations* (MICE). Esta técnica visa minimizar o problema dos *missing data* (variáveis faltantes), utilizando os dados existentes para estimar os dados que não estão no banco de dados. Não foram utilizados neste estudo indivíduos com mais de duas medidas ausentes. As matrizes de variáveis obtidas após se estimar os dados ausentes foram submetidas a análises multivariadas através do software R (R Core Team, 2014).

Para todas as análises priorizou-se o uso de amostras balanceadas entre as espécies e, dentro das espécies, entre as categorias de idade, visando manter a homogeneidade das variâncias.

Para excluir o fator geográfico dentre as variáveis geradoras de variação morfológica, também se priorizou, para cada espécie, o uso de indivíduos previamente identificados, provenientes de uma mesma localidade ou, ao menos, em regiões próximas de áreas da localidade tipo ou de distribuição sabidamente ocupadas pelas espécies. Os métodos estatísticos utilizados serão descritos a seguir.

Estatística univariada

Foram calculados, para cada espécie, a média e o desvio padrão para todos os caracteres medidos. Para o estudo da variação etária e para avaliar as diferenças entre as espécies, foi realizada a análise de variância univariada (Sokal e Rolf, 1981) e o Teste *t* de Student com as medidas cranianas obtidas.

Estatística multivariada

Para descrever a distribuição dos indivíduos no espaço multivariado de caracteres foi utilizada a Análise dos Componentes Principais (ACP) (Pearson, 1901; Neff e Marcus, 1980; Manly, 1994). Esta análise é realizada com as medidas logaritimizadas, a fim de normalizar a distribuição das variáveis e homogeneizar as variâncias, tornando-as independentes das médias e preservando as alometrias (Jolicouer, 1963; Sokal e Rohlf, 1981). Uma matriz de variância/covariância foi gerada relacionando as medidas transformadas para cada espécie e estas matrizes foram então submetidas à ACP.

A ACP é capaz de resumir um número *n* de variáveis relacionadas em um mesmo número *n* de variáveis ortogonais e independentes denominadas componentes principais. Os componentes principais são ordenados de forma diretamente proporcional à variabilidade dos dados, ou seja, o primeiro componente possuirá a maior variância, o segundo

componente a segunda maior variância, seguindo a ortogonalidade entre os componentes. O objetivo desta análise é verificar se alguns componentes podem explicar a maior parte da variação nos dados originais, tentando reduzir em poucas dimensões a maioria da variabilidade apresentada por um grande número de vetores (Monteiro e Reis, 1999).

Para confirmar a classificação de cada indivíduo com a sua espécie realizada *a priori* com base em caracteres externos qualitativos será empregada a Análise das Funções Discriminantes (AFD) para testar a significância dos agrupamentos encontrados. A AFD torna possível explicar como dois ou mais grupos de espécies podem ser separados simultaneamente a partir de várias medidas. O percentual de casos corretamente agrupados é um indicativo de quão bem os grupos podem ser separados a partir das variáveis. (Neff e Marcus, 1980; Manly, 1994).

Alometria

Alometria bivariada

Um dos procedimentos estatísticos mais comuns em biologia comparativa é o ajuste de uma reta para representar o padrão de associação entre duas variáveis (Smith, 2009). Para analisar relações entre variáveis contínuas é usada a regressão. O exemplo mais comum para este caso é a alometria. Nos estudos alométricos, o interesse é encontrar a linha que melhor descreve a relação de um conjunto de dados bivariados (Fairbairn, 1997). A alometria é o estudo das consequências do tamanho na forma (Gould, 1966). Neste contexto, o tamanho pode ser interpretado como uma covariável ou variável latente.

Os dados obtidos no presente estudo foram analisados pela equação alométrica

$$Y=aX^b$$

Onde:

Y é o traço observado

X é a variável latente

b é o coeficiente alométrico

a é a inclinação da reta

A equação foi utilizada na sua forma logaritmizada ($\ln y= \ln a + b \ln x$). A transformação para a escala logarítmica é usada para que a relação entre as duas covariáveis (X e Y) seja expressa como uma relação linear – uma reta -, o que simplifica a estimativa.

Dados os interesses particulares dos estudos da alometria, são requeridas alternativas à regressão linear, porque as linhas são usualmente ajustadas para estimar como um traço

observado muda em relação ao outro mais do que para prever o valor de uma variável a partir da outra (Warton *et al.*, 2006; Smith, 2009). Nas análises de alometria é amplamente reconhecido que a regressão linear simples não é apropriada, pois subestima a verdadeira inclinação alométrica, já que o método atribui todas as medidas de erro para a variável Y, ou seja, os resíduos são medidos só na vertical, sendo que nos casos de medidas morfométricas o erro está nas duas variáveis: X e Y (Bonduriansky, 2006). Por isso têm sido propostos outros métodos que podem ser mais adequados nestes casos, por exemplo, o método de Standardized Major Axis (SMA) e o Reduced Major Axis (RMA) que são úteis quando sabemos que a variável X também tem erro de medida associado. Estas técnicas são baseadas no cálculo de um eixo principal (“*major axis*”, equivalente a primeira componente principal) padronizado que minimiza a soma dos quadrados das menores distâncias das amostras em relação ao eixo. Neste caso, a distância mais curta desde um ponto até a linha é perpendicular, ou seja, neste método os resíduos são medidos perpendicularmente à linha (Warton *et al.*, 2006). De maneira geral, o tipo de crescimento é estabelecido a partir do valor do coeficiente alométrico “b”, podendo ser isométrico (b=1), alométrico positivo (b>1) ou alométrico negativo (b<1).

No presente estudo, a variável comprimento canino-molar foi considerada a variável do eixo X para o cálculo da alometria bivariada, pois ela foi a que melhor seguiu a mesma direção do PC1 em comum para as três espécies, enquanto as outras variáveis biométricas foram consideradas as variáveis do eixo Y. Duas variáveis (comprimento e largura do forâmen) foram excluídas das análises alométricas pois para algumas espécies não apresentaram os autovalores com sinal positivo, não seguindo a mesma direção do PC1 (tamanho). Foi utilizada para as análises a técnica *reduced major axis* (RMA) no software R com o pacote “smatr” (Warton *et al.* 2012).

Alometria multivariada

A Análise dos Componentes Principais pode também ser utilizada para investigar processos de divergência morfológica, empregando o modelo alométrico multivariado de Jolicoeur (1963), que tem como hipótese nula a alteração da forma em função do tamanho, onde cálculo do coeficiente alométrico multivariado (CAM) baseia-se na fórmula:

$$CAM = p / \sqrt{1/n}$$

Onde, “p” representa os coeficientes do CP1 normalizados e “n” o número de variáveis.

Em uma amostra formada por uma série ontogenética, é esperado que a maior variação encontrada entre os indivíduos seja a de tamanho, gerada pelo crescimento. A relação alométrica entre as medidas utilizadas e a variável latente tamanho pode ser então analisada a partir da variação dos autovetores do primeiro Componente Principal (PC1). Para ocorrer o crescimento isométrico em um organismo, todos os autovetores precisam apresentar igual magnitude. Strauss e Bookstein (1982) sugeriram o reescalonamento dos autovetores do PC1 para que a soma de seus quadrados iguale o número de variáveis. Esse processo transforma o parâmetro de isometria para 1, facilitando a visualização dos resultados e é semelhante à proposta de Alberch *et al.*, (1979) para o cálculo da alometria bivariada. Sendo assim, o PC1 seria então correspondente à variável que sumariza toda a variação contida na amostra. Os componentes principais restantes seriam então referentes às modificações relacionadas com a forma (Mossimann, 1960). Assim como na alometria bivariada, os valores dos coeficientes de alometria quando maiores que 1 descrevem alometria positiva e os valores menores 1 indicam alometria negativa (Jolicoeur, 1963).

O modelo alométrico multivariado pode ser utilizado no teste de hipóteses evolutivas. Por exemplo, Strauss (1984) mostrou que as diferenças morfológicas na estrutura trófica, de vários gêneros de peixes da subfamília Haplochrominae, podem ser explicadas em termos de equivalência funcional. Os diferentes tipos morfológicos, associados a dietas diferentes, são função da diferença em tamanho dos peixes, tornando desnecessárias adaptativas envolvendo elementos particulares da estrutura trófica. Este tipo de estudo mostra a importância da análise de alterações evolutivas como um todo, e como questões evolutivas podem ser focalizadas em seu próprio nível de explicação. Sendo assim, perguntas adaptativas podem ser feitas com relação a evolução do tamanho, e não necessariamente com relação ao ambiente. Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo de evolução craniana em roedores, onde a semelhança craniana é aparentemente determinada por trajetórias ontogenéticas que convergem com o aumento em tamanho no crânio (Reis *et al.*, 1988).

Análise Molecular

O DNA das amostras de fígado e músculo preservado em etanol 100% foi extraído pelo método de fenol-clorofórmio com modificações (Sambrook e Russel, 2001). A qualidade do DNA foi observada em gel de agarose 0,8% e o material foi quantificado em espectrofotômetro da marca NanoDrop - 1.000 Spectrophotometer (Thermo Scientific) para verificação da concentração e pureza da amostra.

O marcador MT-CYB completo (1140pb) foi amplificado por PCR usando iniciadores L14724 e Cytb rev (Tabela 1).

Tabela 1: Iniciadores usados para amplificar (sublinhado) e sequenciar o gene MT-CYB, com a sequência discriminada, a posição do iniciador e a fonte; 1= Casado *et al.* (2010); 2= Cassens *et al.* (2000); 3= Irwin *et al.* (1991); 4= Menezes *et al.* (2010); 5= Bonvicino *et al.* (2001).

INICIADOR	SEQUÊNCIA	POSIÇÃO	FONTE
<u>Cytb ver</u>	5'-GAATATCAGCTTTGGGTGTTGRTG	<i>Reverse</i>	1
Sot in1	5'-CAYGAAACAGGATCYAAYAA	<i>Reverse</i>	2
Sot in2	5'-TGAGGACAAATATCATTYTGAG	<i>forward</i>	2
<u>L14724</u>	5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG	<i>forward</i>	3
Alo aot R	5'-ATYAAACCAGAATGATAYTTCC	<i>reverse</i>	4
Alo aot F	5'-CATGAGGCCAAATATCATTCTGAGG	<i>forward</i>	4
Citb alo	5'-ATAGCCACAGCATTTCATAGGC	<i>forward</i>	5

A reação de amplificação foi feita nas seguintes condições: desnaturação inicial 94°C por 2m, seguida de 35 ciclos de desnaturação 94°C por 30s, anelamento 50°C por 30s e extensão 72°C por 45s, extensão final 72°C por 5m e incubação 8°C. Os produtos amplificados foram purificados com o conjunto de reagentes de purificação GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification kit (Amersham Biosciences), seguindo a recomendação do fabricante.

Os produtos purificados foram submetidos à eletroforese em tampão NaOH em gel de agarose 1,5%, e observados e foto documentados em um transiluminador com luz ultravioleta. Com a confirmação do sucesso da purificação, foram submetidos ao sequenciamento. A reação de sequenciamento foi feita em placa utilizando o conjunto de reagentes BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), iniciadores a 3,2 pmol, produto purificado 1-3ng, completando com água destilada para um volume final de 10ul. A reação foi realizada em termocicladores nas seguintes condições: desnaturação inicial 96°C por 1m, seguida de 35 ciclos de desnaturação 96°C por 15s, anelamento 50°C por 15s e extensão 60°C por 4m, e incubação 8°C. A placa foi entregue em uma plataforma genômica para precipitação e posterior corrida em um sequenciador automático ABI3130xl.

Após serem extraídos do sequenciador, os arquivos das sequências foram analisados e editados utilizando o programa ChromasPro (Maccarthy, 1998) e as sequências foram concatenadas e alinhadas utilizando o programa MEGA versão 5 (Tamura *et al.*, 2011). Para análises filogenéticas foram sequenciadas amostras de *Callithrix penicillata*, *C. aurita*, *C.*

kuhlii, *Mico emiliae* e *Saguinus mystax*, estas duas últimas utilizadas como grupo externo. Adicionalmente, foram obtidas sequências em banco de dados online (GenBank) de *Callithrix penicillata*, *C. jacchus*, *C. kuhlii* e *C. geoffroyi*, conforme discriminado na tabela 2. Como grupo externo foram utilizadas as espécies *Mico emiliae* e *Saguinus mystax*. A análise molecular foi realizada com o objetivo de fornecer um suporte maior na comparação com os dados morfológicos.

Tabela 2: Listas das amostras utilizadas nas análises filogenéticas, discriminando o número de campo ou número de acesso do GenBank, o táxon, e a localidade.

Número	Espécie	Localidade
ZOOSP01031991	<i>C. penicillata</i>	Zoológico de São Paulo
CRB2587	<i>C. aurita</i>	SP, Cunha
CPRJ1016	<i>C. kuhlii</i>	Centro de Primatologia do Rio de Janeiro
CRB561	<i>Mico emiliae</i>	RO: Arequemes
CPRJ1621	<i>Saguinus mystax</i>	Centro de Primatologia do Rio de Janeiro
CPRJ452	<i>C. kuhlii</i>	Centro de Primatologia do Rio de Janeiro
NC_027658.1	<i>C. penicillata</i>	Indisponível
AF295586	<i>C. jacchus</i>	Indisponível
AY434079	<i>C. jacchus</i>	Indisponível
NC_027658.1	<i>C. kuhlii</i>	Indisponível
NC_021941.1	<i>C. geoffroyi</i>	Indisponível
HM368005	<i>C. geoffroyi</i>	Alemanha, Desdren ZOO

A distância genética foi estimada usando o algoritmo de distância Kimura-2-parâmetros com o programa MEGA5. As análises de máxima verossimilhança (ML) com o *MT-CYB* foram realizadas usando o modelo evolutivo TrN + I, escolhido para cada conjunto de dados pelo teste AIC - Critério de Informação de Akaike (Akaike, 1973) pelo programa Model Generator 0.85 (Keane *et al.*, 2006). Os suportes para os nós foram obtidos por *bootstrap* com 1000 réplicas.

Resultados

Foi analisado um total de 524 exemplares de crânios pertencentes às três espécies: *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*. As três espécies apresentam a morfologia do crânio muito semelhante, com poucas distinções qualitativas. Todos os espécimes tiveram sua identificação taxonômica confirmada através de morfologia craniana e da pelagem seguindo literatura especializada e os crânios que foram medidos estão dispostos na tabela 3, de acordo com a categoria etária e a espécie.

Tabela 3: Número amostral de espécimes medidos, especificando as classes de idade, de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*.

	<i>C. kuhlii</i>	<i>C. penicillata</i>	<i>C. geoffroyi</i>
Classe I	22	0	0
Classe II	18	7	1
Classe II	61	3	2
Classe IV	49	4	3
Classe V	107	24	14
Classe VI	107	42	7
Classe VII	24	14	3
N total	388	94	29

Variação sexual

A maioria dos espécimes depositados na coleção não possuía nas etiquetas a informação sobre o sexo. Como não é conhecido por estudos anteriores dimorfismo sexual para nenhuma das espécies do gênero (Hershkovitz, 1977; Stevenson e Rylands, 1988), as análises foram realizadas para todos os espécimes sem distinção sexual.

Classificação etária

Os crânios analisados, em diferentes estágios etários, da espécie *Callithrix kuhlii* (Fig. 4) foram classificados em sete categorias etárias com base em caracteres craniodentários e de suturas cranianas (Tabela 4).

Tabela 4: Classificação etária de *Callithrix kuhlii* com base em caracteres craniodentários.

Classe etária	Descrição
Classe I	Dentição decídua eclodindo ou completa, sem molares, suturas cranianas incompletas.
Classe II	Caninos e pré-molares decíduos, com um molar presente, suturas cranianas incompletas.
Classe III	Caninos e pré-molares decíduos, com dois molares presentes, suturas cranianas incompletas. Dentes sem desgaste.
Classe IV	Dentição permanente incompleta, com dois molares, três pré-molares e canino permanente eclodindo, suturas cranianas incompletas. Dentes sem desgaste.
Classe V	Dentição permanente completa. Sutura basisfenóide fechada.

Sutura esfenovomeriana ainda aberta. Dentes com pouco ou sem desgaste.

Classe VI Dentição permanente completa. Sutura basisfenóide fechada. Sutura esfenovomeriana ainda aberta. Dentes com pouco desgaste. Crista sagital começando a aparecer.

Classe VII Dentição permanente completa. Sutura basisfenóide fechada. Sutura esfenovomeriana fechada. Dentes com desgaste, principalmente os superiores. Crista sagital bem aparente.

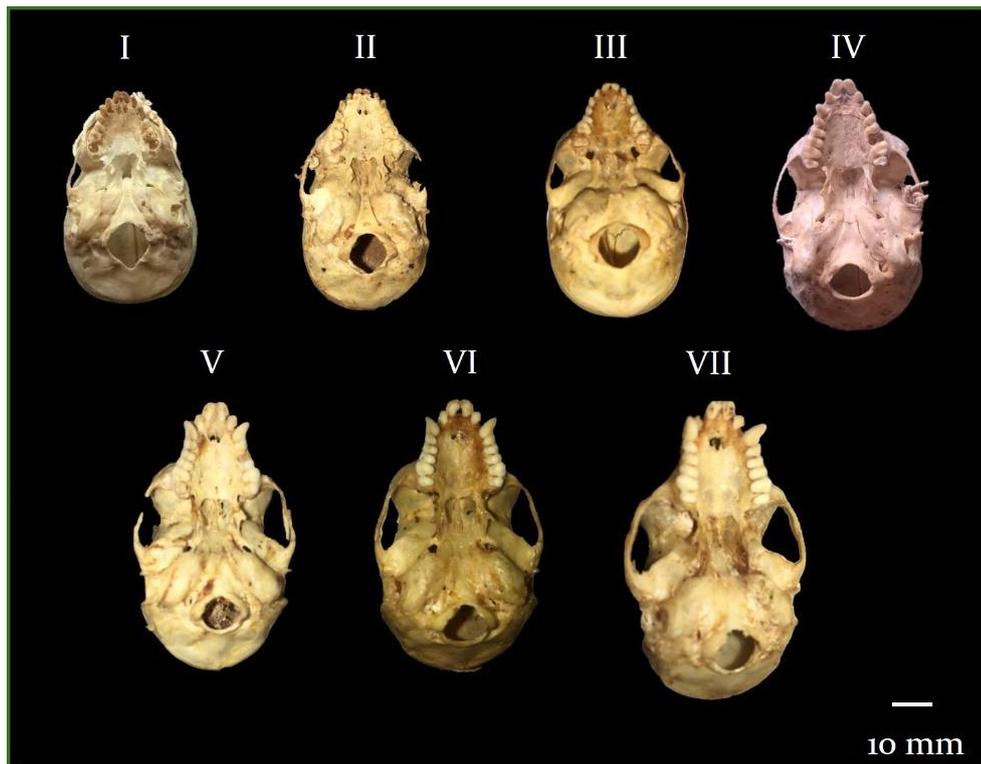


Figura 4: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix kuhlii*.

Os crânios em diferentes estágios de desenvolvimento foram observados e selecionados em categorias seguindo os caracteres pré-estabelecidos para *C. kuhlii*. Foram observados indivíduos a partir da Classe etária II para *C. penicillata* (Fig. 5) e *C. geoffroyi* (Fig. 6).

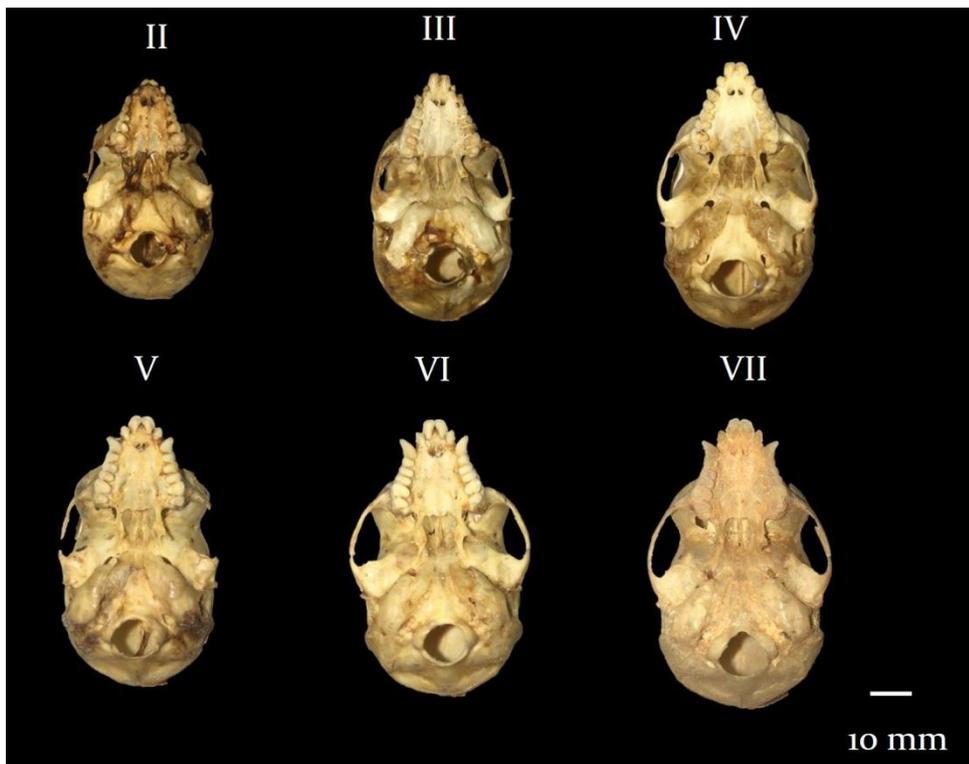


Figura 5: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix penicillata*.

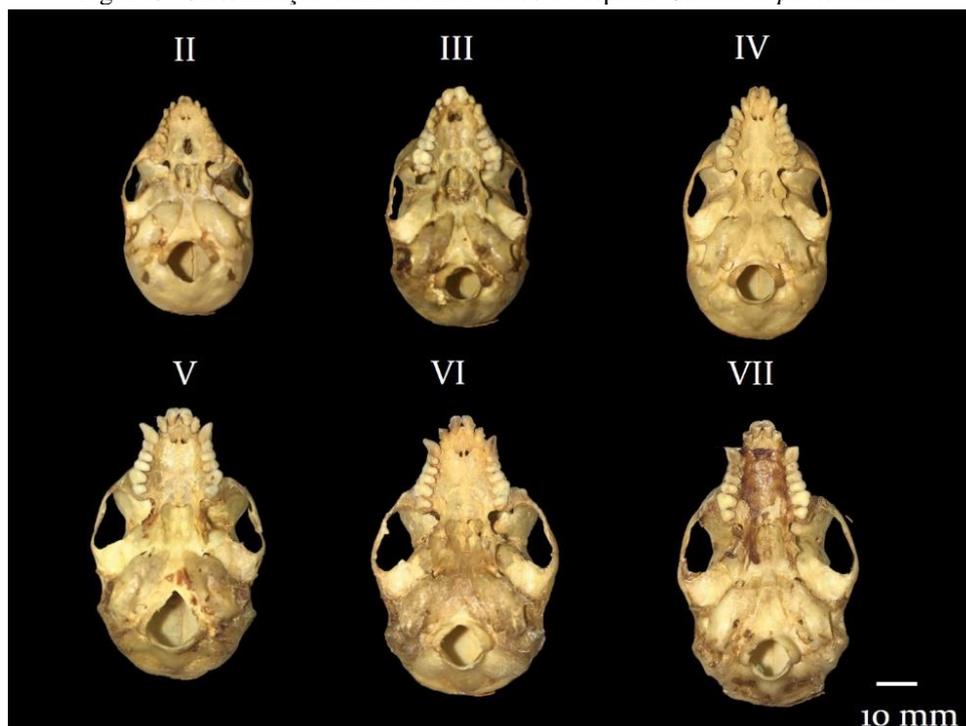


Figura 6: Classificação etária de indivíduos da espécie *Callithrix geoffroyi*.

Análise qualitativa do topotipo de *Callithrix kuhlii*

O topotipo de identificação MNRJ 23794 que possui a mesma localidade do espécime tipo (Passuí, Belmonte, Bahia) que segundo Coimbra-Filho *et al.* (2006) foi perdido, foi analisado no presente estudo e se assemelha aos indivíduos de Ilhéus, porém o

alto da cabeça é mais claro (Fig. 7). O espécime MNRJ 23794 trata-se apenas de pele, sem crânio ou esqueleto, de um indivíduo adulto.



Figura 7: Diferença observada na coloração da pelagem na região do alto da cabeça entre o topótipo de *Callithrix kuhlii* e um indivíduo de ilhéus. À esquerda o indivíduo de ilhéus (MNRJ 11036) e à direita o topótipo (MNRJ 23798).

Análises quantitativas da variação etária

Estatística descritiva de *Callithrix kuhlii*

O resultado da estatística descritiva univariada entre as categorias etárias é apresentado na tabela 5. Na ANOVA e no teste t de Student, oito das dez medidas apresentaram diferenças significativas entre as classes I e II, e IV e V, sendo elas: o comprimento total do crânio, a largura total do crânio, a distância intraorbital, a distância extraorbital, a largura da mandíbula, a altura da mandíbula, o comprimento canino-molar e o comprimento do arco zigomático. Entre as classes III e IV apenas três das dez medidas não apresentaram diferenças significativas: o comprimento canino-molar, a altura da mandíbula e a largura do forâmen magno. Já entre as classes II e III, e V e VI seis das dez medidas apresentaram diferenças significativas, sendo para as classes II e III: o comprimento total do crânio, a largura total do crânio, a distância intraorbital, a distância extraorbital, o comprimento canino-molar e o comprimento do arco zigomático, e para as classes V e VI: o comprimento total do crânio, a largura total do crânio, a distância intraorbital, a distância extraorbital, a largura da mandíbula e o comprimento do arco zigomático. Por fim, entre as classes VI e VII apenas duas das dez medidas apresentaram diferenças significativas e foram elas o comprimento total do crânio e a altura da mandíbula (Tabela 6).

Estatística descritiva de *Callithrix penicillata*

O resultado da estatística descritiva univariada entre as categorias etárias é apresentado na tabela 7. Na ANOVA e no teste t de Student, quatro das dez medidas apresentaram diferenças significativas entre as classes V e VI, e VI e VII sendo elas para V e VI: distância intraorbital, distância extraorbital, comprimento do forâmen magno e comprimento do arco zigomático, e já para VI e VII: o comprimento total do crânio, a largura total do crânio, a distância intraorbital e a distância extraorbital. Entre as classes II e III, e III e IV três das dez medidas apresentaram diferenças significativas, sendo para as classes II e III: comprimento total do crânio, largura total do crânio e distância extraorbital, e para as classes III e IV: distância intraorbital, distância extraorbital e comprimento do forâmen magno. Por fim, entre as classes V e VI apenas o comprimento total do crânio apresentou diferença significativa (Tabela 8).

Estatística descritiva de *Callithrix geoffroyi*

O resultado da estatística descritiva univariada entre as categorias etárias é apresentado na tabela 9. Na ANOVA e no teste t de Student, duas das dez medidas apresentaram diferenças significativas entre as classes III e IV, IV e V, e VI e VII sendo para as classes III e IV o comprimento total do crânio e a altura da mandíbula, e para as classes IV e V, e VI e VII: a largura total do crânio e a largura da mandíbula. Por fim, entre as classes V e VI o comprimento total do crânio, a largura total do crânio, a distância extraorbital e o comprimento do arco zigomático mostraram diferenças significativas (Tabela 10). A classe II não foi incluída nas análises estatísticas pois foi analisado apenas um indivíduo.

Tabela 5: Estatística descritiva das medidas cranianas entre todas as classes etárias de *Callithrix kuhlii* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL=143.

	I N=22	II N=19	III N=26	IV N=27	V N=28	VI N=27	VII N=24
CT	39.60 ± 1.97 (34.1 – 43.3)	42.00 ± 1.28 (38.7 – 43.9)	45.45 ± 1.88 (39.7 – 46.6)	44.95 ± 1.15 (42.9 – 47.4)	46.24 ± 1.08 (43.7 – 47.9)	47.32 ± 0.68 (46.0 – 49.0)	47.94 ± 0.96 (44.8 – 49.3)
LT	22.40 ± 0.65 (21.1 – 23.8)	23.45 ± 0.72 (22.0 – 25.2)	24.21 ± 0.96 (22.0 – 26.4)	25.10 ± 0.76 (23.6 – 26.6)	26.25 ± 0.61 (24.9 – 27.2)	27.13 ± 0.61 (25.7 – 28.1)	27.30 ± 0.78 (26.1 – 28.8)
DOI	19.98 ± 0.93 (17.5 – 21.2)	21.17 ± 0.43 (20.5 – 21.9)	21.88 ± 0.65 (20.4 – 23.2)	22.70 ± 0.65 (21.6 – 24.2)	23.46 ± 0.73 (22.4 – 24.9)	24.00 ± 0.52 (22.6 – 24.6)	24.09 ± 0.71 (22.6 – 25.6)
DOE	20.69 ± 0.89 (19.1 – 22.7)	22.16 ± 0.59 (21.0 – 23.2)	22.99 ± 0.80 (21.1 – 24.5)	24.00 ± 0.56 (22.9 – 25.5)	25.43 ± 0.78 (23.9 – 26.8)	26.07 ± 0.65 (25.0 – 27.2)	26.27 ± 0.70 (25.1 – 27.7)
LM	20.44 ± 1.78 (14.0 – 22.8)	22.14 ± 0.92 (19.9 – 23.2)	22.87 ± 1.03 (19.4 – 24.9)	23.92 ± 0.89 (22.6 – 25.6)	25.07 ± 1.12 (22.0 – 26.8)	25.74 ± 0.74 (24.5 – 27.4)	26.04 ± 0.77 (24.8 – 27.5)
AM	6.97 ± 0.68 (5.5 – 8.0)	7.90 ± 0.54 (6.9 – 8.9)	8.18 ± 0.69 (6.8 – 9.6)	8.42 ± 0.48 (7.4 – 9.5)	9.36 ± 0.62 (8.4 – 10.6)	9.60 ± 0.55 (8.6 – 11.0)	9.96 ± 0.61 (8.6 – 11.1)
CCM	7.19 ± 0.29 (6.6 – 7.7)	9.27 ± 0.58 (7.4 – 10.2)	10.47 ± 1.38 (6.6 – 12.0)	11.01 ± 0.53 (9.8 – 12.0)	11.72 ± 0.48 (10.7 – 12.9)	11.78 ± 0.47 (11.1 – 12.9)	11.78 ± 0.38 (11.1 – 12.5)
CFM	6.49 ± 0.86 (4.6 – 7.9)	6.95 ± 0.67 (5.3 – 8.0)	7.06 ± 0.60 (5.3 – 7.8)	6.51 ± 0.45 (5.3 – 7.3)	6.39 ± 0.48 (5.4 – 7.3)	6.35 ± 0.61 (5.0 – 7.8)	6.34 ± 0.56 (5.2 – 7.2)
LFM	6.57 ± 0.48 (5.5 – 7.5)	7.23 ± 0.43 (5.9 – 7.3)	6.80 ± 0.41 (6.1 – 7.4)	6.82 ± 0.35 (5.9 – 7.3)	6.76 ± 0.33 (6.2 – 7.3)	6.85 ± 0.36 (6.1 – 7.5)	6.80 ± 0.45 (5.6 – 7.6)
AZ	7.62 ± 0.80 (6.2 – 8.8)	8.47 ± 0.61 (7.5 – 9.7)	9.30 ± 0.70 (7.8 – 10.5)	9.95 ± 0.60 (8.5 – 10.9)	10.82 ± 0.56 (9.5 – 11.9)	11.42 ± 0.57 (10.1 – 12.4)	11.50 ± 0.38 (10.8 – 12.1)

Tabela 6: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix kuhlii*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas (p<0,05).

	Classe I x Classe II		Classe II x Classe III		Classe III x Classe IV		Classe IV x Classe V		Classe V x Classe VI		Classe VI x Classe VII	
	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>
CT	0,00005	20.5603	0.005711	8.46518	0.001065	12.04722	0.000043	19.86611	0.000041	20.03646	0.009980	7.174623
LT	0,00001	24.0817	0.006075	8.33040	0.000516	13.74843	0.000001	34.33132	0.000001	29.88949	0.406949	0.699447
DOI	0,00001	26.7258	0.000173	16.90935	0.000055	19.35772	0.000078	18.34685	0.002415	10.15353	0.621257	0.247166
DOE	0,00001	37.4143	0.000424	14.59409	0.000005	25.89005	0.000001	60.92771	0.002084	10.47960	0.395482	0.734611
LM	0,00058	14.0117	0.017834	6.06912	0.000169	16.47921	0.000094	17.86244	0.008365	7.50483	0.196765	1.711565
AM	0.00002	22.9734	0.143638	2.21880	0.155656	2.07690	0.000001	40.85755	0.118593	2.51672	0.027122	5.183131
CCM	0,00001	217.5566	0,000902	12.72115	0,065860	3.53348	0,000002	28.54610	0.724755	0.12530	0.909544	0.013025
CFM	0,06211	3.6889	0.568685	0.32994	0.000847	12.57789	0.206909	1.63262	0.897187	0.01686	0.991256	0.000121
LFM	0.29259	1.1382	0.604610	0.27209	0.747559	0.10472	0.659134	0.19678	0.483567	0.49778	0.682904	0.168836
AZ	0.00058	14.0362	0.000142	17.44519	0.000784	12.75965	0.000001	32.04516	0.000195	16.02749	0.681905	0.169965

Tabela 7: Estatística descritiva das medidas cranianas entre as classes etárias de *Callithrix penicillata* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL= 37.

	II N=7	III N=3	IV N=4	V N=7	VI N=8	VII N=8
CT	40.77 ± 0.49 (40.0 – 41.4)	42.80 ± 0.1 (42.7 – 42.9)	43.78 ± 0.80 (43.2 – 44.9)	43.19 ± 1.04 (41.0 – 43.9)	44.94 ± 0.77 (43.9 – 45.9)	46.73 ± 0.41 (46.0 – 47.1)
LT	22.87 ± 0.54 (22.3 – 23.7)	23.76 ± 0.41 (23.3 – 24.1)	24.48 ± 1.01 (23.4 – 25.8)	24.71 ± 0.74 (23.8 – 25.7)	26.25 ± 1.43 (24.1 – 27.9)	26.94 ± 0.91 (25.4 – 27.9)
DOI	20.63 ± 0.30 (20.4 – 21.2)	20.47 ± 0.15 (20.3 – 20.6)	21.90 ± 0.70 (21.3 – 22.8)	22.80 ± 0.65 (21.5 – 24.9)	23.38 ± 0.43 (22.6 – 23.8)	23.28 ± 0.87 (21.3 – 24.2)
DOE	21.73 ± 0.21 (21.5 – 22.1)	22.30 ± 0.35 (22.1 – 22.7)	23.30 ± 0.50 (22.8 – 24.0)	24.27 ± 0.52 (23.5 – 24.9)	25.04 ± 0.67 (23.9 – 25.9)	24.82 ± 0.78 (23.3 – 25.8)
LM	22.07 ± 0.67 (21.0 – 22.9)	23.00 ± 0.26 (22.7 – 23.2)	23.78 ± 0.49 (23.2 – 24.4)	24.03 ± 0.40 (23.4 – 24.6)	24.96 ± 1.12 (23.1 – 26.1)	25.56 ± 0.51 (25.0 – 26.2)
AM	7.53 ± 0.41 (6.9 – 8.1)	7.40 ± 0.20 (7.2 – 7.6)	7.65 ± 0.93 (6.3 – 8.4)	8.24 ± 0.91 (6.9 – 9.6)	8.32 ± 0.51 (7.8 – 9.2)	8.81 ± 0.75 (7.9 – 10.0)
CCM	9.31 ± 0.89 (8.3 – 10.5)	10.37 ± 0.40 (10.0 – 10.8)	10.23 ± 0.10 (10.1 – 10.3)	10.56 ± 0.31 (10.1 – 11.0)	10.70 ± 0.33 (10.3 – 11.3)	10.95 ± 0.45 (10.3 – 11.6)
CFM	5.43 ± 0.56 (4.4 – 6.3)	5.87 ± 0.15 (5.7 – 6.0)	6.50 ± 0.14 (6.4 – 6.7)	5.96 ± 0.41 (5.5 – 6.6)	6.26 ± 0.53 (5.4 – 6.8)	6.49 ± 0.79 (5.4 – 7.6)
LFM	6.31 ± 0.51 (5.4 – 6.9)	6.63 ± 0.32 (6.4 – 7.0)	7.08 ± 0.17 (6.9 – 7.3)	6.57 ± 0.36 (6.0 – 7.0)	7.04 ± 0.32 (6.4 – 7.5)	7.05 ± 0.76 (5.4 – 7.7)
AZ	8.11 ± 0.55 (7.4 – 9.1)	8.87 ± 0.25 (8.6 – 9.1)	9.43 ± 0.33 (9.1 – 9.8)	10.14 ± 0.77 (9.3 – 11.3)	10.5 ± 0.85 (8.7 – 11.4)	11.19 ± 0.57 (10.4 – 11.8)

Tabela 8: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix penicillata*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

	Classe II x Classe III		Classe III x Classe IV		Classe IV x Classe V		Classe V x Classe VI		Classe VI x Classe VII	
	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>
CT	0.000119	48.20080	0.096197	4.18394	0.000104	5.34122	0.553099	0.37956	0.000279	24.22850
LT	0.034513	6.47030	0.312705	1.25963	0.690621	0.40636	0.411765	0.74074	0.006300	10.57748
DOI	0.409309	0.75803	0.018864	11.68774	0.561902	-0.59413	0.010918	10.20807	0.036286	5.44796
DOE	0.011425	10.66667	0.032720	8.57143	0.246447	-1.20964	0.003115	15.99262	0.016247	7.61366
LM	0.052328	5.18405	0.058937	5.93454	0.539724	0.62861	0.245106	1.54624	0.076957	3.68959
AM	0.627999	0.25379	0.674070	0.19915	0.343870	0.97968	0.300685	1.20573	0.675418	0.18347
CCM	0.090795	3.69518	0.516911	0.48571	0.100669	1.75749	0.235744	1.61432	0.366830	0.87423
CFM	0.229028	1.69619	0.002361	32.23214	0.819668	0.23230	0.045867	5.35874	0.095222	3.23732
LFM	0.357651	0.95257	0.062845	5.68393	0.697413	0.39692	0.127234	2.82285	0.177842	2.02941
AZ	0.056443	4.96549	0.059706	5.88336	0.167964	1.45412	0.039445	5.79348	0.139232	2.48115

Tabela 9: Estatística descritiva das medidas cranianas entre as classes etárias de *Callithrix geoffroyi* analisadas (N = número de indivíduos; média ± desvio padrão; limites mínimo e máximo – entre parênteses). nTOTAL= 15.

	III N=2	IV N=3	V N=5	VI N=5	VII N=3
CT	42.10 ± 0.14 (42.0 – 42.2)	45.30 ± 0.57 (44.9 – 45.7)	45.96 ± 0.89 (44.4 – 47.6)	46.35 ± 1.02 (45.0 – 47.4)	48.6 ± 1.14 (47.8 – 49.9)
LT	24.25 ± 0.35 (24.0 – 24.5)	25.9 ± 0.71 (25.4 – 26.4)	26.78 ± 0.54 (24.6 – 28.2)	27.88 ± 0.71 (26.9 – 28.5)	28.07 ± 0.60 (27.5 – 28.7)
DOI	21.80 ± 0.28 (21.6 – 22.0)	23.5 ± 1.13 (22.7 – 24.3)	23.83 ± 0.68 (22.3 – 24.9)	24.38 ± 0.76 (23.3 – 25.1)	24.63 ± 0.21 (24.4 – 24.8)
DOE	22.90 ± 0.42 (22.6 – 23.2)	24.75 ± 1.06 (24.0 – 25.5)	25.34 ± 1.42 (23.9 – 26.8)	26.08 ± 0.95 (24.7 – 26.9)	26.63 ± 0.46 (26.1 – 26.9)
LM	21.35 ± 0.64 (20.9 – 21.8)	23.20 ± 0.57 (22.8 – 23.6)	24.8 ± 0.37 (24.6 – 25.5)	24.33 ± 0.48 (23.7 – 24.7)	26.6 ± 0.79 (25.7 – 27.2)
AM	8.55 ± 0.07 (8.5 – 8.6)	9.35 ± 0.07 (9.3 – 9.4)	9.49 ± 0.40 (8.7 – 10.0)	9.5 ± 0.75 (8.7 – 10.4)	10.43 ± 0.51 (10.0 – 11.0)
CCM	11.00 ± 0.57 (10.6 – 11.4)	11.75 ± 0.92 (11.1 – 12.4)	11.63 ± 0.28 (11.5 – 12.1)	11.85 ± 0.17 (11.7 – 12.1)	12.17 ± 0.31 (11.9 – 12.5)
CFM	6.75 ± 0.35 (6.5 – 7.0)	6.50 ± 0.14 (6.4 – 6.6)	6.38 ± 0.56 (6.0 – 7.2)	6.48 ± 0.25 (6.2 – 6.8)	6.40 ± 0.61 (5.7 – 6.8)
LFM	6.85 ± 0.21 (6.7 – 7.0)	7.00 ± 0.42 (6.7 – 7.3)	6.83 ± 0.51 (6.3 – 7.4)	6.83 ± 0.17 (6.6 – 7.0)	6.77 ± 0.21 (6.6 – 7.0)
AZ	9.95 ± 0.35 (9.7 – 10.2)	10.30 ± 0.57 (9.9 – 10.7)	10.98 ± 0.53 (9.9 – 12.2)	12.00 ± 0.73 (11.4 – 12.9)	12.17 ± 0.23 (11.9 – 12.3)

Tabela 10: Resultado do Teste t de Student e da ANOVA entre as classes de *Callithrix geoffroyi*. Os campos em negrito destacam os caracteres que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

	Classe III x Classe IV		Classe IV x Classe V		Classe V x Classe VI		Classe VI x Classe VII	
	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>
CT	0.016199	60.2353	0.222027	2.08741	0.02769	6.14252	0.040220	0.040220
LT	0.098172	8.7120	0.041126	8.82353	0.03192	5.77276	0.723915	0.723915
DOI	0.175379	4.2500	0.888609	0.02226	0.13990	2.472014	0.600617	0.600617
DOE	0.149144	5.2454	0.604375	0.31537	0,04723	4.802620	0.399592	0.399592
LM	0.091597	9.4414	0.006979	26.01802	0,24099	1.509465	0.005003	0.005003
AM	0.007722	128.000	0.500150	0.54822	0,67453	0.184548	0.126572	0.126572
CCM	0.429373	0.9657	0.875289	0.02797	0,05891	4.285845	0.138252	0.138262
CFM	0.451179	0.8621	0.781560	0.08795	0,80546	0.063185	0.828678	0.828678
LFM	0.698489	0.2000	0.702221	0.16882	0,49504	0.492839	0.699315	0.699315
AZ	0.535394	0.5506	0.181581	2.60870	0,01695	7.491221	0.725600	0.725600

Análise dos componentes principais em *Callithrix kuhlii*

Os três primeiros componentes principais explicam juntos 92,4% de toda a variação mensurada. O primeiro componente principal (PC1) explicou 78,8% da variação total, por se tratar de uma série ontogenética este eixo está relacionado à variação de tamanho (Fig. 8). A maioria dos caracteres estavam correlacionados com este eixo, entretanto os caracteres que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento canino-molar e a altura da mandíbula. Já o segundo componente principal (PC2) explicou 9,81% da variação total. Os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento e a largura do forâmen magno (Tab. 11).

Tabela 11: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix kuhlii*.

	PC1	PC2
CT	0.2808	0.0516
LT	0.3337	0.0702
DOI	0.2927	-0.4640
DOE	0.3912	-0.5154
LM	0.3903	0.2268
AM	0.4179	-0.0885
CCM	0.5525	-0.1273
CFM	-0.0153	0.6584
LFM	-0.0198	0.2070
AZ	0.2715	-0.0196

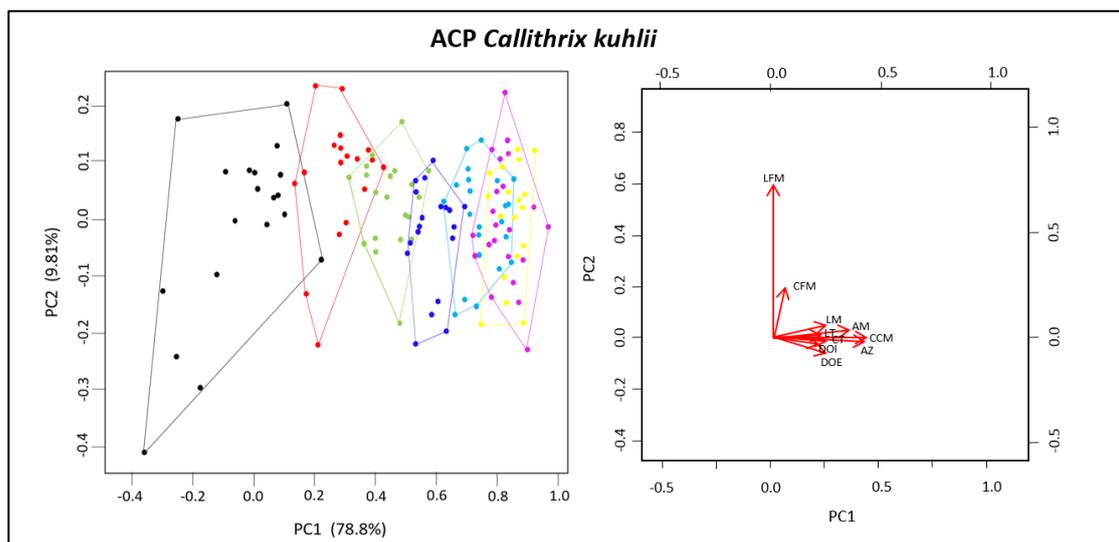


Figura 8: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix kuhlii*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: I, vermelho: II, verde: III, azul escuro: IV, turquesa: V, rosa: VI e amarelo: VII.

Análise dos componentes principais em *Callithrix penicillata*

Os três primeiros componentes principais explicam juntos 89,76% de toda a variação mensurada. O PC1 (tamanho) explicou 59,5% da variação total. Todos os caracteres

apresentaram correlação positiva com este eixo, porém os que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento canino-molar e o comprimento do arco zigomático. Já PC2 (forma) explicou 20,6% da variação total (Fig. 9). Os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento e a largura do forâmen magno (Tab. 12).

Tabela 12: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix penicillata*.

	PC1	PC2
CT	0.3850	0.0921
LT	0.4021	-0.0026
DOI	0.3110	-0.0303
DOE	0.3651	-0.0483
LM	0.3595	0.0123
AM	0.1132	0.0163
CCM	0.4176	-0.0370
CFM	0.0076	0.2793
LFM	0.0329	0.3550
AZ	0.4983	-0.0272

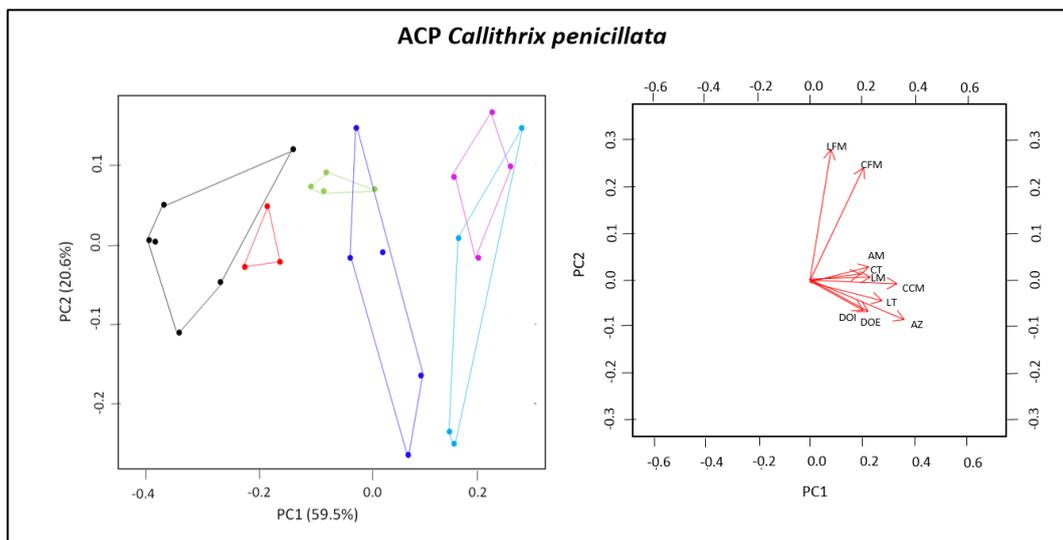


Figura 10: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix penicillata*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: II, vermelho: III, verde: IV, azul escuro: V, turquesa: VI e rosa: VII.

Análise dos componentes principais em *Callithrix geoffroyi*

Os três primeiros componentes principais explicam juntos 88,95% de toda a variação mensurada. O PC1 explicou 70,8% da variação total e todos os caracteres se mostraram positivamente correlacionados, sendo que os que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento canino-molar, a largura da mandíbula e o comprimento do arco zigomático (Fig. 10). Já o PC2 explicou 11,3% da variação total e os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento e a largura do forâmen magno (Tab. 13).

Tabela 13: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética de *Callithrix geoffroyi*.

	PC1	PC2
CT	0.1565	0.0569
LT	0.1582	0.0157
DOI	0.1018	-0.4306
DOE	0.1982	-0.4904
LM	0.2228	0.0569
AM	0.1864	0.0800
CCM	0.2518	-0.0281
CFM	0.0686	0.2300
LFM	0.0303	0.3743
AZ	0.2428	0.0203

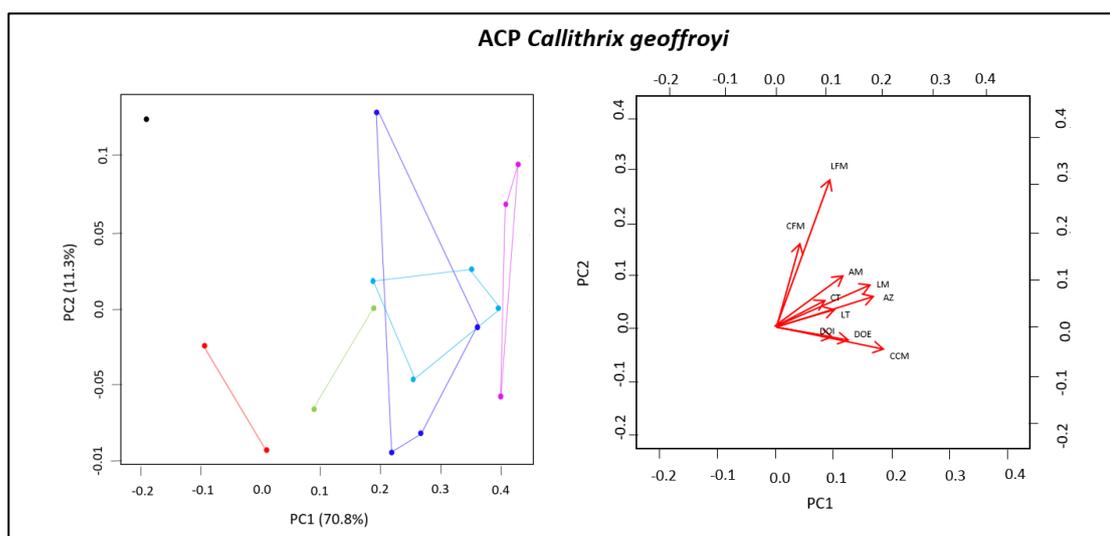


Figura 10: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para *Callithrix geoffroyi*. As cores representam as categorias etárias, onde: preto: II, vermelho: III, verde: IV, azul escuro: V, turquesa: VI e rosa: VII.

Análise dos componentes principais interespecífica

Para as análises entre as três espécies foi utilizada uma amostra balanceada entre elas, incluindo indivíduos pertencentes às classes II, III, IV, V, VI e VII.

Os três primeiros componentes principais explicam juntos 89% de toda a variação mensurada. O PC1 explicou 70,4% da variação total e os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento canino-molar, o comprimento do arco zigomático e a altura da mandíbula. O PC2, por sua vez, explicou 12,9% da variação total e os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento e a largura do forâmen magno.

Tabela 14: Coeficientes dos autovetores da análise ontogenética entre as três espécies de *Callithrix*.

	PC1	PC2
CT	0.1082	0.0801
LT	0.1672	0.0406
DOI	0.1530	-0.0125
DOE	0.2027	-0.0418
LM	0.3301	0.0189
AM	0.2884	0.1911
CCM	0.3727	-0.0710
CFM	0.0304	0.2505
LFM	0.0276	0.3509
AZ	0.2925	0.0580

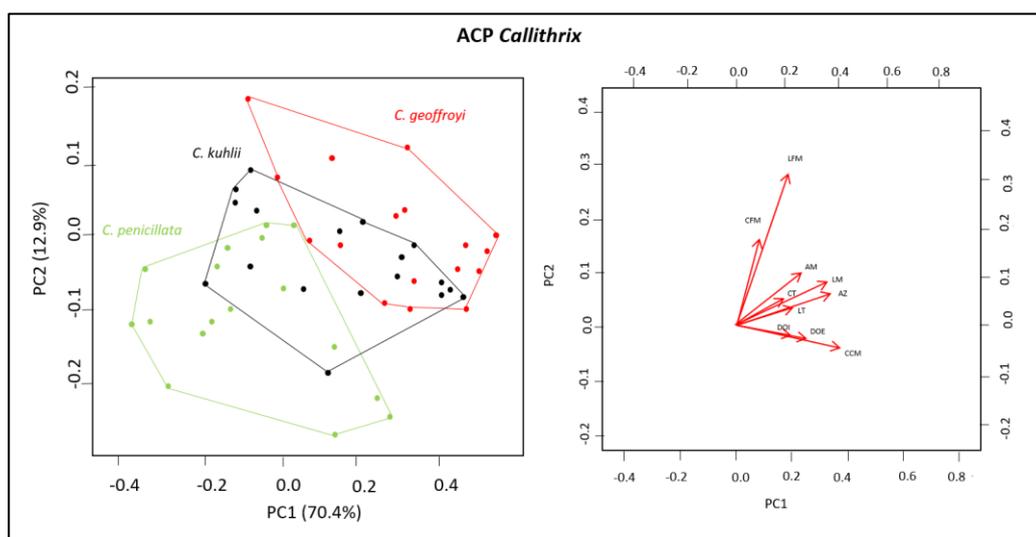


Figura 11: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para as três espécies de *Callithrix* ao longo da ontogenia, onde: preto: *C. kuhlii*, verde: *C. penicillata* e vermelho: *C. geoffroyi*.

Análise dos componentes principais entre os adultos, incluindo *Callithrix jacchus*

Como *C. jacchus* é uma espécie relacionada com as espécies estudadas (muitas vezes revelando relacionamento de grupo irmão com *C. penicillata*) além de todas as espécies do gênero já terem sido consideradas uma subespécie de *C. jacchus*, foi realizada uma análise incluindo os indivíduos adultos de *C. kuhlii*, *C. penicillata*, *C. geoffroyi* e *C. jacchus*. Para isto foi escolhida a classe etária V. Esta escolha foi feita por se tratar da categoria de indivíduos já considerados adultos que continha o maior número amostral possível entre as três espécies estudadas e também por conter apenas indivíduos adultos de *C. jacchus* disponíveis nas coleções visitadas.

Os três primeiros componentes principais explicam juntos 77% de toda a variação mensurada. O PC1 explicou 42,2% da variação total e os caracteres correlacionados que mais

contribuíram para este eixo foram o comprimento canino molar, a largura da mandíbula e o comprimento do arco zigomático. O PC2, por sua vez, explicou 24,4% da variação total e os caracteres correlacionados que mais contribuíram para este eixo foram o comprimento do forâmen magno, a largura do forâmen magno e a altura da mandíbula.

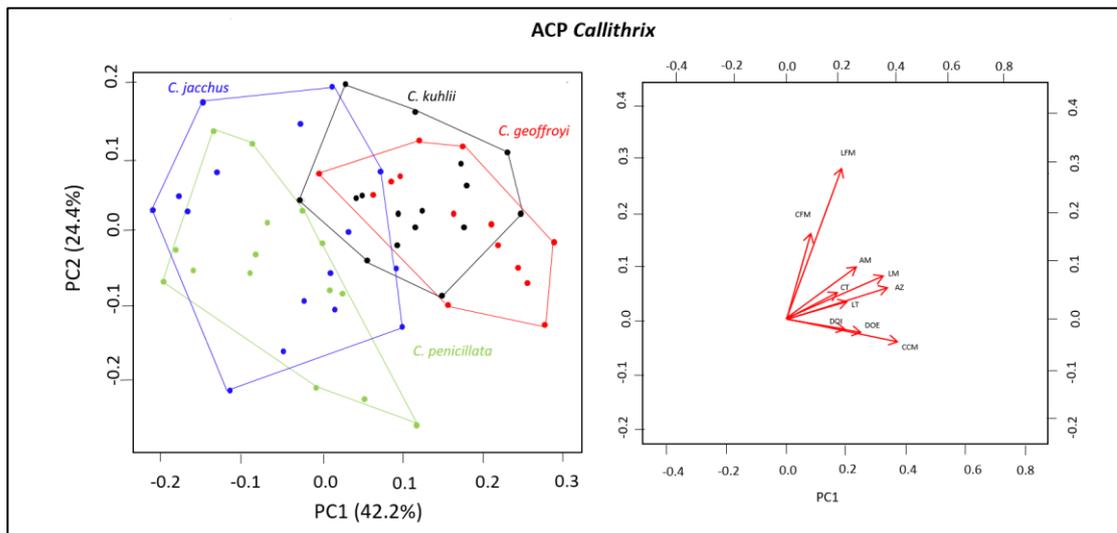


Figura 12: Representação gráfica dos principais componentes e da correlação dos autovetores das medidas cranianas com os dois primeiros Componentes Principais (PC1 e PC2) para as quatro espécies de *Callithrix*, onde: preto: *C. kuhlii*, verde: *C. penicillata*, vermelho: *C. geoffroyi* e azul: *C. jacchus*.

Análise discriminante em *Callithrix kuhlii*

O percentual de cada função discriminante encontrado para *C. kuhlii* foi de 93,9% para FD1 e de 4,6% para FD2. Foram observadas dez variáveis e a análise encontrou seis grupos (Fig. 13). A análise mostrou diferenciação significativa entre os grupos, com baixo valor do Lambda de Wilks (0,021124).

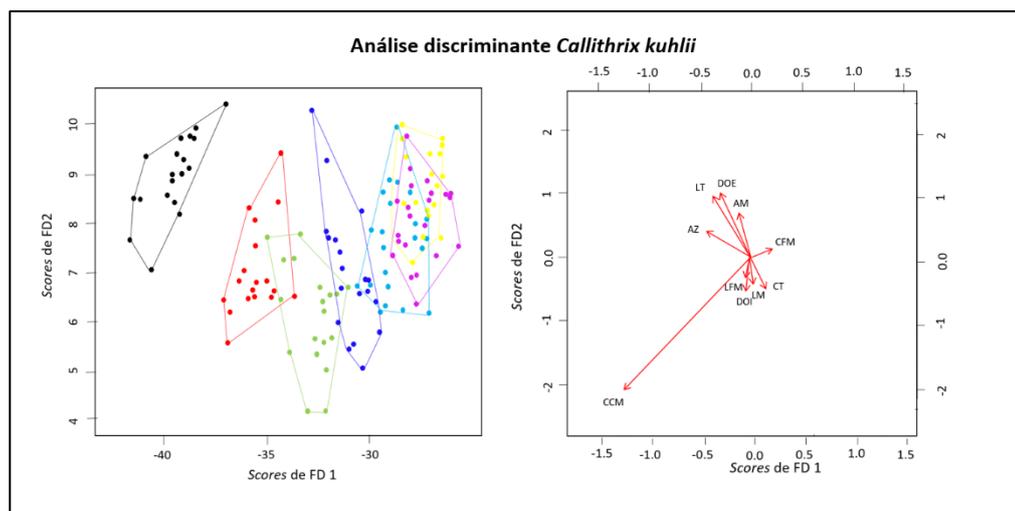


Figura 13: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix kuhlii*. Onde, preto: classe I, vermelho: classe II, verde: classe III, azul: classe IV, turquesa: classe V, rosa: classe VI e amarelo: classe VII. Número de grupos: 6. Lambda de Wilks: 0,021124. Valor de F aproximado= 11.968, $p < 0.00001$.

A tabela 15 mostra a correlação dos coeficientes das funções lineares (FD) com cada variável analisada. As variáveis mais correlacionadas a FD1 foram a distância extraorbital e o comprimento do arco zigomático, já para a FD2 as variáveis largura total do crânio e distância extraorbital se mostraram mais correlacionadas.

Tabela 15: Coeficientes das funções lineares entre as fases etárias de *Callithrix kuhlii*.

	FD1	FD2
CT	0.0247	-0.124
LT	-0.412	0.746
DOI	0.010	-0.410
DOE	0.673	0.779
LM	-0.022	-0.147
AM	-0.159	0.538
CCM	-1.200	-2.063
CFM	0.271	0.117
LFM	-0.051	-0.418
AZ	-0.526	0.328

Análise discriminante em *Callithrix penicillata*

O percentual de cada função discriminante encontrado para *C. penicillata* foi de 86,5% para FD1, de 8,5% para FD2. Foram observadas dez variáveis e a análise encontrou cinco grupos (Fig. 14).

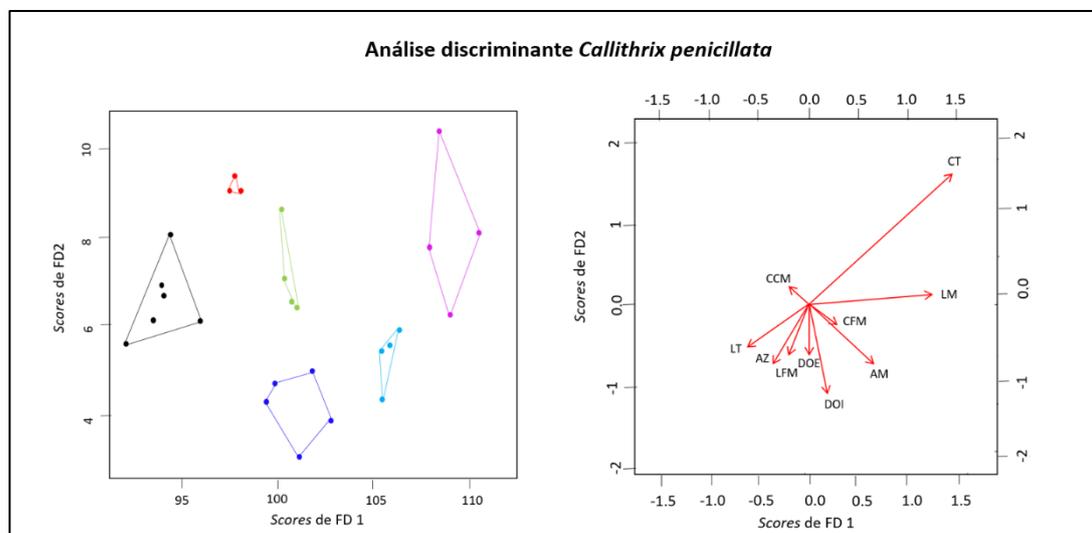


Figura 14: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix penicillata*. Onde, preto: classe II, vermelho: classe III, verde: classe IV, azul: classe V, turquesa: classe VI e rosa: classe VII.

Número de grupos: 5. Lambda de Wilks: 0.0018236. Valor de F aproximado= 3.1974, $p < 0.00001$.

A tabela 16 mostra a correlação dos coeficientes das funções lineares (FD) com cada variável analisada. As variáveis largura total do crânio e altura da mandíbula mostraram maior correlação com a FD1, já para a FD2 as variáveis altura da mandíbula e comprimento do arco zigomático se mostraram mais correlacionadas.

Tabela 16: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix penicillata*.

	FD1	FD2
CT	1.758	1.671
LT	-0.736	-0.535
DOI	0.204	-1.090
DOE	0.056	-0.652
LM	1.500	0.130
AM	0.782	-0.742
CCM	-0.217	0.232
CFM	0.356	-0.265
LFM	-0.281	-0.618
AZ	-0.411	-0.795

Análise discriminante em *Callithrix geoffroyi*

O percentual de cada função discriminante encontrado para *C. geoffroyi* foi de 97,1% para FD1, de 1,9% para FD2. Foram observadas dez variáveis e a análise encontrou cinco grupos, entretanto o valor de p não foi significativo (Fig. 15).

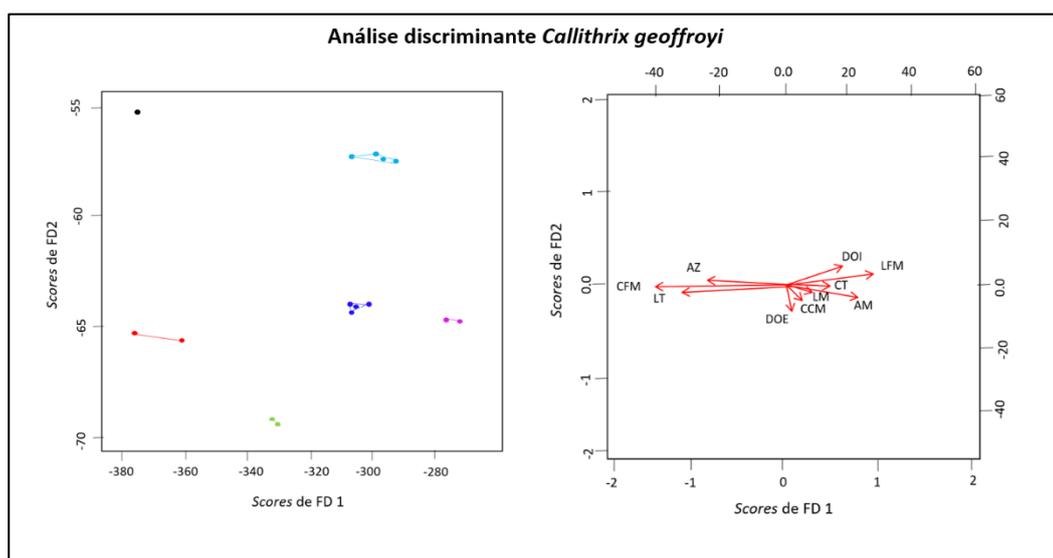


Figura 15: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para as classes etárias de *Callithrix geoffroyi*. Onde, preto: classe II, vermelho: classe III, verde: classe IV, azul: classe V, turquesa: classe VI e rosa: classe VII. Número de grupos: 5. Lambda de Wilks: 1.3029e-07. Valor de F aproximado= 4.9663, p=0.001 (não significativo).

A tabela 17 mostra a correlação dos coeficientes das funções lineares (FD) com cada variável analisada. As variáveis largura da mandíbula e comprimento do forâmen magno mostraram maior correlação com a FD1, já para a FD2 as variáveis largura do forâmen magno e largura total do crânio se mostraram mais correlacionadas.

Tabela 17: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix geoffroyi*.

	FD1	FD2
CT	-0.128	-0.562
LT	-37.97	-2.544
DOI	22.26	1.809
DOE	-4.857	-0.629

LM	15.183	-0.477
AM	31.31	-0.736
CCM	4.201	-0.978
CFM	-50.52	-0.436
LFM	34.150	3.335
AZ	-28.94	1.146

Análise discriminante interespecífica

O percentual de cada função discriminante encontrado entre as espécies foi de 80,3% para FD1, de 1,9% para FD2. Foram observadas dez variáveis e a análise encontrou três grupos com valor de p significativo (Fig. 16).

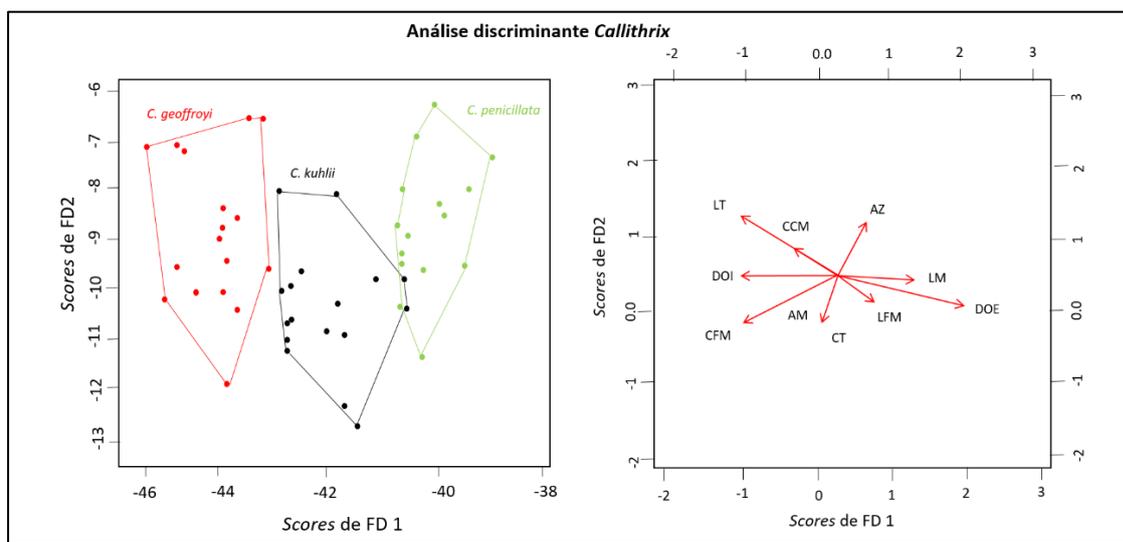


Figura 16: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) ao longo da ontogenia de três espécies. Onde, preto: *Callithrix kuhlii*, verde: *C. penicillata* e vermelho: *C. geoffroyi*. Número de grupos: 3. Lambda de Wilks 0.10775. Valor de F aproximado= 7.3671, $p < 0.00001$.

A tabela 18 mostra a correlação dos coeficientes das funções lineares (FD) com cada variável analisada. As variáveis distância intra e extraorbital mostraram maior correlação com a FD1 enquanto o comprimento total do crânio e do arco zigomático mostraram maior correlação com a FD2.

Tabela 18: Coeficientes das funções lineares entre as classes etárias de *Callithrix*.

	FD1	FD2
CT	-0,322	-0,797
LT	-1,545	0,933
DOI	-1,616	0,004
DOE	1,982	-0,477
LM	1,148	-0,085
AM	-0,799	-0,395
CCM	-0,787	0,494
CFM	-1,583	-0,738
LFM	0,595	-0,387
AZ	0,391	0,800

A tabela 19 mostra as distâncias de Mahalanobis calculadas entre as três espécies estudadas.

Tabela 19: Distância de Mahalanobis entre as espécies de *Callithrix*.

	<i>Callithrix kuhlii</i>	<i>Callithrix geoffroyi</i>	<i>Callithrix penicillata</i>
<i>Callithrix kuhlii</i>	0,00000	11,27059	10,62585
<i>Callithrix geoffroyi</i>	11,27059	0,00000	17,31327
<i>Callithrix penicillata</i>	10,62585	17,31327	0,00000

Análise discriminante entre os adultos, incluindo *Callithrix jacchus*

Assim como foi feito na Análise dos Componentes Principais, foi realizada uma análise incluindo os indivíduos adultos (classe etária V) de *C. kuhlii*, *C. penicillata*, *C. geoffroyi* e *C. jacchus*.

O percentual de cada função discriminante encontrado entre as espécies foi de 73,56% para FD1, de 16,94% para FD2. Foram observadas dez variáveis e a análise encontrou três grupos com valor de p significativo (Fig. 17).

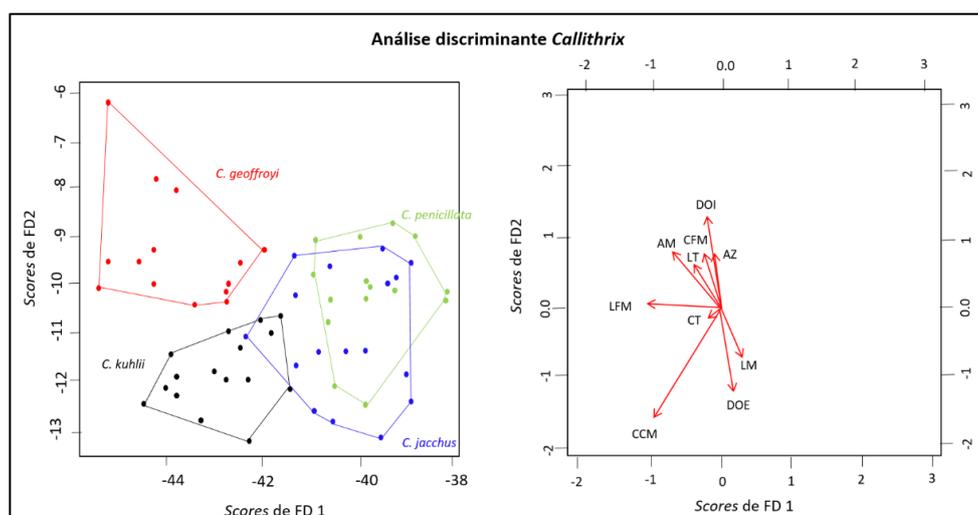


Figura 17: Representação gráfica da análise discriminante e da correlação dos scores das medidas cranianas com os scores das duas primeiras funções discriminantes (FD1 e FD2) para os adultos da classe V das três espécies. Onde, preto: *Callithrix kuhlii*, verde: *C. penicillata*, azul: *C. jacchus* e vermelho: *C. geoffroyi*. Número de grupos: 3. Lambda de Wilks 0.12951. Valor de F aproximado= 5.9311, $p < 0.00001$.

A tabela 20 mostra a correlação dos coeficientes das funções lineares (FD) com cada variável analisada. As variáveis comprimento canino molar e comprimento do forâmen magno mostraram maior correlação com a FD1 e com a FD2.

Tabela 20: Coeficientes das funções lineares entre os adultos de *Callithrix kuhlii*, *C. penicillata*, *C. jacchus* e *C. geoffroyi*.

	FD1	FD2
CT	-0.243	-0.194
LT	-0.608	0.884

DOI	0.023	0.675
DOE	-0.077	-0.480
LM	0.207	-0.569
AM	-0.323	0.726
CCM	-1.424	-2.124
CFM	-0.716	1.364
LFM	-0.639	-0.958
AZ	0.146	0.829

Alometria bivariada

As espécies mostraram as inclinações das trajetórias alométricas diferentes entre si para todos os caracteres analisados (Fig. 18).

Os coeficientes alométricos de *C. kuhlii* e *C. penicillata* analisados pelo teste *t* apresentaram estatística significativa ($p < 0.005$) para todas as variáveis analisadas. Para *C. geoffroyi* foram estatisticamente significativos os caracteres comprimento total do crânio, distância intraorbital, distância extraorbital, altura da mandíbula e comprimento do arco zigomático (Tab. 22, 22 e 23). Para todos os caracteres o valor do coeficiente alométrico foi menor do que 1, mostrando que o crescimento desses é proporcionalmente menor em comparação ao do comprimento canino molar.

Callithrix kuhlii conta com uma maior amostra e com uma classe de idade a mais (classe I), por isso as curvas ontogenéticas bivariadas desta espécie começam antes em comparação com as outras duas.

Nos estágios etários mais jovens, correspondentes ao início da curva alométrica, *C. kuhlii* e *C. penicillata* possuem valores menores para a maioria dos caracteres analisados em relação ao comprimento canino-molar em comparação à *C. geoffroyi*. *C. geoffroyi* é a espécie de divergência mais antiga entre as três, sendo assim, podemos interpretar que houve tendência a redução de tamanho nas linhagens de *C. penicillata* e *C. kuhlii*.

As trajetórias ontogenéticas de *C. kuhlii* apresentam também os ângulos de inclinação da reta menores em relação às outras espécies, o que pode estar evidenciando que essa espécie possui a taxa de crescimento mais lenta que as demais.

C. penicillata mostrou valores maiores que as demais espécies nas medidas relacionadas à mandíbula (altura e largura) em relação ao comprimento canino molar, o que proporciona a *C. penicillata* uma mandíbula mais robusta.

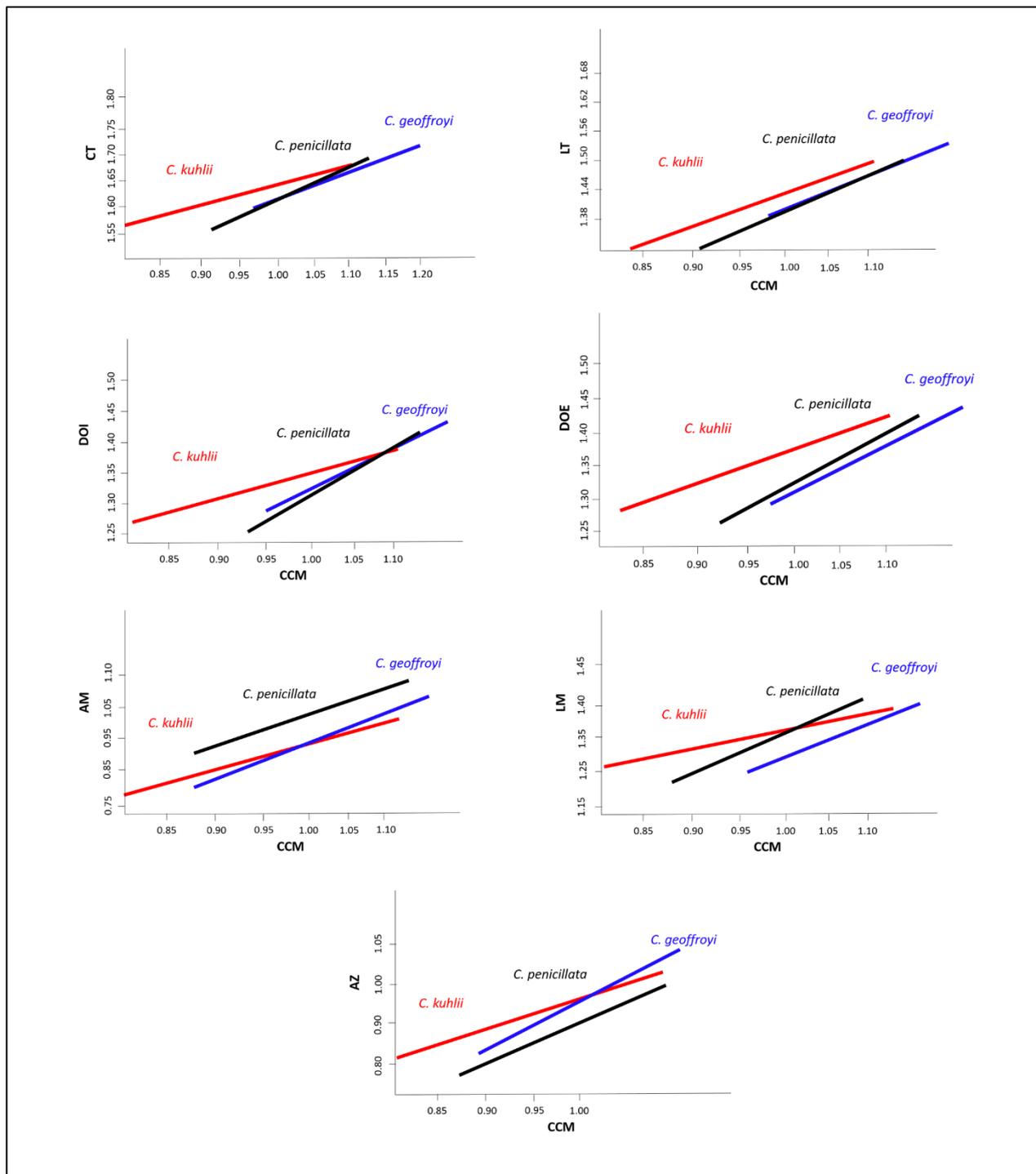


Figura 18: Alometria bivariada para as três espécies de *Callithrix* analisadas.

Tabela 21: Alometria bivariada de *Callithrix kuhlii*.

	<i>CCMxCT</i>	<i>CCMxLT</i>	<i>CCMxDOE</i>	<i>CCMxDOI</i>	<i>CCMxAM</i>	<i>CCMxLM</i>	<i>CCMxAZ</i>
<i>Coefficiente alométrico</i>	0.216	0.145	0.138	0.130	0.033	0.137	0.009
<i>Inclinação da reta</i>	0.237	0.300	0.339	0.304	0.819	0.397	0.941
<i>R</i>²	0.770	0.711	0.789	0.769	0.708	0.704	0.709
<i>P-value</i>	<2.22e-16	<2.22e-16	<2.22e-16	<2.22e-16	<2.22e-16	<2.22e-16	<2.22e-16

Tabela 22: Alometria bivariada de *Callithrix penicillata*.

	<i>CCMxCT</i>	<i>CCMxLT</i>	<i>CCMxDOE</i>	<i>CCMxDOI</i>	<i>CCMxAM</i>	<i>CCMxLM</i>	<i>CCMxAZ</i>
<i>Coefficiente alométrico</i>	0.212	0.140	0.133	0.125	0.055	0.136	0.019
<i>Inclinação da reta</i>	0.393	0.572	0.574	0.570	1.311	0.548	1.633
<i>R</i>²	0.591	0.418	0.501	0.379	0.240	0.538	0.575
<i>P-value</i>	0.000005	0.0003	0.00005	0.0008	0.0009	0.00002	0.000007

Tabela 23: Alometria bivariada de *Callithrix geoffroyi*.

	<i>CCMxCT</i>	<i>CCMxLT</i>	<i>CCMxDOE</i>	<i>CCMxDOI</i>	<i>CCMxAM</i>	<i>CCMxLM</i>	<i>CCMxAZ</i>
<i>Coefficiente alométrico</i>	0.213	0.144	0.132	0.127	0.045	0.127	0.007
<i>Inclinação da reta</i>	0.345	0.445	0.572	0.445	1.391	0.664	1.123
<i>R</i>²	0.474	0.408	0.696	0.676	0.775	0.319	0.502
<i>P-value</i>	0.002	0.007	0.00005	0.00009	0.000006	0.021	0.002

Alometria multivariada

Ao se analisar os coeficientes de alometria multivariada obtidos, pode-se observar que as medidas do crânio de *Callithrix kuhlii* são alometricamente positivas ($k > 1$), com exceção da largura da mandíbula e do comprimento canino-molar. Já para *C. penicillata*, as medidas são alometricamente positivas com exceção da largura do crânio. Por fim, para *C. geoffroyi*, as medidas são alometricamente positivas com exceção do comprimento canino-molar (Tabela 24).

Tabela 24: Coeficientes alométricos multivariados calculados para cada medida de cada espécie analisada.

	<i>Callithrix kuhlii</i>	<i>Callithrix penicillata</i>	<i>Callithrix geoffroyi</i>
CT	2.36	1.17	2.28
LT	1.74	0.63	1.40
DOI	1.30	1.07	1.29
DOE	1.59	1.21	1.70
AM	1.23	1.56	1.64
LM	0.49	1.01	0.94
CCM	0.91	1.22	0.96
AZ	1.14	1.71	1.17

Análise molecular

As estimativas de distância genética entre as espécies de *Callithrix* analisadas variaram de 0,019 a 0,091 (Tab. 25). Entre as três espécies estudadas a distância genética variou de 0,023 a 0,032.

Tabela 25: Estimativas de distância genética (K2p) entre as espécies de *Callithrix*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>C. penicillata</i> (1)											
<i>C. penicillata</i> (2)	0,005										
<i>C. jacchus</i> (3)	0,019	0,013									
<i>C. jacchus</i> (4)	0,019	0,013	0,000								
<i>C. kuhlii</i> (5)	0,023	0,018	0,019	0,019							
<i>C. kuhlii</i> (6)	0,024	0,019	0,020	0,020	0,001						
<i>C. geoffroyi</i> (7)	0,032	0,027	0,026	0,026	0,025	0,027					
<i>C. geoffroyi</i> (8)	0,032	0,027	0,026	0,026	0,025	0,027	0,005				
<i>C. aurita</i> (9)	0,091	0,089	0,089	0,089	0,080	0,080	0,082	0,085			
<i>M. emiliae</i> (10)	0,125	0,123	0,125	0,125	0,124	0,124	0,127	0,127	0,126		
<i>S. mystax</i> (11)	0,216	0,216	0,223	0,223	0,219	0,219	0,231	0,226	0,227	0,227	

As topologias de máxima verossimilhança (ML) obtidas com o marcador mitocondrial *MT-CYB* mostraram o gênero *Callithrix* como monofilético, tendo como linhagem mais basal *C. aurita*, e o restante das espécies agrupadas em outro clado. Neste último clado, *C. geoffroyi* aparece como grupo irmão do restante das espécies que se dividiram em dois clados, um com *C. kuhlii*, e outro também dividido em dois, sendo um grupo com *C. jacchus* e outro com *C. penicillata*. Houve alto suporte de *bootstrap* para todos os ramos da árvore (Fig. 19).

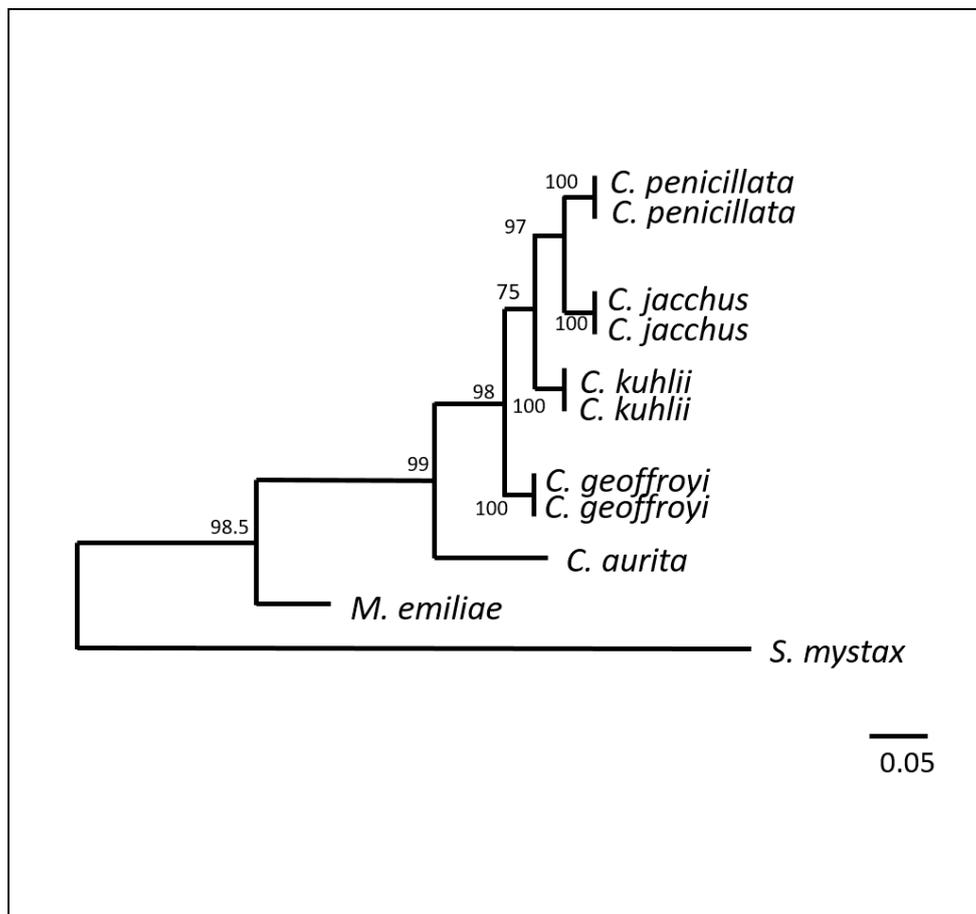


Figura 19: Topologia de máxima verossimilhança e Inferência Bayesiana com *MT-CYB* mostrando as relações filogenéticas das espécies de *Callithrix*. Os números próximos aos nós representam valores de *bootstrap*.

Discussão

A importância do estabelecimento de classes etárias para estudos evolutivos em *Callithrix*

Embora o estudo da biologia do desenvolvimento pareça básico para se realizar estudos evolutivos, o estabelecimento de classes de idade e o estudo da ontogenia em

primatas neotropicais não tem sido uma tarefa muito trivial. Poucas espécies apresentam sua ontogenia descrita.

A família Cebidae inclui nove gêneros com cerca de 60 táxons (incluindo espécies e sub-espécies). Poucos gêneros possuem a ontogenia detalhada conhecida, podendo ser destacados os gêneros *Leontopithecus* (Rosenberger e Coimbra-Filho, 1984), *Cebus* (Flores, 2011) e *Saimiri* (Flores, 2012). Existem também na literatura alguns estudos comparativos mais gerais que utilizaram abordagens ontogenéticas. Leigh (1992) testou dimorfismo sexual ontogenético do tamanho do corpo em 31 espécies de primatas neotropicais (não encontrando significância em *Callithrix*). Byrd (1981) analisou o desenvolvimento ontogenético dentário de 16 espécies das 40 espécies de calitriquídeos. Esta carência de estudos ontogenéticos se dá em grande parte devido à escassez de indivíduos jovens nas coleções. Assim, trabalhos abordando as mudanças ocorridas ao longo do desenvolvimento em saguis são escassos na literatura.

Em 1916, a Fundação Rockefeller, através de sua agência, a *International Health Board*, enviou ao Brasil uma missão especial para investigar as possibilidades de implantação de um programa nacional de combate à febre amarela (Benchimol, 1995). Durante essa campanha foram coletados 60 mil mamíferos, dentre os quais muitos se encontram na coleção Mastozoológica do Museu Nacional (UFRJ). Graças a esta campanha foi possível ter acesso a uma amostra única que conta com mais de 500 crânios de *Callithrix kuhlii* em vários estágios de desenvolvimento.

Na amostra aqui analisada, foi possível definir qualitativamente sete classes etárias com base na erupção dentária e suturas cranianas para *Callithrix kuhlii*, que podem ser utilizadas também como base para o estudo nas demais espécies do grupo. Seis destas categorias etárias foram também observadas em *C. penicillata* e *C. geoffroyi*, embora as amostras para estas espécies não sejam tão numerosas quanto para *C. kuhlii* nas coleções analisadas. Para *C. penicillata* e *C. geoffroyi* não foi observada somente a classe etária I, pois não havia na coleção material correspondente a essa idade.

Comparando as três espécies pelo ponto de vista qualitativo do crânio, não foi possível observar diferenças morfológicas significantes entre elas, exceto pelo tamanho. Indivíduos de *C. geoffroyi* se mostraram-se sempre maior que as demais espécies, com o crânio levemente mais robusto, porém as estruturas cranianas e as modificações ao longo do desenvolvimento se mostraram muito semelhantes entre as três espécies. Desta maneira não foi possível descrever diferenças qualitativas entre elas exceto pela ordem

da erupção dentaria e nível de obliteração das suturas. Por outro lado, a variação no nível quantitativo foi capaz de demonstrar diferenças entre as classes de idade e entre as espécies.

Para se entender os processos evolutivos que levaram a diferenciação de duas espécies relacionadas é preciso estudar e comparar as diferenças entre estas espécies. A evolução e a ontogenia estão intimamente relacionadas já que mudanças evolutivas em caracteres morfológicos exigem mudanças nos processos de desenvolvimento que produzem os caracteres, cuja variação, por sua vez, fornece a matéria-prima para a evolução (Klingenberg, 1998). Para que haja uma modificação na forma adulta, a evolução deve modificar o processo embriológico responsável por essa alteração (Amundson, 2000). Por isso, para compreender a evolução é necessário compreender o desenvolvimento, estudando e comparando as modificações ocorridas ao longo da ontogenia e não apenas comparando uma única classe etária, como é feito habitualmente. Não é o mais adequado entender evolução de um caráter observando somente uma classe, ou seja, apenas uma etapa do processo de desenvolvimento.

As espécies aqui estudadas apresentam pouca variação na morfologia craniana entre si, sendo assim a determinação das classes etárias é um feito de grande relevância para que sejam realizados estudos evolutivos no grupo.

Análises quantitativas intraespecíficas

As análises univariadas realizadas no presente estudo para as três espécies mostraram diferenças significativas entre a maioria das classes etárias estabelecidas qualitativamente, com mais variáveis ressaltando diferenças para *C. kuhlii* e *C. penicillata* do que para *C. geoffroyi*. As análises multivariadas revelaram sobreposições entre algumas classes para as três espécies, principalmente entre os indivíduos sub-adultos ou adultos (classes IV, V, VI e VII).

O resultado obtido na análise dos componentes principais mostrou que ao longo do desenvolvimento ontogenético das três espécies ocorre, como o esperado, um aumento na maioria dos caracteres, entretanto, sem grandes alterações na forma, com exceção das variáveis relacionadas ao forâmen magno (Fig. 8, 9 e 10). O comprimento e a largura do forâmen magno não passam por grandes mudanças no tamanho, mas, sim, na forma.

É possível observar certa sobreposição entre as classes etárias, o que novamente é esperado em uma série ontogenética já que os indivíduos se encontram em

processo de crescimento. Para as três espécies, as classes VI e VII descritas qualitativamente parecem ser a mesma classe, dada a grande sobreposição entre as duas e ao nível de significância.

A análise discriminante intraespecífica mostrou um resultado semelhante ao da análise dos componentes principais. Em *C. kuhlii* foram reveladas seis classes com sobreposição entre as categorias VI e VII, para *C. penicillata* cinco classes foram reveladas, mas desta vez com sobreposição entre as classes IV e V e para *C. geoffroyi* a sobreposição foi observada entre as classes V e VI. Diante disso, é possível que as classes mais avançadas (VI e VII para *C. kuhlii*; IV e V para *C. penicillata*; e V e VI para *C. geoffroyi*) determinadas qualitativamente sejam, do ponto de vista quantitativo a mesma classe para todas as espécies, caracterizando os indivíduos adultos. Na classe V, embora a sutura esfenovomeriana ainda esteja aberta, a sutura basisfenoide (principal caráter craniano determinante da idade adulta em mamíferos) já se encontra fechada, sendo assim, essa classe deve incluir os adultos jovens.

Análises quantitativas interespecíficas

Os nossos resultados, quando comparadas às três espécies ao longo da ontogenia, mostraram que há pouca variação tanto na forma quanto no tamanho entre elas, o que é possível constatar pela sobreposição observada entre os grupos (Fig. 11). É possível notar ainda que *C. penicillata* apresenta as menores medidas de tamanho, seguido de *C. kuhlii* (que apresenta valores intermediários entre as duas espécies) e *C. geoffroyi* é a maior dentre as três.

Como observado na análise filogenética, *C. jacchus* é uma espécie relacionada com as espécies estudadas, formando grupo irmão com *C. penicillata*. Sendo assim foi realizada uma análise incluindo os indivíduos adultos de *C. kuhlii*, *C. penicillata*, *C. geoffroyi* e *C. jacchus*.

Comparando então os adultos das quatro espécies foi observada, mais uma vez, pouca variação tanto na forma quanto no tamanho entre elas. Porém é possível ver que o crânio de *C. jacchus* é mais semelhante com o de *C. penicillata* do que com as outras duas espécies, o que corrobora o alto grau de relacionamento indicado pela análise molecular entre essas duas espécies.

Estudo da alometria

As curvas alométricas bivariadas de todos os caracteres foram diferentes entre as espécies, mostrando que cada espécie possui seu desenvolvimento exclusivo ao longo da ontogenia. Os resultados obtidos no estudo da alometria multivariada indicam que a maioria das estruturas cranianas medidas apresenta um crescimento proporcional maior do que o do crânio como um todo (valores maiores do que 1).

Neste estudo, devido a amostra maior de *Callithrix kuhlii* foi possível a estabelecer uma categoria etária a mais (classe1) quando comparada as outras duas espécies. Consequentemente as curvas ontogenéticas bivariadas desta espécie começam antes das outras duas.

Os estágios etários mais jovens, correspondentes ao início da curva alométrica de *C. geoffroyi* se iniciaram sempre com valores mais altos para o comprimento canino-molar se comparado às demais espécies, ou seja, logo nos estágios mais iniciais, *C. geoffroyi* possui medidas cranianas maiores.

Como observado na análise molecular que na análise molecular, *C. geoffroyi* foi a espécie que divergiu anteriormente as outras duas. Podemos então supor que ao longo da evolução dessas formas houve uma tendência à redução de tamanho nas linhagens derivadas, com *C. penicillata* e *C. kuhlii* apresentando valores menores em relação ao ancestral.

Nossos resultados mostraram também que as trajetórias ontogenéticas de *C. kuhlii* apresentam a inclinação com menor ângulo quando comparada as outras duas espécies. Essa menor inclinação demonstra que essa espécie apresenta a taxa de crescimento mais lenta em relação as outras duas. Assim sendo seu menor tamanho de crânio pode ter sido gerado por essa diminuição da taxa de crescimento. Já os ângulos das trajetórias referentes a *C. penicillata* são maiores que os de *C. kuhlii*, mas mesmo assim apresenta como resultado adultos menores em comparação ao padrão ancestral, aqui exemplificado por *C. geoffroyi*. Nesta espécie a diminuição do tamanho craniano então não se deu por diminuição da taxa de crescimento.

Considerando então que *C. geoffroyi* é a espécie de divergência mais antiga dentre as três aqui estudadas seguida da divergência de *C. kuhlii* e de *C. penicillata*, as alterações sofridas pelas espécies derivadas geraram sempre indivíduos pedomórficos, mas provavelmente por processos diferentes. A alteração que ocorreu na linhagem de *C. kuhlii* está relacionada a taxas mais lentas. Possivelmente ocorreu em *C. kuhlii* o processo evolutivo de neotenia. Este processo heterocrônico é frequente em mamíferos

e aves e é o mais comum em casos de tendência à redução de tamanho (Raff e Kaufman, 1983). Já as alterações que resultaram no menor crânio de *C. penicillata* não estão relacionadas a taxa e parecem ter acontecido pelo segundo tipo de processo evolutivo que resulta em pedomorfose, a progênese.

Embora de modo geral *C. penicillata* apresente um crânio pequeno, esta espécie mostrou valores maiores que as demais nas medidas relacionadas à mandíbula (altura e largura) em relação ao comprimento canino molar, o que proporciona a *C. penicillata* uma mandíbula mais robusta. Isso pode estar relacionado ao hábito alimentar pois embora a gomivoria esteja presente em todas as espécies do gênero é visto que *C. penicillata* e *C. jacchus* são as espécies que ocorrem em ambientes mais áridos (cerrado e caatinga) e possuem especializações na dentição e no sistema digestivo mais evidentes para a gomivoria (Natori e Siguehara 1992; Stevenson e Rylands 1988; Coimbra-Filho *et al.*, 1980). Uma mandíbula mais robusta poderia significar uma área maior para inserção de musculatura, favorecendo a gomivoria. *C. penicillata* é a espécie com o menor tamanho de crânio dentre as três espécies estudadas e as variáveis aqui analisadas que não estão relacionadas à mandíbula corroboram essa observação. Nos mamíferos a mandíbula é um osso único e o crânio é formado por 28 ossos (Marcucio *et al.*, 2015). A mandíbula tem origem embrionária derivada do primeiro arco faríngeo enquanto as demais estruturas cranianas se originam a partir do mesoderme paraxial e da crista neural, logo, o crescimento da mandíbula, embora apresente covariação com o crânio ao longo da ontogenia a fim de se manter a oclusão necessária para a mastigação, pode acontecer de maneira independente (Cardini, 2005).

Congruência entre a variação vista no crânio e a filogenia molecular

Tanto a análise dos principais componentes e a análise discriminante mostram as espécies ao longo da ontogenia formando grupos distintos, embora haja sobreposição. Na análise dos componentes principais ao se observar os eixos de tamanho (PC1) e de forma (PC2) nota-se a sobreposição entre as três espécies, com *C. kuhlii* se mostrando intermediário entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* em termos de tamanho e forma.

A filogenia encontrada também resgatou o monofiletismo dos grupos, com *C. geoffroyi* mostrando divergência anterior, seguido das linhagens de *C. kuhlii* e de *C. penicillata*. As estimativas de distância genética e de distância morfológica foram congruentes entre as três espécies de *Callithrix*. Os resultados da primeira variaram de 0,023 entre *C. kuhlii* e *C. penicillata* a 0,032 entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi*,

enquanto na segunda variaram de 7.20837 entre *C. kuhlii* e *C. penicillata* a 17.31327 entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi*. A árvore gerada com base no marcador mitocondrial citocromo b mostrou o gênero *Callithrix* como monofilético. Foi recuperado um clado incluindo *C. geoffroyi* que apareceu como grupo irmão do restante das espécies estudadas. Estas se dividiram em dois clados, um com *C. kuhlii*, e outro com *C. penicillata* e *C. jacchus*. Houve alto suporte de *bootstrap* para todos os ramos da árvore.

As análises morfológicas e moleculares mostraram *C. kuhlii* menos semelhante de *C. geoffroyi* do que de *C. penicillata*, o que é observado ao se analisar às estimativas de distâncias morfológica e molecular entre as espécies (Tab. 26).

Tabela 26: Comparação entre as estimativas de distância morfológica e genética entre as espécies de *Callithrix*.

	Distância morfológica			Distância genética		
	<i>C. kuhlii</i>	<i>C. geoffroyii</i>	<i>C. penicillata</i>	<i>C. kuhlii</i>	<i>C. geoffroyi</i>	<i>C. penicillata</i>
<i>C. kuhlii</i>	0,00000	11,27059	10,62585	0,000	0,027	0,024
<i>C. geoffroyi</i>	11,27059	0,00000	17,31327	0,027	0,000	0,032
<i>C. penicillata</i>	10,62585	17,31327	0,00000	0,024	0,032	0,000

A sobreposição por vezes observada nas análises multivariadas interespecíficas está, possivelmente, relacionada ao fato da divergência ter sido recente, o que faz com que essas espécies sejam muito parecidas devido ao pouco tempo para o acúmulo de mutações. As curvas alométricas distintas entre as espécies encontradas no presente estudo corroboram o status específico das três espécies.

Estudos anteriores concordam que a diversificação entre as espécies de *Callithrix* ocorreu muito recentemente (Tagliaro *et al.*, 1997; Sena *et al.*, 2012; Schneider *et al.*, 2011; Buckner *et al.* 2014). O ancestral do gênero *Callithrix* viveu há aproximadamente seis milhões de anos ocupando a Mata Atlântica, o Cerrado e a Caatinga (Buckner *et al.*, 2014). Estudos de biologia molecular apontam que *C. aurita* foi a primeira espécie a divergir, há aproximadamente três milhões de anos, seguida de *C. geoffroyi*, há cerca de um 1,5 milhões de anos. Em seguida, há cerca de 1 milhão de anos, surgiu um grupo estreitamente relacionado, incluindo *C. kuhlii*, *C. jacchus* e *C. penicillata*, algumas vezes formando uma politomia não resolvida (caracterizada por valores de *bootstrap* baixos), sendo algumas vezes *C. kuhlii* e *C. penicillata* parafiléticos. A diversificação entre *C. jacchus* e *C. penicillata* ocorreu há cerca de 0,8 milhões de anos quando um evento vicariante isolou o ancestral de *C. penicillata* em uma região de Cerrado ou Caatinga enquanto o ancestral de *C. jacchus* permaneceu na

Mata Atlântica (Tagliaro *et al.*, 1997; Sena *et al.*, 2012; Buckner *et al.*, 2014; Malukiewicz, 2016) .

Hershkovitz (1977) sugeriu que as populações de saguis com distribuição no sudeste da Bahia, seriam formas híbridas entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* na sua zona de contato. Diversos trabalhos contradizem esta hipótese e suportam *C. kuhlii* como uma espécie válida, além disso, a hibridação experimental entre *C. penicillata* e *C. geoffroyi* gera fenótipos distintos do observado em *C. kuhlii* (Tagliaro *et al.*, 1997, Coimbra-Filho *et al.*, 2006; Fuzessy *et al.*, 2013). O resultado obtido no presente estudo vai de acordo com estes trabalhos e suporta o status específico de *C. kuhlii*, assim como de *C. penicillata* e *C. geoffroyi*.

A continuar.

Referências

- Accioly, A.P.C. (2000). “Ecologia e comportamento de *Callithrix penicillata* (Primates – Callitrichidae)”. Monografia. Brasília, 2000.
- Akaike, H. (1973). Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In Petrov, B.N.; Csáki, F., 2nd International Symposium on Information Theory, Tsahkadsor, Armenia, USSR, September 2-8, 1971, Budapest: Akadémiai Kiadó, p. 267-281.
- Alberch, P.; Gould, S. J.; Oster, F. G. e Wake, D. B. (1979) Size and shape in ontogeny and Phylogeny. *Paleobiology*, v. 5, p. 296-317.
- Amundson, R. (2000). Embryology and Evolution 1920-1960: Worlds Apart? *History and Philosophy of the Life Sciences* 22 (3):335 - 352.
- Auricchio, P. (1995). *Primates do Brasil*. São Paulo, Terra Brasilis.
- Avelar, A.A. (2007). Ontogenia e dimorfismo sexual nas espécies de guaribas-vermelhos gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 (Primates, Atelidae). Monografia. Pará, 2007.
- Ávila-Pires, F.D. (1965) Type specimens of Brazilian mammals collected by Prince Maximilian zu Wied. *American Museum Novitates*. vol. 2209, p. 1 - 21.
- Benchimol, J. L. (1995) Domingos José Freire e os primórdios da bacteriologia no Brasil. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, v.2, n.1, p.67-98.
- Bonvicino, C.R.; Lemos, B.; Seuánez, H.N. (2001). Molecular phylogenetics of howler monkeys (*Alouatta*, *Platyrrhini*): A comparison with karyotypic data. *Chromosoma* 110:241–246.
- Buckner, J.C.; Alfaro, J.L.; Rylands, A.B.; Alfaro, M.E. (2014). Biogeography of the marmosets and tamarins (*Callitrichidae*). *Molecular Phylogenetic Evolution*.
- Byrd, K.E. (1981). Sequences of dental ontogeny and callitrichid taxonomy. *Primates*. Volume 22, Issue 1, pp 103–118.
- Cabrera, A. (1958). Catálogo de los mamíferos de América del Sur. *Rev. Mus. Arg. Cienc. Nat. “ Bernardino Rivadavia”*. 4: 1 – 308.
- Cardini, A.; O’Higgins, P. (2005) Post-natal ontogeny of the mandible and ventral cranium in *Marmota* species (Rodentia, *Sciuridae*): allometry and phylogeny. *Zoomorphology*, v. 124, n. 4, p. 189–203.
- Casado, F., Bonvicino, C. R., Nagle, C., Comas, B. Manzur, T. D., Lahoz, M. M. e Seuánez, H. N. (2010). Mitochondrial Divergence Between 2 Populations of the

- Hooded Capuchin, *Cebus (Sapajus) cay* (Platyrrhini, Primates). *Journal of Heredity*, 101: 261-269.
- Cassens, I.; Vicario, S.; Waddell, V.G.; Balchowsky, H.; Van Belle, D.; Ding, W.; Fan, C.; Lal Mohan, R.S.; Simões-Lopes, P.C.; Bastida, R.; Meyer, A.; Stanhope, M.J. e Milinkovitch, M.C. (2000) Independent adaptation to riverine habitats allowed survival of ancient cetacean lineages. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*. 97, 11343–11347.
- Cavalcanti, R.B.; Joly, C.A. (2002). "Biodiversity and conservation priorities in the cerrado region". In: Oliveira PS, Marquis RJ, editors. *The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. New York: Columbia Univ Pr. p 351-67.
- Cezar, A.M.; Pessôa, L.M.; Bonvicino, C.R. (*no prelo*). Morphological and genetic diversity in *Callithrix* hybrids in an anthropogenic area in southeastern Brazil (Primates: Cebidae). *Zoologia*.
- Coimbra-Filho, A.F. (1971). Os sagüis do gênero *Callithrix* da região oriental brasileira e um caso de duplo-hibridismo entre três de suas formas (Callitrichidae, Primates). *Rev Brasil Biol* 31:377–388.
- Coimbra-Filho, A. F. 1978. Sobre um caso de triplo-hibridismo em *Callithrix* (Callitrichidae, Primates). *Revista Brasileira de Biologia* 38:61-67.
- Coimbra-Filho, A.F., Rocha, N.C., Pissinatti, A. (1980) Morfofisiologia do ceco e sua correlação com o tipo odontológico em Callitrichidae (Platyrrhini, Primates). *Revista Brasileira Biologia* 40: 177-185.
- Coimbra-Filho, A.F. e Mittermeier, R.A. (1981). *Callithrix flaviceps* (Thomas, 1903) recorded from Minas Gerais, Brazil (Callitrichidae, Primates). *Rev Brasil Biol* 41(1):141–147.
- Coimbra-Filho, A.F. (1984). Situação atual dos calitriquídeos que ocorrem no Brasil (Callitrichidae– Primates). In: de Mello MT (ed) *A Primatologia no Brasil*. Sociedade Brasileira de Primatologia, Brasília, pp 15–33.
- Coimbra-Filho, A.F. (1985) Sagüi-de-Wied *Callithrix kuhli* (Wied, 1826). *FBCN/Inf Rio de Janeiro* 9(4):5.
- Coimbra-Filho, A.F. (1990). Sistemática, distribuição geográfica e situação atual dos símios brasileiros (Platyrrhini–Primates). *Rev Brasil Biol* 50:1063–1079.
- Coimbra-Filho AF, Pissinatti A, Rylands AB (1993) Experimental multiple hybridism among *Callithrix* species from eastern Brazil. In: Rylands AB (ed) *Marmosets*

- and tamarins: systematics, ecology, and behaviour. Oxford University Press, Oxford, pp 95–120.
- Coimbra-Filho, A.F.; Mittermeier, R.A.; Rylands, A.B.; Mendes, S.L.; Kierulff, M.C.M. e Pinto, L.P. de S. (2006). The taxonomic status of Wied's black-tufted-ear marmoset, *Callithrix kuhlii* (Callitrichidae, Primates). *Primate Conservation*, 21: 1-24.
- Cock, A.G. (1966). Genetical aspects of metrical growth and form in animals. *Quarterly Review of Biology* 41:131-190.
- Colli, G.R. (2005). As origens e a diversificação da herpetofauna do Cerrado. In: Scariot, A., Sousa-Silva, J.C., Felfili, J.M. (Eds.), *Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Distrito Federal, pp. 249-264.
- Davis, D.D. (1962). Allometric relationships in lions vs. domestic cats. *Evolution* 16: 505–514.
- Duarte-Quiroga, A.; Estrada, A. (2003). Primates as pets in Mexico City: an assessment of the species involved, source of origin, and general aspects of treatment. *Am J Primatol* 61: 53-60.
- Fairbairn, D. J. (1997). Allometry for sexual size dimorphism: patterns and process in the coevolution of body size in males and females. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 659-687.
- Ferrari, S.F. e Lopes, M.A. (1992). A New Species of Marmoset, genus *Callithrix* Erxleben 1777 (Callitrichidae, Primates) from Western Brazilian Amazonia. *Goeldiana, Zoologia*, Vol.11, 1-12.
- Flores, D. e Casinos, A. (2011), Cranial ontogeny and sexual dimorphism in two new world monkeys: *Alouatta caraya* (Atelidae) and *Cebus apella* (Cebidae). *J. Morphol.*, 272: 744–757. doi:10.1002/jmor.10947
- Flores, D. e Barone, L. (2012). Cranio-facial sutures of the black-capped squirrel monkey *Saimiri boliviensis* (Primates: Cebidae): gross morphology and postnatal ontogeny. *mammalia*, 76(1), pp. 91-98. Retrieved 13 Jun. 2017, from doi:10.1515/mamm.2011.103
- Flury, B. (1984). Common principal components in k groups. *Journal of the American Statistical Association* 79, 892-898.
- Flury, B. (1988). *Common Principal Components and Related Multivariate Models*. John Wiley e Sons, New York.

- Fuzessy, L.F.; de Oliveira S. I.; Malukiewicz, J.; Silva, F.F.R.; do Carmo, P. M.; Boere, V.; Ackermann, R.R. (2014). Morphological Variation in Wild Marmosets (*Callithrix penicillata* and *C. geoffroyi*) and Their Hybrids. *Evolutionary Biology* 41: 480–493.
- Galindo-Leal, C. e I.G. Câmara. 2003. Atlantic forest hotspots status: an overview. *In* C. Galindo-Leal e I.G. Câmara (ed.). *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*. pp. 3-11. Center for Applied Biodiversity Science e Island Press, Washington, D.C.
- Gascon, C., B. Williamson e G.A.B. Fonseca. 2000. Receding forest edges and vanishing reserves. *Science* 288: 1356-1358.
- Geoffroy Saint-Hilaire, É. (1812). Tableau des quadrumanes, ou des animaux composant le premier ordre de la classe des mammifères *Annales du Museum Dhistoire Naturelle de Paris* 19: 85–122.
- Gould, S. J. (1966). Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 41, n. 4, p. 587–640, 1966.
- Gould, S. J. (1977). *Ontogeny and phylogeny*. Cambridge: The Belknap Press, 1977.
- Gotelli, N. J. e A. M. Ellison. (2004). *A Primer of Ecological Statistics*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Groves C. P. (2001). *Primate Taxonomy*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA.
- Groves, C.P. (2005). Order Primates. *In*: D.E. Wilson and D.M. Reeder (eds), *Mammal Species of the World*, pp. 111-184. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
- Hershkovitz, P. (1975). Comments on the taxonomy of Brazilian marmosets (*Callithrix*, *Callitrichidae*). *Folia Primatol* 24:137-172 .
- Hershkovitz, P. (1977). *Living New World Monkeys (Platyrrhini) with an Introduction to Primates, Vol. 1*. Chicago: University of Chicago Press.
- Hill, W.C.O. (1957). *Primates: Comparative Anatomy and Taxonomy*. III. The Edinburgh University Press. 354p.
- Huxley, J. S. (1924). Constant differential growth-ratios and their significance. *Nature* 114, 895–896
- Huxley, J. S. (1932). *Problems of Relative Growth*. London: Methuen e Co.
- Huxley J. S.; Tessier G. (1936). Terminology of relative growth. *Nature* 137: 780–781.

- Hsu, T.C.; Hampton, S.H. (1970) Chromosomes of Callitrichidae with special reference to an XX/X0 sex chromosome system in Goeldi's marmosets (*Callimico goeldii*, Thomas 1904). *Folia Primatol* 13:183-195,
- Irwin, D.M.; Kocher, T.D. e Wilson, A.C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32:128-144.
- Jolicoeur, P. (1963). The multivariate generalization of the allometry equation. *Biometrics* 19, 497±499.
- Keane, T.M.; Creevey, C.J.; Pentony, M.M.; Naughton, T.J.; McInerney, J.O. (2006). Assessment of methods for amino acid matrix selection and their use on empirical data shows that ad hoc assumptions for choice of matrix are not justified. *BMC Evolution Biology*. 6:29.
- Klingenberg, C. P., e J. R. Spence. (1993). Heterochrony and allometry: Lessons from the waterstrider genus *Limnoporus*. *Evolution* 47: 1834-1853.
- Leigh, S. R. (1992). Patterns of variation in the ontogeny of primate body size dimorphism, *Journal of Human Evolution*, Volume 23, 1, 27-50.
- Linnaeus, C. (1758). *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Tomus I. Editio decima, reformata. Holmiae. (Salvius). 824 p.
- Malukiewicz, J.; Hepp, C.M.; Guschanski, K.; Stone, A.C. (2017) Phylogeny of the jacchus group of *Callithrix* marmosets based on complete mitochondrial genomes. *Am J Phys Anthropol*. 2017 Jan;162(1):157-169.
- Manly, B.F.J. (1994). *Multivariate statistical methods: a primer*. Chapman and Hall, London, 215p.
- Marroig, G.; Cropp, S.; Cheverud, J.M. (2004). Systematics and Evolution of the Jacchus Group of Marmosets (Platyrrhini). *American Journal of Physical Anthropology*. 123: 11-22.
- Mendes, S.L. (1997). Padrões biogeográficos e vocais em *Callithrix* do Grupo jacchus (Primates, Callitrichidae). Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade Estadual de Campinas.
- Menezes, A.N.; Bonvicino, C.R.; Seuánez, H.N. (2010). Identification, classification and evolution of owl monkeys (*Aotus*, Illiger 1811). *BMC Evolution Biology* 10: 248. doi: 10.1186/1471-2148-10-248

- Mittermeier, R. A. e Coimbra-Filho, A. F. (1981). Ecology and Behavior of Neotropical Primates. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, v.1. Washington, World Wildlife Fund.
- Mittermeier, R. A.; Rylands, A. B. e Coimbra-Filho, A. F. (1988). Systematics: species and subspecies – an update. In: Mittermeier; R. A.; Rylands, A. B.; Coimbra-Filho, A. F. e Fonseca G. A. B. eds. Ecology and behavior of Neotropical primates. v.2. Washington, World Wildlife Fund. p.13-75.
- Monteiro, L. R. e Reis, S. F. (1999) Princípios de Morfometria Geométrica. Ribeirão Preto. Holos Editora. 198p.
- Moreira, M.A. (2002). SRY evolution in Cebidae (Platyrrhini: Primates). J Mol Evol. 55(1):92-103.
- Mosimann, J. E. (1970). Size allometry: size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. Journal of the American Statistical Association 65, 930±945.
- Myers, N., R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, G.A.B. Fonseca e J. Kent. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853-845.
- Nagamachi, C.Y.; Pieczarka, J. C.; Schwarz, M.; Barros, R. M. S.; Mattevi, M. S. (1997). Comparative chromosomal study of five taxa of genus *Callithrix*, group Jacchus (Platyrrhini, primates). American Journal of Primatology, 41:53–60.
- Natori, M. (1986) Interspecific relationships of *Callithrix* based on dental characters. Primates 27(3):321–336.
- Natori, M. (1990). Numerical analysis of systematics status of *Callithrix kuhli* based on measurements of the postcanine dentition. Primates, Aichi, 31: 555-562.
- Natori, M., Shigehara, N. (1992) Interspecific differences in lower dentition among eastern Brazilian marmosets. Journal of Mammalogy 73:668–671.
- Natori, M. (1994). Craniometrical variation among eastern Brazilian marmosets and their systematic relationships. Primates, Aichi, 35: 167-176
- Neff, N.A.; Marcus, L.F. (1980). A survey of multivariate methods for systematics. New York, American Museum of Natural History. 243 p.
- Neves, L.G. 2008. Distribuição geográfica e conservação de *Callithrix kuhli* (Coimbra-Filho, 1985) no Sul da Bahia, Brasil. Dissertação (Mestrado em Zoologia). Universidade Estadual de Santa Cruz. 93p.
- Norman, G.R.; (1994). Streiner, D.L. Biostatistics – The bare essentials. St. Louis: Mosby–YearBook. 260p.

- Oliveira, L. de C.; Câmara, E.M.V.C.; Hirsch, A.; Paschoal, A.M.O.; Alvarenga, R.M. e Belarmino, M.G. (2003). *Callithrix geoffroyi* (Primates Callitrichidae) and *Alouatta caraya* (Primates: Atelidae) in the Serra do Cipó National Park, Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Primates*, 11 (2): 86-89.
- Passamani, M.; Aguiar, L.M.S.; Machado, R.B. e Figueiredo, E. (1997). Hybridization between *Callithrix geoffroyi* and *C. penicillata* in southeastern Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Primates*, 5 (1): 9-10.
- Pearson, K. (1901). On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine*, v. 2, p. 559–572.
- Pedreira, C. M. e L. I. S. Peixoto, 1975. Comparison of Karyotypes of two Brazilian Species of Marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*). *Ciencia e Cultura* 27 (2): 229-232.
- Perelman, P.; Johnson, W.E.; Roos, C.; Seuánez, H.N.; Horvath, J.E.; Moreira, M.A.; Kessing, B.; Pontius, J.; Roelke, M.; Rumpler, Y.; Schneider, M.P.C.; Silva, A.; O'Brien, S.J.; Pecon-Slattey, J. (2011). A molecular phylogeny of living primates. *PLoS Genet*, 7(3): e1001342.
- R Core Team (2014). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Raff, A. R; Kaufman, T. C. (1983). *Embryos, Genes and Evolution. The developmental-genetic basis of evolutionary change.* Macmillan, NY.
- Reis, S. F.; Cruz, J.; Von Zuben, C. J. (1988). Análise multivariada da evolução de roedores caviíneos: Convergência de trajetórias ontogenéticas. *Revista Brasileira de Genética*, v. 11, n. 3, p. 633–641.
- Rosenberger, A.L. (1981). Systematics: the higher taxa. In: *Ecology and behavior of neotropical Primates*, Vol. 1 (AF Coimbra-Filho e R Mittermeier, Eds.) pp 9-27 Acad Brasil Cienc, Rio de Janeiro.
- Rosenberger, A.L. (1984). Fossil New World monkeys dispute the molecular clock. *J. Hum. Evol.*, 13: 737–742.
- Rosenberger, A.L. e Coimbra-Filho, A.F. (1984). Morphology, taxonomic status and affinities of the lion tamarins, *Leontopithecus* (Callitrichinae, Cebidae). *Folia Primatol* 42: 149-179.
- Rylands, A. B.; Coimbra-Filho, A. F. e Mittermeier, R. A. (1993). Systematics, distributions, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. In:

- Rylands, A. B. ed. Marmosets and tamarins: systematics, behaviour and ecology. Oxford, Oxford University Press. p.11-77.
- Rylands, A.B.; da Fonseca, G.A.B.; Leite, Y.L.R. e Mittermeier, R.A. (1996). Primates of the Atlantic forest: origin, distributions, endemism, and communities. In: Norconk, M.A.; Rosenberger, A.L.; Garber, P.A., editors. Adaptive radiations of neotropical primates. New York: Plenum Pr. p 21-51.
- Rylands, A.B., Schneider, H., Langguth, A., Mittermeier, R.A., Groves, C.P. and Rodríguez-Luna, E. (2000). An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical Primates* 8(2): 61-93.
- Rylands, A.B. e Mendes, S.L. (2008). *Callithrix geoffroyi*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2008: e.T3572A9952962. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T3572A9952962.en>.
Downloaded on 13 June 2017.
- Rylands, A. B.; R. Mittermeier, A; Coimbra-Filho, A.F; Heymann, E.W; S. De la Torre, J. de Sousa e Silva Jr., M. C. M. Kierulff, M. de A. Noronha, and F. Röhe. (2008). Marmosets and Tamarins Pocket Identification Guide. Conservation International Tropical Pocket Guide Series.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sena, L.; Vallinoto, M.; Sampaio, I.; Schneider, H.; Ferrari, S. F. e Schneider, M. P. (2002). Mitochondrial COII gene sequences provide new insights into the phylogeny of Marmosets Species groups (Callitrichidae, Primates). *Folia Primatologica* 73:240-251.
- Schneider, H.; Schneider, M.P.C.; Sampaio, M.I.C.; Harada, M.L.; Stanhope, M. e Goodman, M. (1993). Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates). *Mol Phylogenet Evol* 2: 225-242.
- Schneider, H., Bernardi, J.A.R., da Cunha, D.B., Tagliaro, C.H., Vallinoto, M., Ferrari, S.F. and Sampaio, I. (2012). A molecular analysis of the evolutionary relationships in the Callitrichinae, with emphasis on the position of the dwarf marmoset. *Zoologica Scripta* 41: 1-10.
- Smith, R.J. (2009) Use and misuse of the reduced major axis for line-fitting. *American Journal of Physical Anthropology*, 140, 476–486.
- Sokal R.R.; Rohlf J.F. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research (1981). 2nd ed., W. H. Freeman and Company, San Francisco, 859p.

- Stevenson MF, Rylands, AB (1988) The marmosets, genus *Callithrix*. In, Mittermeier RA, Rylands AB, Coimbra-Filho A, Fonseca GAB (Org). Ecology and behavior of neotropical primates. Washington, World Wildlife Fund, pp 131-222.
- Strauss, R. E.; Bookstein, F. L. (1982). The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Biology*, v. 31, n. 2, p. 113–135.
- Strauss, R. E. (1984). Allometry and functional feeding morphology in haplochromine cichlids. In: *Evolution Of Fish Species Flocks*. p. 217–229.
- Tagliaro, C.H.; Schneider, M.P.C.; Schneider, H.; Sampaio, I.; Stanhope, M. (1997). Marmoset phylogenetics, conservation perspectives, and evolution of the mtDNA control region. *Molecular Biology and Evolution*, 14, (6):674–684.
- Tagliaro, C. H.; Schneider, M.P.C.; Schneider, H.; Sampaio, I.; Stanhope, M. (2000). Molecular phylogeny of the genus *Saguinus* (Platyrrhini, Primates) based on the ND1 mitochondrial gene and implications for conservation. *Genetics and Molecular Biology*. [online]. 2005, vol.28, n.1 ISSN 1415-4757.
- Van Buuren S, Oudshoorn CGM. Multivariate imputation by chained equations. MICE V1.0 user's manual. Leiden: TNO Preventie en Gezondheid; 2000.
- Van Roosmalen, M. G. M., Van Roosmalen, T., Mittermeier, R. A. and da Fonseca, G. A. B. (1998). A new and distinctive species of marmoset (*Callitrichidae*, Primates) from the Lower Rio Aripuana, state of Amazonas, central Brazilian Amazonia. *Goeldiana Zoologia* 22: 1-27.
- Vanzolini, P.E. (2004) *Episódios da Zoologia Brasileira*. Hucitec, São Paulo, 212 pp.
- Vivo, M. (1991). Taxonomia de *Callithrix* Erxleben, 1777 (*Callitrichidae*, Primates). Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte.
- Warton, D. I.; I. J. Wright; D. S. Falster; e M. Westoby. (2006). Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* 81:259-291.
- Yamamoto, M.E. (1993) From dependence to sexual maturity: the behavioural ontogeny of *Callitrichidae*". In: Rylands AB, editor. *Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology*. Oxford (England): Oxford University Pr. p 235-54.