



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
Campus SÃO GABRIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAISSA PRIOR MIGLIORINI

**VARIABILIDADE MORFOLÓGICA CRANIANA DE DUAS ESPÉCIES DE
MAMÍFEROS NEOTROPICAIS DE AMPLA OCORRÊNCIA GEOGRÁFICA,
Herpailurus yagouaroundi (CARNIVORA: FELIDAE) E *Galictis cuja*
(CARNIVORA: MUSTELIDAE)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÃO GABRIEL

2019

RAISSA PRIOR MIGLIORINI

**VARIABILIDADE MORFOLÓGICA CRANIANA DE DUAS ESPÉCIES DE
MAMÍFEROS NEOTROPICAIS DE AMPLA OCORRÊNCIA GEOGRÁFICA,
Herpailurus yagouaroundi (CARNIVORA: FELIDAE) E *Galictis cuja*
(CARNIVORA: MUSTELIDAE)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Carlos Benhur Kasper

Coorientador: Dr. Rodrigo Fornel

São Gabriel

2019

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo (a) autor (a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

M634v	Migliorini, Raissa Prior
	Variabilidade morfológica craniana de duas espécies de mamíferos neotropicais de ampla ocorrência geográfica, <i>Herpailurus yagouaroundi</i> (Carnivora: Felidae) e <i>Galictis cuja</i> (Carnivora: Mustelidae) / Raissa Prior Migliorini.
	91p.
	Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Pampa, MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, 2019.
	"Orientação: Carlos Benhur Kasper".
	1. Morfometria geométrica. 2. Crânio. 3. Felídeos. 4. Mustelídeos. I. Título.

RAISSA PRIOR MIGLIORINI

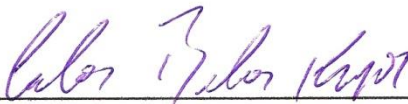
**VARIABILIDADE MORFOLÓGICA CRANIANA DE DUAS ESPÉCIES DE
MAMÍFEROS NEOTROPICAIS DE AMPLA OCORRÊNCIA GEOGRÁFICA,
Herpailurus yagouaroundi (CARNIVORA: FELIDAE) E *Galictis cuja*
(CARNIVORA: MUSTELIDAE)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Ecologia e Sistemática

Dissertação defendida e aprovada em: 15/05/2019

Banca examinadora:



Prof. Dr. Carlos Benhur Kasper (Orientador)

UNIPAMPA



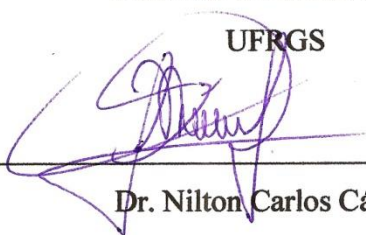
Prof. Dr. Rodrigo Fornel (Coorientador)

URI



Dra. Flávia Pereira Tirelli

UFRGS



Dr. Nilton Carlos Cáceres

UFSM

Àqueles que resistem, mesmo diante de um país que deixa sua história queimar nas mãos do descaso e trata a Ciência como um gasto a ser cortado. Àqueles que lutam pela conservação do que ainda resta de um meio ambiente já tão degradado pela ganância. Àqueles que contribuem por uma sociedade livre do medo irracional do desconhecido, com base na verdade, igualdade e respeito.

A todos, dedico este trabalho.



AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu orientador Dr. Carlos Benhur Kasper pela confiança na realização deste trabalho, e ao meu coorientador Dr. Rodrigo Fornel pela disponibilidade e paciência de auxiliar sempre que necessário.

Aos membros da banca, Dra. Flávia Tirelli e Dr. Nilton Cáceres por terem aceitado participar e contribuir com sua experiência e conhecimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa durante o período de realização da presente dissertação.

Agradeço imensamente a todos (as) os (as) professores (as), técnicos (as) e curadores (as) que dispuseram do seu tempo e atenção e abriram as portas de cada coleção que visitei: Dra. Tatiane Trigo (Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul), Dra. Carla Fontana (Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul), Dr. Alexandre Uarth Christoff (Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil), Dr. Maurício Graipel (Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina), Juliana Barros (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo), Karina Rebelo de Almeida (Coleção de Mamíferos do Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso” da Universidade Estadual de Campinas), Dr. João Alves de Oliveira (Museu Nacional de História Natural), Dr. Fernando Perini (Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais), MSc. Claudia Guimarães Costa (Coleção de Mastozoologia do Museu de Ciências Naturais PUC Minas) e Dra. Alexandra Bezerra (Museu Paraense Emílio Goeldi).

Ao Felipe Bortolotto Petters pela constante contribuição ao Laboratório de Biologia de Mamíferos e Aves, sempre fornecendo material para a construção da coleção de mastozoologia do Pampa, esse também utilizado para geração de pesquisas científicas.

Novamente agradeço ao amigo Mauro Bossi pela parceria na produção científica desde a graduação, além da ajuda fundamental em diversos momentos que as análises de dados (e os *softwares* que as acompanham) pareciam um mundo obscuro indecifrável.

Um grande obrigado à Andressa Xavier e Êmila Silveira, amizades que começaram no companheirismo de trabalho no laboratório durante as férias, passando pelo ombro amigo durante as crises existenciais ao longo do mestrado, e que com certeza seguirão como parcerias para a vida toda!

Agradeço aos meus pais pelo apoio e suporte necessário para a conclusão de mais esta etapa. E por fim, aos meus “filhotes” de quatro patas, que são a prova de que existe em todo felino a capacidade de oferecer carinho infinito e nos tirar um sorriso mesmo nos dias mais difíceis.

“Há perguntas ingênuas, perguntas enfadonhas, perguntas mal formuladas, perguntas propostas depois de uma inadequada autocrítica. Mas toda pergunta é um grito para compreender o mundo. Não existem perguntas imbecis.”

Carl Sagan

RESUMO

O estudo da variação da forma dos organismos tem importante papel na compreensão de uma variedade de processos biológicos, sendo um dos mais antigos temas investigados na Biologia Evolutiva. A morfometria geométrica tem sido utilizada para análises de variação morfológica, se tornando uma ciência quantitativa. Para mamíferos, o crânio é uma das estruturas mais informativas para estudos. Análises morfométricas do crânio de mamíferos da ordem Carnivora com extensas áreas de distribuição têm demonstrado que tamanho e forma podem variar por uma ampla gama de fatores. Neste contexto, a ampla distribuição geográfica e a grande abrangência de habitats utilizados pelo gato-mourisco, *Herpailurus yagouaroundi*, e pelo furão-pequeno, *Galictis cuja*, fazem delas espécies ideais para investigações de variação de forma. O objetivo deste trabalho foi testar duas hipóteses: (I) populações de diferentes ecorregiões apresentam fenótipos localizados como adaptação a cada ambiente; e (II) espécies com fenótipo mais generalista ao longo de suas distribuições geográficas, apresentando diferenças de acordo com o modelo previsto pelo isolamento por distância. Foram fotografados 59 crânios de gatos-mourisco e 52 de furões-pequenos, nas vistas ventral, dorsal e lateral, sendo todo material proveniente de indivíduos adultos com procedência conhecida, depositados em coleções de museus brasileiros. Este material foi analisado utilizando técnicas de morfometria geométrica. O Teste-t mostrou dimorfismo sexual significativo no tamanho para ambas as espécies, sendo o crânio dos machos maior que das fêmeas. Contudo, a análise multivariada de variância não detectou dimorfismo sexual quanto à forma. Os resultados mostraram que os indivíduos de gato-mourisco são significativamente maiores na região da Amazônia, enquanto os furões-pequenos da Savana Uruguaia são maiores do que da Mata Atlântica. Possivelmente esses padrões estejam relacionados a diferenças na disponibilidade e tamanho de recursos de cada ecorregião em relação aos demais. As duas espécies não apresentaram diferenças significativas para a forma entre as diferentes ecorregiões no Brasil amostradas, à exceção da vista lateral do gato-mourisco, que aparenta apresentar fenótipo localizado no Cerrado. As características distintas deste ambiente poderiam estar exercendo pressões seletivas suficientes para distinguir estes espécimes. Porém, devido à sua flexibilidade ecológica e capacidade de dispersão, e da alta consistência da forma do crânio inerente da família Felidae em suportar certa variabilidade morfológica sem

perder a funcionalidade, esta poderia ser uma flutuação fenotípica fixada. A hipótese do isolamento por distância foi corroborada apenas para o furão-pequeno, devido à correlação significativa da distância geográfica e forma da vista dorsal. Porém, a existência de fenótipos localizados não pode ser totalmente excluída, devido à falta de amostragem de espécimes deste mustelídeo em outras regiões. Este foi o primeiro trabalho a investigar variações intraespecíficas na forma e tamanho do crânio do gato-mourisco e do furão-pequeno. Dados básicos da ecologia de ambas as espécies ainda são necessários, de forma a melhorar nossa compreensão dos processos evolutivos envolvidos. Além disso, há uma carência de material museológico em grande parte de suas distribuições, sobretudo das ecorregiões Caatinga e Cerrado. Assim, amostragens que abranjam estes ambientes, bem como estudos ecológicos mais aprofundados são recomendados para elucidar com maior precisão a natureza e característica da variação morfológica, ecológica e evolutiva destas espécies.

Palavras-chave: Dimorfismo sexual. Isolamento por distância. Morfometria geométrica. Seleção natural. Variação intraespecífica.

ABSTRACT

The study of shape variation of organisms plays an important role in understanding a variety of biological processes, being one of the oldest subjects investigated in Evolutionary Biology. Geometric morphometric techniques have been used to analyze variation in morphology, becoming a more quantitative science. For mammals the skull is one of the most informative structures used for studies. Morphometric analyses of the skull of mammals from the order Carnivora with extensive distribution areas have shown that size and shape can vary by a wide range of factors. In this context, the wide geographical distribution and the wide range of habitats used by the jaguarundi, *Herpailurus yagouaroundi*, and the lesser grison, *Galictis cuja*, make them ideal species for investigations of variation of form. The objective of this work was to test two hypotheses: (I) populations of different ecoregions present localized phenotypes as adaptation to each environment; and (II) species present a more general phenotype along their geographic distributions, presenting differences according to the isolation by distance model. A total of 59 skulls of jaguarundis and 52 of lesser grisons were photographed in the ventral, dorsal and lateral views, all from adult individuals of known origin deposited in Brazilian museums. This material was analyzed using geometric morphometric techniques. The Student's *t*-test showed significant sexual dimorphism in size for both species, with the male's skull being larger than female's. However, the multivariate analysis of variance did not detect sexual dimorphism in shape. The results showed that the individuals of jaguarundi are significantly larger in the Amazon region, while the lesser grisons from Uruguayan savanna are larger than the ones from the Atlantic Forest. Possibly these patterns are related to differences in the availability and size of resources of each ecoregion in relation to the others. The two species did not show significant differences in skull shape between the different ecoregions in Brazil, except for the lateral view of jaguarundi, which appears to present a localized phenotype in Cerrado. The distinct characteristics of this environment could be exerting selective pressures sufficient to distinguish these specimens. However, due to its ecological flexibility and scatter ability, and the high consistency of the skull shape of Felidae family to withstand certain morphological variability without losing functionality, this could be a fixed phenotypic fluctuation. The isolation by distance hypothesis was corroborated only for the lesser grison, due to the significant correlation

between geographic distance and shape of dorsal view. However, the existence of localized phenotypes cannot be totally excluded due to the lack of sampling of specimens of this mustelid from other regions. This was the first work to investigate intraspecific variations in the skull shape and size of jaguarundi and lesser grison. Basic data on the ecology of both species are still needed in order to improve our understanding of the evolutionary processes involved. In addition, there is a lack of museological material in most of its distributions, especially the Caatinga and Cerrado ecoregions. Thus, samples that cover these environments, as well as more ecological studies are recommended to elucidate more accurately the nature and characteristic of the morphological, ecological and evolutionary variation of these species.

Keywords: Geometric morphometric. Intraspecific variation. Isolation by distance. Natural selection. Sexual dimorphism.

APRESENTAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Este trabalho está apresentado de acordo com o “Manual para elaboração e normalização de trabalhos acadêmicos: conforme normas da ABNT”, que estabelece o padrão de apresentação de trabalhos acadêmicos da Universidade Federal do Pampa.

Inicia-se com uma **Introdução Geral**, em que é apresentada uma breve revisão da literatura sobre o tema abordado e as referências bibliográficas citadas que aparecem neste item. Na sequência um tópico com **Objetivo** e **Hipóteses** gerais da pesquisa.

Os dois próximos capítulos que compõem esta dissertação estão apresentados como artigos científicos, cada um com seus respectivos Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas. O **Capítulo I** está formatado de acordo com as normas da *Journal of Mammalogy*, revista à qual se encontra submetido. O **Capítulo II** segue as normas de formatação da *Journal of Zoology*, revista à qual se pretende submetê-lo.

Por fim o item **Conclusões Gerais** apresenta de forma sintética as interpretações tiradas sobre a discussão de cada artigo apresentado nesta dissertação.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL ..	16
1.1	O estudo da variação da forma ..	16
1.2	<i>A variação morfológica nos mamíferos ..</i>	17
1.2.1	<u>A Família Felidae ..</u>	19
1.2.1.1	O gato-mourisco (<i>Herpailurus yagouaroundi</i> E Â. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803)	21
1.2.2	<u>A Família Mustelidae ..</u>	23
1.2.2.1	O furão-pequeno (<i>Galictis cuja</i> Molina, 1782) ..	24
2	OBJETIVO ..	26
2.1	Hipóteses ..	26
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..	27
3	CAPÍTULO I - ISOLATION BY DISTANCE OR HABITAT ADAPTATION? INVESTIGATING DIFFERENCES IN SKULL MORPHOLOGY OF A SMALL NEOTROPICAL CAT ..	35
	Abstract ..	36
	INTRODUCTION ..	37
	MATERIALS AND METHODS ..	39
	<i>Sample ..</i>	39
	<i>Geometric morphometric procedures ..</i>	41
	<i>Data analysis ..</i>	43
	RESULTS ..	45
	<i>Sexual dimorphism ..</i>	45
	<i>Skull size ..</i>	45
	<i>Skull shape ..</i>	46
	DISCUSSION ..	49
	<i>Sexual dimorphism ..</i>	49
	<i>Skull size ..</i>	49
	<i>Skull shape ..</i>	51
	ACKNOWLEDGEMENTS ..	54
	LITERATURE CITED ..	55
	SUPPLEMENTARY DATA ..	62

4	CAPÍTULO II – VARIATION IN THE SKULL MORPHOLOGY OF THE SMALL NEOTROPICAL MUSTELID <i>Galictis cuja</i> (CARNIVORA: MUSTELIDAE): ISOLATION BY DISTANCE OR HABITAT ADAPTATION?.....	66
	Abstract	67
	Introduction	68
	Materials and Methods	70
	Sample	70
	Geometric morphometric procedures	72
	Data analysis	74
	Results	75
	Discussion	77
	Acknowledgements	80
	References	81
	Supporting Information	87
5	CONCLUSÕES GERAIS	90

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 O estudo da variação da forma

Por séculos, a comparação de características morfológicas e anatômicas dos organismos e a compreensão de como as variações entre estas características se associam têm sido áreas de grande interesse para os naturalistas, estando entre os mais antigos temas investigados na Biologia. A classificação taxonômica dos organismos e a compreensão da diversidade da vida e como esta evolui foram historicamente baseadas na observação e descrição de como os organismos diferem seus traços morfológicos e no uso destas características (Rohlf & Marcus, 1993; Adams et al., 2013).

Durante a maior parte do século XX, o estudo da forma passou de uma área descritiva para uma ciência mais quantitativa, dando origem ao campo da morfometria, ou seja, o estudo da variação da forma e sua covariação com outras variáveis. A morfometria tradicional se baseia na utilização de estatísticas multivariadas sobre conjuntos de medidas de distâncias como larguras e comprimentos das estruturas, assim como razões ou ângulos (Rohlf & Marcus, 1993; Adams et al., 2013).

Na década de 80, porém, ocorreu uma mudança em como as estruturas morfológicas são quantificadas. As análises tradicionais foram sendo suplantadas por uma abordagem que captura e preserva as informações geométricas da estrutura, baseada em coordenadas de marcos anatômicos, a morfometria geométrica (Adams et al., 2013). Esta nova abordagem é mais eficiente em capturar informações de forma, apresenta maior poder estatístico e é mais efetiva na visualização e interpretação das variações, já que permite a geração de representações gráficas das formas (Rohlf & Marcus, 1993; Adams et al., 2013).

Análises da forma têm um papel importante na compreensão de muitos outros estudos na área da Biologia Evolutiva. Uma variedade de processos biológicos pode produzir diferenças de forma entre indivíduos, como doenças, desenvolvimento ontogenético, adaptação a fatores geográficos locais ou diversificação evolutiva em longo prazo. Diferenças na forma podem sinalizar diferentes papéis funcionais desempenhados pelas mesmas estruturas, diferentes respostas às mesmas pressões seletivas (ou diferenças nessas próprias pressões), bem como diferenças nos processos de crescimento e morfogênese. Estudar as variações de forma, tanto em nível inter como

intrapopulacional, é uma abordagem para entender como as espécies respondem às diversas causas dessas variações, além de como estes processos modulam conjuntos de traços específicos (Zelditch et al., 2004).

As estruturas de origem biológica que podem ser analisadas com técnicas de morfometria geométrica são inúmeras. Nas últimas décadas muitos trabalhos de quantificação de forma vêm sendo publicados em diversas áreas de interesse. Com a morfometria geométrica é possível promover bases para identificar e entender padrões de dimorfismo sexual, variação geográfica, taxonomia, bem como segregação trófica e processos competitivos entre espécies simpátricas, além do efeito de fatores como a filogenia, a dieta e o habitat sobre a forma de inúmeros táxons (*e.g.* Fornel, Cordeiro-Estrela & Freitas, 2010; Schiaffini & Prevosti, 2013; Law & Mehta, 2018).

1.2 A variação morfológica nos mamíferos

O crânio é uma estrutura ontogeneticamente e funcionalmente complexa. Ele protege e abriga os principais órgãos sensoriais (audição, visão e olfato) e protege o cérebro, além de ter papel funcional importante na coleta e processamento de alimentos, na vocalização e na respiração. Considerando a importância de se estudar o crânio, análises morfométricas têm sido utilizadas para coletar informações sobre diferenças inter e intraespecíficas, pois, além de sua forma ser limitada pelo desenvolvimento e filogenia, também pode ser influenciada pelas exigências mecânicas impostas por seus diferentes papéis funcionais (Van Valkenburg et al., 2014).

Adicionalmente às dimensões e ao tamanho do corpo, o crânio também tem sido referido como uma estrutura que apresenta variação morfológica entre sexos e ao longo da distribuição geográfica em diversas espécies de mamíferos (Meiri et al., 2005). Sua variação nesse caso, não se deve exclusivamente a diferenças anatômicas, mas também às distâncias genéticas e aos efeitos ambientais (Simonsen et al., 2003). Mamíferos da ordem Carnivora têm recebido atenção em estudos macroecológicos, pois frequentemente são espécies com ampla distribuição geográfica e acentuada variação geográfica de tamanho (Meiri, Dayan & Simberloff, 2004).

Os carnívoros são divididos em duas linhagens evolutivas, as subordens Feliformia, composta por sete famílias, e Caniformia, com nove famílias, tendo a divergência entre estas estimada em 59 milhões de anos (M.a.) (Eizirik et al., 2010). O

caráter diagnóstico da ordem Carnivora é o par de dentes carniceiros (o quarto pré-molar superior e o primeiro molar inferior), que foram modificados como lâminas em “tesoura” para o consumo efetivo de carne. Embora os dentes carniceiros sejam uma sinapomorfia para o grupo, seus membros diversificaram-se para ocupar uma ampla gama de nichos, com clados hipercarnívoros como os felinos (Felidae), generalistas como os canídeos (Canidae), insetívoros como os mangustos (Herpestidae), onívoros como os ursos (Ursidae) e guaxinins (Procyonidae), até o estritamente herbívoro urso-panda (Ailuridae) (Hunter, 2011).

Análises morfométricas do crânio de espécies de mamíferos carnívoros com amplas áreas de distribuição têm demonstrado que seu tamanho e forma podem variar por uma gama de fatores ao longo de suas distribuições. Duas das espécies com as maiores distribuições geográficas dentre os mamíferos terrestres, a raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*), e o puma (*Puma concolor*), são exemplos do impacto do clima sobre o fenótipo, particularmente o tamanho, o qual varia correlacionado com a latitude. Entre fatores ecológicos, a competição interespecífica também tem influência em moldar padrões de variação cranianos (Gay & Best, 1996; Szuma, 2008). Aliás, esta é tida como um dos fatores preponderantes na variação no cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), uma vez que há um padrão de segregação de tamanho relacionado à sua simpatria com espécies similares, como uma forma de diminuir a competição potencial (Bubadué et al., 2016).

Uma combinação de deriva genética e adaptações a paisagens locais têm seu papel nos padrões de variação morfológica sobre as populações isoladas de tigres (*Panthera tigris*) atuais (Mazák, 2010). Enquanto para outros, como o zorrilho (*Conepatus chinga*), a variação de tamanho parece ser explicada pela hipótese da “regra do recurso” (Mcnab, 2010), segundo a qual a tendência de aumentar ou diminuir em tamanho depende da disponibilidade, abundância e tamanho dos recursos consumidos em cada região que a espécie ocorre (Schiaffini, 2016).

Embora exista uma vasta literatura sobre variações morfológicas em mamíferos da ordem Carnivora, há uma tendência dos estudos para táxons do hemisfério norte, especialmente aqueles de climas temperados, do que em relação aos de regiões tropicais. Apesar de ser a ordem de mamíferos mais estudada neste aspecto, cerca de 70% das espécies de carnívoros no mundo ainda carecem de ter suas morfologias compreendidas (Meiri, Dayan & Simberloff, 2004).

1.2.1 A Família Felidae

O cenário mais parcimonioso implica que os felinos modernos surgiram na Ásia com a divergência da Linhagem Panthera, a 10,8 M.a. e, posteriormente, a Linhagem do Gato-vermelho-de-bornéu, a 9,4 M.a. Uma migração inicial ocorreu de 8,5 a 5,6 M.a. quando um progenitor da Linhagem do Caracal chegou à África. Uma segunda migração realocou o ancestral comum das outras cinco linhagens felinas (Jaguaritica, Lince, Puma, Gato-leopardo e Gato-doméstico) pela Ponte Terrestre de Beringia para a América do Norte, de 8,5 a 8,0 M.a. (Johnson et al., 2006).

A guilda felina Neotropical foi aparentemente formada em duas fases. Os primeiros felídeos a invadir a região deram origem à Linhagem da Jaguaritica, cuja diferenciação de espécies foi provavelmente facilitada pela ponte terrestre do Panamá a 2,7 M.a. durante o Grande Intercâmbio Faunístico das Américas (Johnson et al., 2006). Estes se diversificaram ocupando todos os habitats disponíveis, enquanto demonstrando variação morfofuncional relativamente modesta, com espécies de tamanho médio a pequeno (Morales & Giannini, 2010).

Secundariamente, o puma e a onça-pintada (*Panthera onca*), estabeleceram populações na América do Sul durante o Plioceno Superior. Estes foram seguidos pela chegada de uma espécie com morfologia extensivamente sobreposta aos pequenos felinos já estabelecidos, mas com hábitos contrastantes, o gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) (Morales & Giannini, 2010). A Linhagem do Puma evoluiu de um ancestral comum a cerca de 6,7 milhões de anos. Originados da América do Norte, o guepardo (*Acinonyx jubatus*) posteriormente migrou para a Ásia e África, enquanto o puma provavelmente divergiu do gato-mourisco antes da formação da ponte de terra entre as Américas do Norte e do Sul, permitindo que ambos colonizassem toda a região (Johnson et al., 2006).

Embora os felinos apresentem várias particularidades ecológicas ao longo de suas distribuições em diversos ambientes em todo o mundo, eles são essencialmente hipercarnívoros (Macdonald; Loveridge & Nowell, 2010). As adaptações da família Felidae à hipercarnivoria, aliadas à sua rápida especiação e recente origem evolutiva, explicam em parte sua morfologia tão conservada (Johnson et al., 2006). Felídeos compartilham uma série de caracteres anatômicos associados à predação de vertebrados,

como um rostró curto, arcos zigomáticos largos, caninos fortes e pós-caninos reduzidos, exceto pelos dentes carniceiros (Kitchener, Valkenburgh & Yamaguchi, 2010).

Estudos morfológicos da família Felidae têm focado em padrões e mudanças evolutivas (Christiansen, 2008; Sicuro, 2011; Sicuro & Oliveira, 2011; Sakamoto & Ruta, 2012; Tamagnini, Meloro & Cardini, 2017), associações morfológicas e funcionais (Kiltie, 1984; Meachen-Samuels & Valkenburgh, 2009; Morales & Gianinni, 2010) e ontogenia (Segura & Flores, 2009; Segura, Prevosti & Cassini, 2013; Segura, Cassini & Prevosti, 2016). Estes têm mostrado que a evolução da forma do crânio nos felídeos modernos tem sido governada pela necessidade de uma mordida uniforme poderosa, independentemente do tamanho do corpo (Christiansen, 2008).

É possível reconhecer padrões morfológicos diferentes na família, sendo que a diferenciação de tamanho é apenas uma influência da alometria, e por isso não é capaz de explicar a amplitude da diversidade da forma. Ainda não há uma síntese clara sobre as demais fontes de variação, tanto filogenéticas como ecomorfológicas (Sicuro, 2011). Porém, de acordo com Sicuro & Oliveira (2011), essas diferenças possivelmente indicam que a variação na morfologia do crânio pode ser resultado de flutuações fenotípicas, cujo valor adaptativo ainda é obscuro. Portanto, as pressões seletivas relacionadas à predação requerem alterações morfológicas compensatórias para manter o desempenho e funcionalidade de uma mordida eficaz (Christiansen, 2008).

Segundo Kiltie (1984) e Morales & Giannini (2010), a assembléia de felídeos da região Neotropical foi essencialmente estruturada pelo tamanho. Apesar das espécies atuais em geral possuírem amplas distribuições, estas têm recebido pouca atenção quanto a estudos de variação morfológica. Em geral estão incluídas em trabalhos voltados a tendências evolutivas da família Felidae com um todo (Kiltie, 1984; Morales & Giannini, 2010; Sicuro, 2011; Sakamoto & Ruta, 2012) ou ontogenia (Segura & Flores, 2009; Segura, Prevosti & Cassini, 2013; Segura, Cassini & Prevosti, 2016). Das 11 espécies de felídeos neotropicais, apenas cinco possuem algum trabalho publicado sobre morfologia craniana abordando variações intraespecíficas, todos utilizando técnicas de morfometria tradicional.

Entre estes, Larson (1997), em sua análise de caracteres cranianos, encontrou que há mais variabilidade morfológica dentro das populações do que entre elas, não demonstrando diferenças significativas entre as supostas subespécies de onça-pintada (Larson, 1997). Apesar disso, sabe-se que há uma grande variação no peso médio da espécie entre os sexos e entre os ambientes que ocorre. Em geral, os menores animais

são encontrados em florestas densas, onde os machos não ultrapassam 75 kg e as fêmeas 40 kg. Enquanto os ambientes mais abertos apresentam uma tendência a animais maiores, com animais pesando até 87,5 kg no Cerrado, fêmeas de 83 kg e machos de 108 kg no Pantanal (Gambarini et al., 2016).

O segundo maior felino das Américas, o puma, é o felídeo Neotropical que tem sido mais estudado. Sabe-se que há variação geográfica significativa em tamanho para a espécie, que vem sendo explicada por uma combinação de fatores climáticos e bióticos (Iriarte et al., 1990; Gay & Best, 1995). Esta variação mostrou-se correlacionada com latitude, além de ser influenciada pela temperatura, tamanho das presas consumidas e simpatria com a onça-pintada. Porém, seu tamanho é inversamente proporcional a precipitação média anual, sendo os animais maiores encontrados nas regiões mais secas. Os maiores indivíduos ocorrem nos extremos temperados da distribuição, sendo menores nas regiões tropicais (Hunter, 2015).

Há uma análise craniométrica (Ruiz-García, Corrales & Pinedo-Castro, 2012) para a jaguatirica (*Leopardus pardalis*), demonstrando que não houve associação clara da forma do crânio com as regiões geográficas. Porém, os animais das regiões norte e central da América do Sul compuseram uma única população, se diferenciando das populações mais setentrionais da América Central.

Dos pequenos felinos, o gato-andino (*Leopardus jacobita*) tem sido usualmente excluído dos estudos morfométricos pela escassez de material. Porém, Tellaèche et al. (2018) discutem que a morfologia craniana dessa espécie não demonstrou tendência ou padrão de variação associado à latitude, com base em medidas dos seis crânios disponíveis em coleções. Os mesmos autores demonstraram que há diferenciação entre populações pré-estabelecidas do gato-palheiro (*L. colocola*), baseado na classificação de subespécies proposta por García-Perea (1994). Ambas as espécies exibiram dimorfismo sexual, sendo os machos maiores que as fêmeas.

1.2.1.1 O gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi* E. Â. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803)

O gato-mourisco é um felino de pequeno-médio porte, com média de peso em 5,2 kg. Possui corpo alongado e delgado, cabeça pequena e achatada, orelhas pequenas e arredondadas, pernas proporcionalmente curtas e cauda longa (média de 41,9 cm), com aproximadamente dois terços do comprimento do corpo (média de 63,7 cm).

Ocorre desde o sul do Texas, nos Estados Unidos, até a província de Buenos Aires na Argentina, estando ausente apenas no Chile. Seu habitat é extremamente variado, incluindo florestas tropicais e subtropicais, campos e savanas até ambientes alterados, desde que associado à matriz natural (Oliveira, 1998). É considerado um predador oportunista de pequenos vertebrados, principalmente mamíferos, répteis e aves, sendo peixes, invertebrados e plantas consumidos em menor frequência (Giordano, 2016).

Análises filogenéticas usando DNA mitocondrial e marcadores de microssatélite indicaram uma unidade genética única para a espécie ao sul do Rio Amazonas e um agrupamento filogeográfico ao norte, com grau de diferenciação recente em termos evolutivos e ocorrência de fluxo gênico entre os grupos até um passado recente (Pires, 2012), além de não suportarem as oito subespécies classicamente reconhecidas por morfologia (Oliveira, 1998). A autora sugeriu que, apesar de baixo, o isolamento por distância parece ter desempenhado um papel na limitação do fluxo gênico entre as populações destas duas áreas de ocorrência.

Porém, Ruiz-Garcia, Pinedo-Castro & Shostell (2018) propuseram que a espécie *H. yagouaroundi* fosse classificada, em uma perspectiva molecular, em três táxons subespecíficos: (1) *H. y. yagouaroundi* (ampla distribuição nas Américas Central e do Sul), (2) *H. y. melantho* (centro e sul dos Andes e seus intervalos) e (3) *H. y. eyra* (Paraguai e norte da Argentina). Em contraste, os autores detectaram uma clina circular significativa devido à alta similaridade entre o DNA mitocondrial de espécimes do Paraguai e Argentina com os animais do norte da Colômbia, embora essas áreas estejam separadas por cerca de 4.500 km. Assim, as expansões populacionais durante o Pleistoceno e além provavelmente evitaram a formação de um padrão claro de isolamento por distância nesta espécie.

Uma modelagem ecológica das duas principais cores da pelagem do gato-mourisco realizada por Silva et al. (2016) verificou que a pelagem escura / cinza está associada principalmente a florestas úmidas e densas, enquanto a cor vermelha ancestral está associada principalmente a ambientes secos e abertos. Os autores levantaram a hipótese de que existe uma tensão constante entre seleção natural divergente e fluxo gênico unificador nesta espécie, tornando-a um sistema interessante para análises evolutivas mais aprofundadas.

A morfologia craniana da espécie tem sido explorada principalmente dentro de estudos mais amplos da família Felidae, voltados a tendências evolutivas (Morales & Giannini, 2010; Sicuro, 2011, Sakamoto & Ruta, 2012) e contextos de funcionalidade

ecomorfológica (Kiltie, 1984; Sicuro & Oliveira, 2011). Em uma perspectiva ontogenética comparativa com as demais espécies da Linhagem do Puma, Segura, Prevosti e Cassini (2013) revelaram que a mudanças na forma do juvenil para o adulto são maiores no puma e no gato-mourisco do que no guepardo, e que estas são completadas em menos tempo, antes da maturidade sexual.

Este felino já foi descrito como funcionalmente idêntico ao simpátrico gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), levando-se em conta atributos cranianos (Kiltie, 1984). Alguns autores levantam a hipótese de que o gato-mourisco, como um recém-chegado mais tardio na assembléia de felídeos na região Neotropical, utilizou-se da segregação ao longo de outra dimensão de nicho, o padrão de atividade, e assim foi capaz de tolerar a sobreposição morfofuncional com espécies de pequenos felinos do gênero *Leopardus* previamente estabelecidas na região (Morales & Giannini, 2010).

Dimorfismo sexual em tamanho foi relatado para a espécie, sendo os machos maiores que as fêmeas (Segura, Prevosti & Cassini, 2013). Porém, até o momento, não há trabalhos que tenham investigado variações morfológicas intraespecíficas no crânio deste felino utilizando técnicas de morfometria geométrica.

1.2.2 A Família Mustelidae

A vasta maioria da diversificação das espécies da família Mustelidae ocorreu na região da Eurásia. A diversidade de mustelídeos na África e nas Américas é composta por gêneros ou espécies que repetidamente colonizaram estas regiões a partir da Eurásia. Nove eventos de dispersão individuais da Eurásia e apenas um evento de especiação *in situ* são responsáveis pela diversidade de mustelídeos que hoje ocorrem ou têm parte de sua distribuição na América do Norte. Isso inclui uma radiação dos gêneros *Lontra* e *Pteuronura* (pertencentes à subfamília Lutrinae), a semiarborícola irara (*Eira barbara*), juntamente com grupos menores, semelhantes a doninhas, incluídos nos gêneros *Galictis*, *Lyncodon* e *Mustela* (Koepfli et al., 2008).

Os mustelídeos encontrados na América do Sul, incluindo os gêneros *Mustela*, *Pteronura*, *Galictis* e *Eira*, são em grande parte descendentes de imigrantes norte-americanos que chegaram como parte do Grande Intercâmbio de Fauna Americano após a formação do istmo do Panamá, a 3,0-2,5 M.a., (Koepfli et al., 2008). Integrando seus resultados com as informações fósseis e moleculares disponíveis, Bornholdt et al.

(2013) hipotetizaram que um único ancestral do gênero *Galictis* invadiu a América do Sul neste episódio, dando origem às duas espécies existentes hoje, o furão-pequeno (*G. cuja*) e o furão-grande (*G. vittata*).

Os mustelídeos compõem a mais diversa família da linhagem Carnívora, refletida na sua diversidade locomotora e alimentar, com táxons de hábito fossorial (texugos), semi-arbóreo (martas) e semi-aquático (lontras), e dietas que variam da especialização por roedores (doninhas) à piscivoria (lontras), refletindo a adaptação das espécies a diferentes hábitos e habitats (Eizirik, 2012). Como a morfologia pode ajudar a identificar padrões de segregação trófica e possibilidades de processos competitivos entre espécies simpátricas, os estudos morfológicos da família Mustelidae até então têm focado em examinar como filogenia, dieta e habitat estariam relacionados à forma do crânio e mandíbula destes carnívoros (Schiaffini & Prevosti, 2013; Catalano, Ercoli & Prevosti, 2014; Dumont et al., 2016; Law, et al., 2018).

Na região Neotropical a família Mustelidae é composta por 11 espécies. Destas, apenas de duas foram investigadas a existência de variação na forma ou em tamanho, em nível intraespecífico. Entre elas, a lontra-neotropical (*Lontra longicaudis*), a qual apresentou variação em tamanho entre unidades geográficas, fato atribuído à distância entre populações e à presença de barreiras geográficas (Hernández-Romero, Guerrero & Valdespino, 2015), e a doninha-de-cauda-longa (*Mustela frenata*), que demonstrou ser menor quando em simpatria com seus dois congêneres menores (*M. erminea* and *M. nivalis*). No último caso, como as três espécies têm dietas muito sobrepostas, seus tamanhos tenderam a convergir possivelmente como respostas semelhantes às mesmas pressões seletivas (Meiri, Simberloff & Dayan, 2011).

1.2.2.1 O furão-pequeno (*Galictis cuja* Molina, 1782)

O furão-pequeno é um mustelídeo de pequeno porte com corpo delgado e alongado e membros curtos, que pesa em torno de 1 a 3 kg. É um animal ágil com habilidades para escalar, embora prefira forragear no solo, onde caça pequenos vertebrados, como roedores, anfíbios, aves e répteis (Reis et al., 2011). Essencialmente carnívoro, preda secundariamente ovos, frutos e invertebrados. Apesar de seus membros serem adaptados para correr e escalar, é capaz de encontrar, perseguir e entrar nos túneis de suas presas para caçá-las (Yensen & Tarifa, 2003).

Sua distribuição abrange o sudeste do Peru, oeste e sul da Bolívia, centro do Chile, Paraguai, Uruguai e Argentina (Helgen & Schiaffini, 2016). No Brasil parece haver uma clara divisão biogeográfica com seu parente mais próximo, *G. vittata*. O furão-grande parece ocorrer exclusivamente na região Amazônica, enquanto o furão-pequeno se distribui pelos outros biomas, incluindo os mais áridos Cerrado e Caatinga no nordeste, assim como a Mata Atlântica em todo o litoral leste e os campos do Pampa em direção ao sul (Bornholdt et al., 2013).

Apesar de ser uma espécie amplamente distribuída, há pouca informação disponível sobre o furão-pequeno, o que o torna um dos cinco carnívoros neotropicais menos conhecidos (Oliveira, 2009). A literatura disponível sobre a espécie inclui alguns estudos sobre ecologia trófica na Argentina, Chile, Uruguai e sul do Brasil (Ebensperger, Mella, & Simonetti, 1991; Diuk-Wasser & Cassini, 1998; Delibes et al., 2003; Kraus & Rödel, 2004; Zapata et al., 2005; Kasper et al., 2015), seleção de habitat (Zúñiga, Muñoz-Pedreros & Fierro, 2009) e anatomia (Ercoli et al., 2012; Ercoli et al., 2016). Apenas um trabalho (Bornholdt et al., 2013) revisou genética e morfologicamente o gênero *Galictis*. Segundo os autores, apesar de haver diferença significativa de tamanho entre as espécies, os maiores machos do furão-pequeno podem sobrepor-se em tamanho com os menores machos do furão-grande, fato atribuído a variações individuais intrapopulacionais. Este estudo baseou-se em morfometria tradicional, considerando apenas a variação de tamanho do crânio sem levar em conta possíveis variações de forma.

Em uma avaliação de ecologia trófica, Kasper et al. (2015) apontaram alta similaridade da dieta do furão-pequeno em relação aos também hipercarnívoros felinos, especialmente com o gato-mourisco, no sul do Brasil. Outra pesquisa que avaliou a segregação trófica de pequenos carnívoros do sul da América do Sul, utilizando a morfometria geométrica, Schiaffini & Prevosti (2013) descreveram que as duas espécies mais similares da guilda estudada, o furão-pequeno e a doninha-patagônica (*Lyncodon patagonicus*), pertencem ao morfotipo “hipercarnívoro”. Porém, diferenças significativas em tamanho foram observadas entre estas espécies, sugerindo que segregação trófica neste aspecto pode estar ocorrendo, com o furão-pequeno predando uma maior variedade de roedores e lagomorfos, e a doninha-patagônica especializada na predação de roedores fossoriais. Ainda não há estudos com enfoque na investigação da existência de padrões de variabilidade no tamanho ou na forma do crânio do furão-pequeno a nível intraespecífico.

2 OBJETIVO

Este estudo visa investigar a existência de variação intraespecífica na forma e tamanho do crânio do gato-mourisco, *Herpailurus yagouaroundi* e do furão-pequeno, *Galictis cuja*, ao longo de suas distribuições geográficas, fornecendo assim bases para o entendimento de como pressões seletivas, heterogeneidade ambiental e distância geográfica podem modular a evolução da forma do crânio ou promover variações de tamanho em mamíferos carnívoros.

2.1 Hipóteses

I) Análises morfométricas do crânio de mamíferos da ordem Carnivora com extensas áreas de distribuição têm indicado que padrões de variação de forma e tamanho podem estar correlacionados a amplitude de condições ambientais, bem como características dos recursos (Mcnab, 2010; Schiaffini, 2016). A América do Sul exibe uma diversidade de padrões climáticos, de regiões tropicais a extratropicais (Garreaud et al., 2009), o que leva a presença de gradientes climáticos associados com a substituição dos ambientes. Com base nestes dados e na amplitude de habitat em termos de vegetação, clima e recursos encontradas ao longo de suas amplas distribuições geográficas, presume-se encontrar um padrão de diferenciação intraespecífica na morfologia do crânio de ambas as espécies, com a existência de fenótipos localizados, como forma de adaptações locais a diferentes condições ambientais de cada ecorregião, sendo a seleção natural a força promotora predominante.

II) Por outro lado, tamanho e variação morfológica nem sempre estão associados a forças adaptativas, pois em alguns casos elas podem ser explicadas por distância geográfica (Hernández-Romero; Guerrero; Valdespino, 2015). Traçando uma analogia entre o genótipo e o fenótipo nos permite propor a segunda hipótese, de que o crânio destas espécies segue o modelo do isolamento por distância (Wright, 1943), segundo o qual a similaridade genética entre populações diminui com o aumento da distância geográfica. Neste caso a deriva gênica seria a principal força evolutiva atuante sobre a morfologia craniana destas espécies, presumindo-se encontrar uma morfologia mais generalista ao longo de suas distribuições geográficas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, D. C.; Rohlf, F. J.; Slice, D. E. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. **Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy**, v. 24, n. 1, p. 7-14, 2013.

Bubadué, J. M. et al. Character displacement under influence of Bergmann's rule in *Cerdocyon thous* (Mammalia: Canidae). **Hystrix**, v. 27, n. 2, p. 1-8, 2016.

Bornholdt, R. et al. Taxonomic revision of the genus *Galictis* (Carnivora: Mustelidae): species delimitation, morphological diagnosis, and refined mapping of geographical distribution. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v.167, n.3, p. 449-472, 2013.

Catalano, S. A.; Ercoli, M. D.; Prevosti, F. J. The more, the better: the use of multiple landmark configurations to solve the phylogenetic relationships in musteloids. **Systematic Biology**, v. 64, n. 2, p. 294-306, 2014.

Delibes, M. et al. Alien mammals and the trophic position of the lesser grison (*Galictis cuja*) in Argentinean Patagonia. **Canadian Journal of Zoology**, v. 81, n.1, p. 157-162, 2003.

Diuk-Wasser, M. A.; Cassini, M. H. A study on the diet of minor grisons and a preliminary analysis of their role in the control of rabbits in Patagonia. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 33, n.1, p. 3-6, 1998.

Dumont, M. et al. Do functional demands associated with locomotor habitat, diet, and activity pattern drive skull shape evolution in musteloid carnivorans?. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 117, n.4, p. 858-878, 2016.

Eizirik, E. et al. Pattern and timing of diversification of the mammalian order Carnivora inferred from multiple nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n.1, p. 49-63, 2010.

Eizirik, E. A Molecular View on the Evolutionary History and Biogeography of Neotropical Carnivores (Mammalia, Carnivora). *In*: Patterson, B. D.; Costa, L. P. **Bones, Clones, and Biomes: The History and Geography of Recent Neotropical Mammals**. The University of Chicago Press, p.123-143, 2012.

Ercoli, M. D. et al. The functional and phylogenetic implications of the myology of the lumbar region, tail, and hind limbs of the lesser grison (*Galictis cuja*). **Journal of Mammalian Evolution**, v.20, n.4, p. 309-336, 2012.

Ercoli, M. D. et al. Myology of the head, neck, and thoracic region of the lesser grison (*Galictis cuja*) in comparison with the red panda (*Ailurus fulgens*) and other carnivorans: phylogenetic and functional implications. **Journal of Mammalian Evolution**, v.24, n.3, p. 289-322, 2016.

Ebensperger, L. A.; Mella, J. E.; Simonetti, J. A. Trophic-niche relationships among *Galictis cuja*, *Dusicyon culpaeus*, and *Tyto alba* in central Chile. **Journal of Mammalogy**, v.72, n.4, p. 820-823, 1991.

Fornel, R.; Cordeiro-Estrela, P.; De Freitas, T. R. O. Skull shape and size variation in *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae) in geographical, chromosomal polymorphism, and environmental contexts. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 101, n.3, p. 705-720, 2010.

Gambarini, A. et al. ***Panthera onca: À sombra das florestas***. 1. ed. Vinhedo: Avis Brasilis, 2016. v. 1. 304p.

García-Perea, R. The Pampas cat group (genus *Lynchailurus* Severtzov, 1858) (Carnivora, Felidae): a systematic and biogeographic review. **American Museum Novitates**, n. 3096, p. 1–35, 1994.

Garreaud, R. et al. Present-day South American climate. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 281, p. 180–195, 2009.

Gay, S. W.; Best, T. L. Relationships between abiotic variables and geographic variation in skulls of pumas (*Puma concolor*: Mammalia, Felidae) in North and South America. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 117, n. 3, p. 259-282, 1996.

Giordano, A. J. Ecology and status of the jaguarundi *Puma yagouaroundi*: a synthesis of existing knowledge. **Mammal Review**, v. 46, n.1, p 30-43, 2016.

Helgen, K. & Schiaffini, M. 2016. *Galictis cuja*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016:e.T41639A45211832. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41639A45211832.en>>. Último acesso em: 12 Jan. 2019.

Hernández-Romero, P. C.; Guerrero, J. A.; Valdespino, C. Morphological variability of the cranium of *Lontra longicaudis* (Carnivora: Mustelidae): a morphometric and geographic analysis. *Zoological Studies*, v. 54, n. 1, p. 1, 2015.

Hunter, L. **Carnivores of the World**. Princeton University Press, p. 240, 2011.

Hunter, L. **Wild cats of the world**. Bloomsbury Natural History, p. 240, 2015.

Iriarte, J. A. et al. Biogeographic variation of food habits and body size of the America puma. **Oecologia**, v. 85, n.2, p. 185-190, 1990.

Johnson, W.E. et al. The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. **Science**, v. 311, n.5757, p. 73-77, 2006.

Kasper, C. B. et al. Trophic relationships of sympatric small carnivores in fragmented landscapes of southern Brazil: niche overlap and potential for competition. **Mammalia**, v. 80, n.2, p. 143-152, 2015.

Kiltie, R. A. Size ratios among sympatric neotropical cats. **Oecologia**, v. 61, n. 3, p. 411-416, 1984.

Kitchener, A. C.; Van Valkenburgh, B.; Yamaguchi, N. Felid form and function. *In*: Macdonald, D.; Loveridge, A. (Org.). **Biology and Conservation of Wild Felids**. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press, p.83-106, 2010.

Koepfli, K. P. et al. Multigene phylogeny of the Mustelidae: resolving relationships, tempo and biogeographic history of a mammalian adaptive radiation. **BMC biology**, v. 6, n. 1, p. 10, 2008.

Kraus C; Rödel H. G. Where have all the cavies gone? Causes and consequences of predation by the minor grison on a wild cavy population. **Oikos**, v. 105, n. 3, p. 489-500, 2004.

Larson, S. E. Taxonomic re-evaluation of the jaguar. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 16, n. 2, p. 107-120, 1997.

Law, C. J. et al. Effects of diet on cranial morphology and biting ability in musteloid mammals. **Journal of evolutionary biology**, v. 31, n. 12, p. 1918-1931, 2018.

Law, C. J.; Mehta, R. S. (2018). Carnivory maintains cranial dimorphism between males and females: evidence for niche divergence in extant Musteloidea. **Evolution**, v. 72, n. 9, p. 1950-1961, 2018.

Macdonald, D; Loveridge, A; Nowell, K. Dramatis personae: an introduction to the wild felids. *In*: Macdonald, D.; Loveridge, A. (Org.). **Biology and Conservation of Wild Felids**. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press, 2010.

Mazák, J. H. Craniometric variation in the tiger (*Panthera tigris*): Implications for patterns of diversity, taxonomy and conservation. **Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde**, v. 75, n. 1, p. 45-68, 2010.

McNab, B. K. Geographic and temporal correlations of mammalian size reconsidered: a resource rule. **Oecologia**, v. 164, n. 1, p. 13-23, 2010.

Meachen-Samuels, J.; Van Valkenburgh, B. Craniodental indicators of prey size preference in the Felidae. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 96, n.4, p. 784-799, 2009.

Meiri, S.; Dayan, T.; Simberloff, D. Carnivores, biases and Bergmann's rule. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 81, n. 4, p. 579-588, 2004.

Meiri, S.; Dayan, T.; Simberloff, D. Variability and correlations in carnivore crania and dentition. **Functional Ecology**, v. 19, n.2, p. 337-343, 2005.

Meiri, S.; Simberloff, D.; Dayan, T. Community-wide character displacement in the presence of clines: A test of Holarctic weasel guilds. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, n. 4, p. 824-834, 2011.

Morales, M. M.; Giannini, N. P. Morphofunctional patterns in Neotropical felids: species co-existence and historical assembly. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 100, n. 3, p. 711-724, 2010.

Oliveira, T. G. *Herpailurus yagouaroundi*. **Mammalian Species**, v. 578, p. 1-6, 1998.

Oliveira T. G. Notes on the distribution, status, and research priorities of little-known small carnivores in Brazil. **Small Carnivore Conservation**, v. 41, p. 22-24, 2009.

Pires, C. B. Diversidade Genética e Filogeografia de *Puma yagouaroundi* (Mammalia, Carnivora, Felidae). MSc dissertation, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Reis, N. R. et al. **Mamíferos do Brasil**. 2ª Edição. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

Rohlf, F. J; Marcus, L. F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, v.8, n.4, p. 129-132, 1993.

Ruiz-García, M.; Corrales, C.; Pinedo-Castro, M. Craniometric and microsatellite genetic differentiation among putative ocelot subspecies (*Leopardus pardalis*) throughout Latin America. **Evolutionary Biology and Conservation of the Neotropical Carnivores Hauppauge, New York: Nova Science Publishers.** 2012.

Sakamoto, M.; Ruta, M. Convergence and divergence in the evolution of cat skulls: temporal and spatial patterns of morphological diversity. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e39752, 2012.

Schiaffini, M. I.; Prevosti, F. J. Trophic segregation of small carnivorans (Carnivora: Mustelidae and Mephitidae) from the southern cone of South America. **Journal of Mammalian Evolution**, v. 4, n. 21, p. 407-416, 2013.

Schiaffini, M. I. A test of the Resource's and Bergmann's rules in a widely distributed small carnivore from southern South America, *Conepatus chinga* (Molina, 1782) (Carnivora: Mephitidae). **Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde**, v. 81, n. 1, p. 73-81, 2016.

Simonsen, V. et al. Genetic differentiation of foxes (*Vulpes vulpes*) analysed by means of craniometry and isozymes. **Journal for Nature Conservation**, v. 11, n.2, p. 109-116, 2003.

Segura, V.; Flores, D. Aproximación cualitativa y aspectos funcionales en la ontogenia craneana de *Puma concolor* (Felidae). **Mastozoología neotropical**, v.16, n.1, p. 169-182, 2009.

Segura, V.; Prevosti, F.; Cassini, G.. Cranial ontogeny in the Puma lineage, *Puma concolor*, *Herpailurus yagouaroundi*, and *Acinonyx jubatus* (Carnivora: Felidae): a three dimensional geometric morphometric approach. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 235-250, 2013.

Segura, V.; Cassini, G. H.; Prevosti, F. J. Three-dimensional cranial ontogeny in pantherines (*Panthera leo*, *P. onca*, *P. pardus*, *P. tigris*; Carnivora: Felidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 120, n.1, p. 210-227, 2016.

Sicuro, F. L. Evolutionary trends on extant cat skull morphology (Carnivora: Felidae): a three dimensional geometrical approach. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 103, n. 1, p. 176-190, 2011.

Sicuro, F. L.; Oliveira, L. F. B. Skull morphology and functionality of extant Felidae (Mammalia: Carnivora): a phylogenetic and evolutionary perspective. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 414-462, 2011.

Silva, L. G. et al. Biogeography of polymorphic phenotypes: mapping and ecological modelling of coat colour variants in an elusive Neotropical cat, the jaguarundi (*Puma yagouaroundi*). **Journal of Zoology**, v. 299, n.4, p. 295-303, 2016.

Szuma, E. Evolutionary and climatic factors affecting tooth size in the red fox *Vulpes vulpes* in the Holarctic. **Mammal Research**, v.53, n.4, p. 289-332, 2008.

Tamagnini, D.; Meloro, C.; Cardini, A. Anyone with a long-face? Craniofacial evolutionary allometry (CREA) in a family of short-faced mammals, the Felidae. **Evolutionary Biology**, v.44, n.4, p. 476-495, 2017.

Tellaeche, C. G. et al. External and skull morphology of the Andean cat and Pampas cat: new data from the high Andes of Argentina. **Journal of Mammalogy**, v.99, n.4, p. 906-914, 2018.

Van Valkenburgh, B. Respiratory and olfactory turbinals in feliform and caniform carnivorans: the influence of snout length. **The Anatomical Record**, v. 297, n.11, p. 2065-2079, 2014.

Wright, S. Isolation by distance. **Genetics**, v. 28, n. 2, p. 114, 1943.

Yensen E; Tarifa T (2003) *Galictis cuja*. **Mammalian Species**, p. 1-8, 2003.

Zapata, S. C. et al. Annual food habits of the lesser grison (*Galictis cuja*) at the southern limit of its range. **Mammalia mamm**, v. 69, n. 1, p. 85-88, 2005.

Zelditch, M. L.; Swiderski, D. L.; Sheets, H. D. **Geometric morphometrics for biologists: a primer**. Academic Press, 2004.

Zúñiga, A.; Muñoz-Pederos, A.; Fierro, A. Uso de hábitat de cuatro carnívoros terrestres en el sur de Chile. **Gayana (Concepción)**, v. 73, n. 2, p. 200-210, 2009.

CAPÍTULO I*

**ISOLATION BY DISTANCE OR HABITAT ADAPTATION?
INVESTIGATING DIFFERENCES IN SKULL MORPHOLOGY OF A SMALL
NEOTROPICAL CAT**

*Artigo submetido e elaborado de acordo com as normas da revista *Journal of Mammalogy*.

Isolation by distance or habitat adaptation? Investigating differences in skull morphology of a small Neotropical cat

Raissa Prior Migliorini*, Rodrigo Fornel, Carlos Benhur Kasper

Laboratório de Biologia de Mamíferos e Aves, Universidade Federal do Pampa, Av. Antônio Trilha, 1847, 97300-162 São Gabriel, Brazil (RPM, CBK)

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Av. Sete de Setembro, 1621, 99709-910 Erechim, Brazil (RF)

*Correspondent: raissa.biopampa@gmail.com

Abstract

The jaguarundi (*Herpailurus yagouaroundi*) has one of the most extensive latitudinal ranges among felids of the Western Hemisphere. Its wide geographic distribution and range of habitats indicate that differences in skull morphology may exist. We investigated this by testing two competing hypotheses: I) populations from different ecoregions will show localized phenotypes as an adaptation promoted by natural selection; or II) the species will present a more generalist phenotype throughout its distribution according to the isolation by distance model. The skulls of 59 museum specimens from different ecoregions in Brazil were photographed in ventral, dorsal, and lateral views, and treated with morphometric geometric techniques. Males were significantly larger than females, but did not show dimorphism in skull shape. Specimens from the Amazon were significantly larger than those from other ecoregions, possibly as a response to differences in resource availability. Once the specimens from the Cerrado presented differences in skull shape, and that in one view, the hypothesis of natural selection was confirmed. As correlations between geographical distance and skull shape were not significant, the isolation by distance hypothesis was rejected.

Resumo

O gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) possui uma das mais extensas faixas latitudinais entre os felinos do Hemisfério Ocidental. Sua ampla distribuição geográfica e variedade de habitats utilizados permitem sugerir a existência de diferenças na morfologia do crânio. Isso foi investigado testando duas hipóteses: populações de diferentes ecorregiões mostrando fenótipos localizados como adaptação promovida pela seleção natural; ou a espécie apresentando fenótipo generalista ao longo de sua distribuição, de acordo com o modelo de isolamento por distância. Os crânios de 59 exemplares de diferentes ecorregiões no Brasil foram fotografados nas vistas ventral, dorsal e lateral e tratados com técnicas de morfometria geométrica. Os machos foram significativamente maiores que as fêmeas, sem dimorfismo para forma do crânio. Espécimes da Amazônia foram significativamente maiores do que das outras ecorregiões, possivelmente como resposta à disponibilidade diferenciada de recursos. Uma vez que o Cerrado apresentou diferença na forma do crânio para uma vista, a hipótese da seleção natural foi confirmada. Como as correlações entre distância geográfica e forma do crânio não foram significativas, a hipótese de isolamento por distância foi rejeitada.

Keywords: Amazon, Cerrado, Felidae, geometric morphometric, *Herpailurus*, intraspecific variation, sexual dimorphism

INTRODUCTION

The jaguarundi (*Herpailurus yagouaroundi* E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803) is the most distinct of all Neotropical cats, with a small body weighing up to 7.6 kg (Hunter and Barrett 2018), short-legs, a small head, and rounded ears. This cat has one of the most extensive latitudinal ranges, behind only to its closest relative, the puma (*Puma concolor*), among felids of the Western Hemisphere (Johnson et al. 2006). This species occurs from the eastern and western lowlands of northern Mexico, throughout Central and South America to southeastern Brazil and central Argentina (Oliveira 1998; Caso et al. 2015).

The jaguarundi occupies a great variety of habitats from dry to wet forests, savanna woodlands, wet subalpine scrub savannas, swamplands, semi-arid scrub, chaparral, and dense grasslands (Hunter 2015). This cat is a generalist predator of small vertebrates, especially in subtropical moist broadleaf forests, where most diet studies on the animal have been conducted (Wang 2002; Tófoli et al. 2009; Rocha–Mendes 2010; Bianchi et al. 2011; Rinaldi et al. 2015). In Uruguayan savanna, the jaguarundi's diet is more specialized, mainly comprising Brazilian guinea pigs (genus *Cavia*) (Migliorini et al. 2018).

In a previous study, ecological modeling of two principal coat colors of the jaguarundi revealed that the dark/grey pelage are associated with wet, dense forests, whereas the red coat color is associated principally with dry, open habitats. The authors suggested that this spatial pattern does not reflect a genetic structure, but is caused by spatially heterogeneous natural selection (Silva et al. 2016).

Cranial morphology of the species has been explored in studies of the Felidae family, focusing on evolutionary trends (Morales and Giannini 2010; Sicuro 2011),

functionality contexts (Kiltie 1984; Sicuro and Oliveira 2011), and ontogeny (Segura et al. 2013). The jaguarundi is the smallest species of the *Puma* lineage, but presents a markedly derived skull pattern despite of their phylogenetic closeness (Sicuro and Oliveira 2011). Sexual size dimorphism has been reported for this cat, with males being larger than females (Segura et al. 2013), following the general pattern observed in the family. This species overlaps extensively in skull size and morphology with most of the small Neotropical felids (Kiltie 1984; Morales and Giannini 2010).

The wide geographic distribution of the jaguarundi and the range of habitats used by this cat allow us to propose two hypotheses of morphological variation for the purpose of investigation. Morphometric analyses of the cranium of several mammals have indicated that patterns of morphological variation in species with large distribution areas might be adaptations to the range of environmental conditions (Gay and Best 1996), availability of resources (Macnab 2010; Schiaffini 2016), or even to reduce competition with ecologically similar species (Bubadué et al. 2016). Thus, our first hypothesis is that there should be a differentiation in the size and/or shape of the skull of jaguarundis between populations from different ecoregions throughout their distribution range. If natural selection occurs, it is expected that localized phenotypes adapted to their respective environments would occur.

On the other hand, size and morphological variation are not always associated with adaptive forces. In some cases, differences can be explained just by the geographic distance between the populations (Hernández-Romero et al. 2015). It is believed that there is a constant tension between divergent natural selection and unifying gene flow in the jaguarundi, making it an attractive model for in-depth evolutionary analyses (Silva et al. 2016). Thus, our second hypothesis is that genetic drift might be the main evolutionary force acting on the skull morphology of the jaguarundi, leading to a more

generalist pattern of differentiation throughout their distribution range. It is possible to outline a correspondence between genotype and phenotype, thus enabling the examination of the isolation by distance model, which predicts that genetic divergence increases with geographical distance (Wright 1943), which we can examine using the corresponding phenotypic data in the form of skull shape.

There is currently no published research that has investigated intraspecific morphological variation in the jaguarundi skull using geometric morphometric techniques. Thus, the goal of this study was to investigate differentiation in the size and shape of the skull of this species among populations sampled from different regions of Brazil, thus providing a basis for the understanding of how selective pressures, environmental heterogeneity, and geographic distance can modulate the evolution of the shape and size of the skull of this carnivorous mammal.

MATERIALS AND METHODS

Sample

The skulls of museum specimens of *H. yagouaroundi* were photographed with a Sony DSC-H9 digital camera placed at a fixed distance of 24 cm, using a support platform and 1.3x zoom. Millimeter graph paper was used as a photographic background for subsequent scale referencing. For morphometric analysis, only adult samples with known locality were used, and covered most of the geographic distribution of this species in Brazil. To avoid errors associated with modifications in the cranium during growth of the animals, adults were classified as having complete permanent dentition (*following* Segura et al. 2013).

In the case of specimens for which the corresponding geographical coordinates were missing, the collection locality was georeferenced using Google Earth (Google 2018). The location records of the specimens were classified based on the ecoregions proposed by Olson et al. (2001), with adaptations, using a shapefile in the QGIS 2.18.25 software (QGIS Development Team 2018). The Amazonian Forest comprises a plethora of ecoregions, but all belonging to humid forests, therefore the samples were grouped and labeled as “Amazon” ecoregion. The specimens sampled in Alto Paraná Atlantic Forest, Araucaria Moist Forest, Serra do Mar Coastal Forest and Bahia Interior Forest were grouped in “Atlantic Forest” ecoregion (Fig. 1).

The examined specimens are housed in the collections of the following Brazilian institutions: Museu de Zoologia do Pampa, located at the Laboratório de Biologia de Mamíferos e Aves (LABIMAVE), Universidade Federal do Pampa, São Gabriel (MZPAMPA); Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (FZB/RS); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (MCT-PUCRS); Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil, Canoas (MCNU); Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (LAMAq-UFSC); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo (MZUSP); Coleção de Mamíferos do Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso” da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (ZUEC-MAM); Museu Nacional de História Natural, Rio de Janeiro (MNHN); Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (CCT-UFMG); Coleção de Mastozoologia do Museu de Ciências Naturais PUC Minas, Belo Horizonte (MCN-M); and Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém (MPEG). A list of specimens analyzed is provided in Supplementary Data SD1.

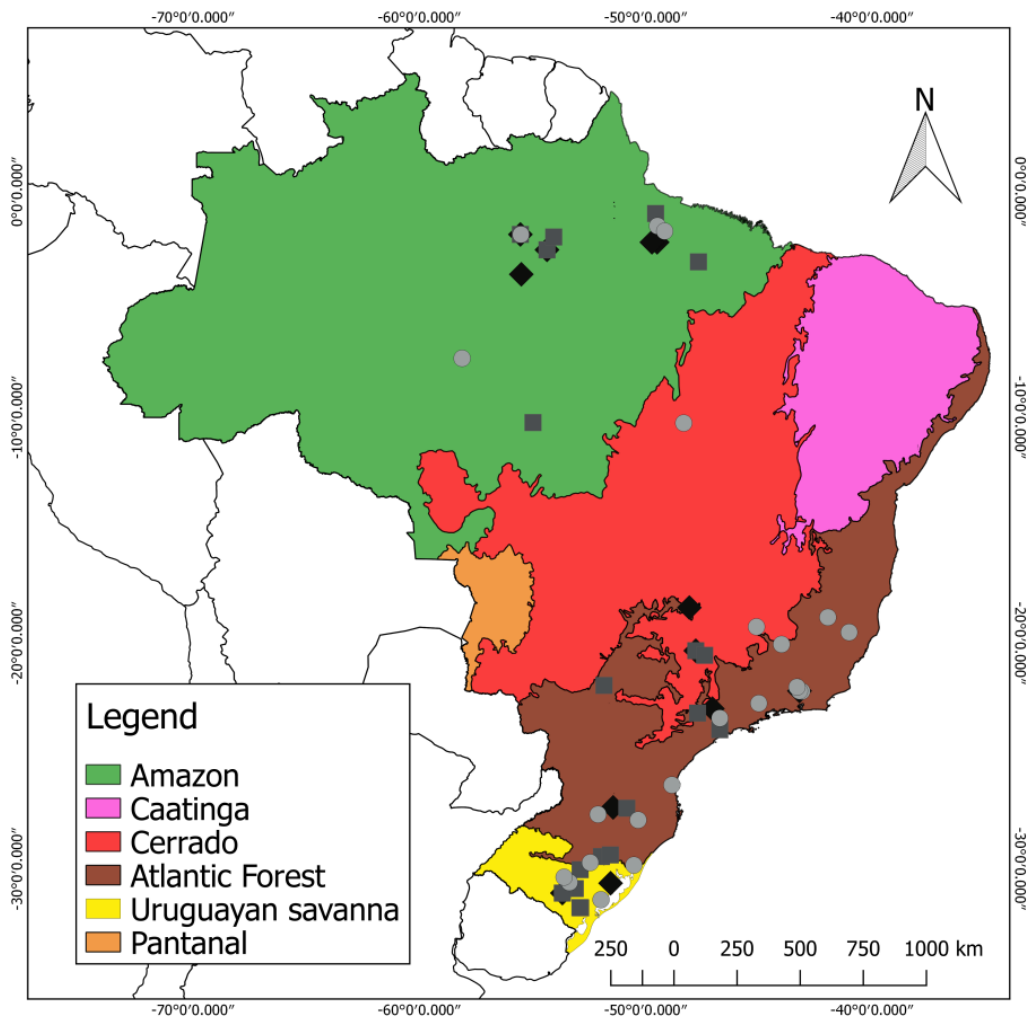


Figure 1. Geographic distribution of *Herpailurus yagouaroundi* specimens analyzed (squares: males, diamonds: females, circles: unsexed), indicating the ecoregions of origin.

Geometric morphometric procedures

The skull of 59 adult specimens (22 males, 14 females, and 23 unsexed individuals) were photographed in ventral (n = 59), dorsal (n = 52), and lateral view (n = 58) (Fig. 2). The photos were compiled using tpsUtil 1.64 (Rohlf 2013) and landmarks were digitalized using tpsDig 2.26 (Rohlf 2015).

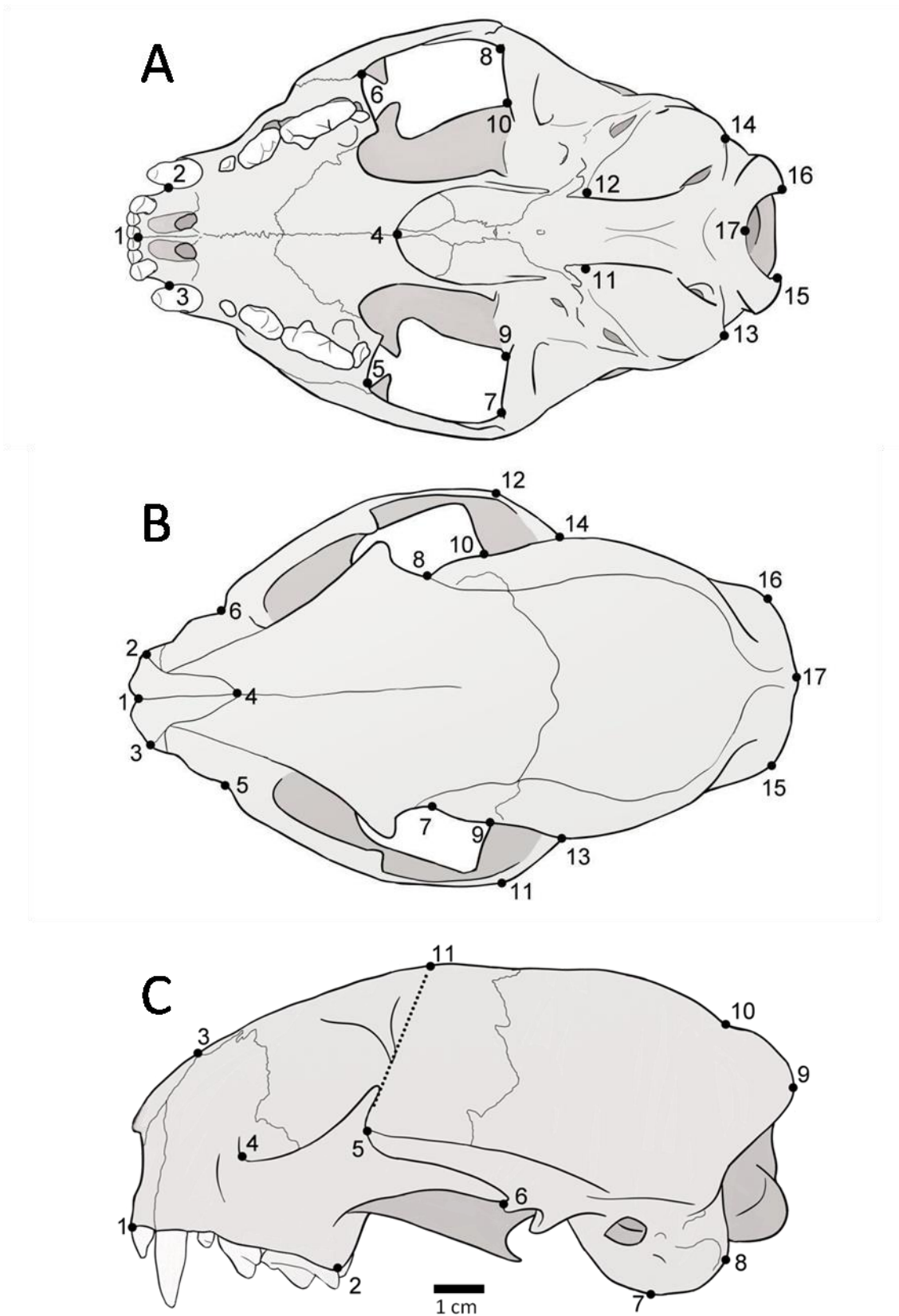


Figure 2. Landmarks digitalized for 59 skulls of *Herpailurus yagouaroundi*. Ventral view (A): middle point of incisive series (1); most anterior point of canines (2–3);

posterior point of palatine torus (4); anterior point (5–6), external edge (7–8) and internal edge (9–10) of temporal fossa; anterior (11–12) and posterior (13–14) point of tympanic bulla; internal apex of occipital condyle (15–16); inferior point in the foramen magnum (17). Dorsal view (B): anterior point of the nasals in the *sutura internasalis* (1); tip of nasal process (2–3); midline of *sutura frontonasalis* (4); infraorbital foramen (5–6); point of least width between frontals (7–8); anterior point of squamous (9–10); most external posterior point of zygomatic arch (11–12); posterior point of squamous (13–14); most external points of occipital (15–16); tip of the inion (17). Lateral view (C): most anterior (1) and posterior (2) point of dentary row; tip of *sutura frontonasalis* (3); lacrimal foramen (4); dorsal (5) and ventral (6) squamous and jugal suture of zygomatic arch; apex of tympanic bulla (7); paracondylar process (8); most external point of occipital (9); intersection of temporal line and sagittal crest (10); point of the frontal straight to orbital processes (11).

The specimens were grouped into four ecoregions: Amazon (7 males, 5 females, and 4 unsexed), Atlantic Forest (7 males, 6 females, and 12 unsexed), Cerrado (2 males, 1 female, and 2 unsexed), and Uruguayan savanna (6 males, 2 females, and 5 unsexed). Since the sample from the Caatinga ecoregion amounted to only one specimen, it was discarded from the analysis.

Data analysis

First, landmark coordinates were superimposed using a generalized Procrustes analysis (Dryden and Mardia 1998), which removes effects not related to shape, such as position, scale, and orientation. As a preliminary analysis, sexual dimorphism was evaluated by a Student's *t*-test for size, and by a multivariate analysis of variance

(MANOVA) for shape. Although extracting the shape information from the raw data of landmark coordinates removes variation in size per se, the shape data may still contain a component of size-related shape variation due to the effects of allometry (Klingenberg 2016). So, as we opted in this work to analyze size and shape separately, the presence of allometry was examined by a multivariate regression of shape on size (Monteiro 1999). The residuals of this regression were used for the subsequent analyses, representing size-independent shape variables.

An analysis of variance (ANOVA), with log-transformed values of centroid size, was performed to analyze statistical size differences among the distinct ecoregions, followed by multiple comparison Tukey's tests. The hypothesis of the existence of differences in skull shape among the different ecoregions was tested using a pairwise MANOVA. The variation in shape had its dimensionality reduced by a principal component analysis (PCA). To discriminate and visualize these shape differences, a canonical variate analysis (CVA) was employed.

The localities of the specimens were used to generate a geographical distance matrix with *Geographic Distance Matrix Generator* v1.2.3 (Ersts 2018). A Mahalanobis distance matrix was generated with the Procrustes distance of the consensus shape of the specimens. The hypothesis of isolation by distance was tested by correlating these matrixes through an RV coefficient (Heo and Gabriel 1997). All statistical analyses and graphs were generated in R 3.2.2 (R Development Core Team 2018).

RESULTS

Sexual dimorphism

Males and females differed in skull size in the dorsal ($t = -2.069$, $df = 23.967$, $p = 0.049$) and lateral view ($t = -2.174$, $df = 25.269$, $p = 0.039$), with males on average larger than females; but not in the ventral view ($t = -1.942$, $df = 23.194$, $p = 0.064$). However, there was no significant difference in shape between the sexes (ventral: $p = 0.342$; dorsal: $p = 0.168$; and lateral view: $p = 0.370$). Based on the absence of significant statistical differences in shape, males, females, and the unsexed specimens were pooled together for all the subsequent analyses.

Skull size

The ANOVA showed significant differences in skull size among specimens from different ecoregions (ventral: $p < 0.001$; dorsal: $p < 0.001$; and lateral: $p < 0.001$). Subsequent Tukey's tests revealed that the specimens from Amazon were distinctly different from those from the other ecoregions sampled. As the results were similar for all skull views, we opted to present only the boxplot for the ventral view (Fig. 3).

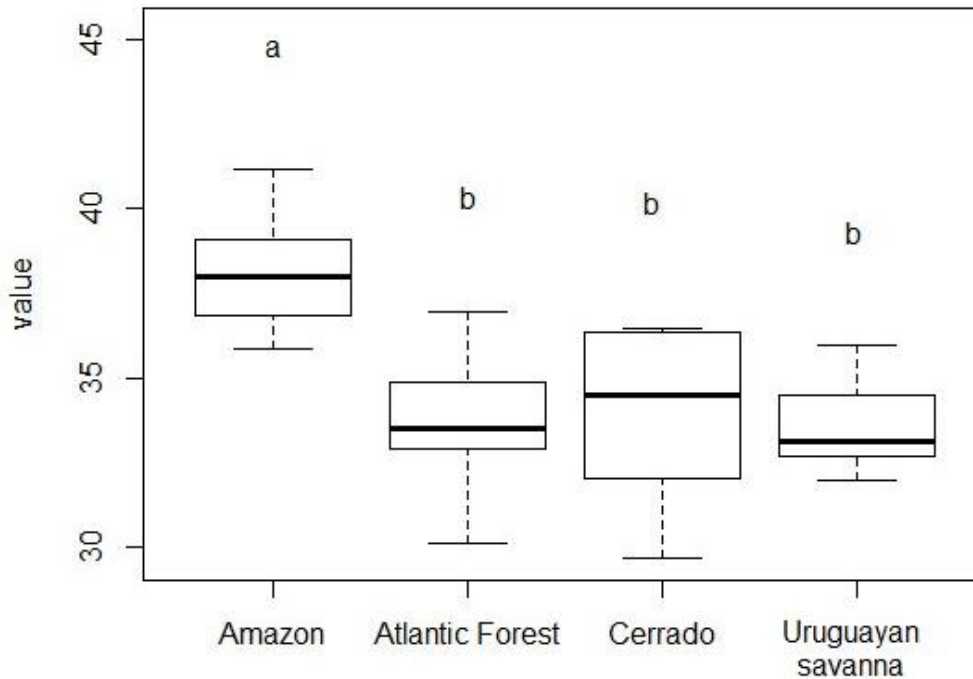


Figure 3. Boxplot of the ventral view of the skull log centroid size of *Herpailurus yagouaroundi* among ecoregions in Brazil. The black strings represent median values, the boxes the first interquartile, and the bars the second interquartile. Letters above the plots indicate significant differences in multiple comparisons by Tukey's test.

The multivariate regression of shape on size revealed that allometry was significant for the three views of the skull ($p < 0.05$). The amount of shape predicted by size was 20% for ventral, 26% for dorsal, and 12% for lateral views.

Skull shape

The PCA did not structure any grouping for any of the skull views, with plotting the first (42% for dorsal, 22.4% for ventral and 27.7% for lateral) with the second (12.1% for dorsal, 13.8% for ventral and 18.2% for lateral) principal components. The first 14 PCs cumulatively explained 95.7% of total variance in dorsal view, while the first 15 explained 94.5% in ventral view and the first 12 explained 95% in lateral view.

The pairwise MANOVA revealed no significant difference in shape among specimens from distinct ecoregions in ventral or dorsal views. However, this analysis indicated that the Cerrado specimens had a distinct lateral view compared to the Atlantic Forest and Uruguayan savanna specimens (Table 1).

Table 1. Pairwise comparisons of a Multivariate Analysis of Variance of skull shape among populations of *Herpailurus yagouaroundi* from different ecoregions in Brazil. Significant values are accompanied by an asterisk ($p < 0.05$).

		Amazon	Atlantic Forest	Cerrado	Uruguayan savanna
Ventral	Amazon	-			
	Atlantic Forest	0.848	-		
	Cerrado	0.293	0.395		
	Uruguayan savanna	0.240	0.188	0.088	-
Dorsal	Amazon	-			
	Atlantic Forest	0.876	-		
	Cerrado	0.477	0.532	-	
	Uruguayan savanna	0.281	0.111	0.130	-
Lateral	Amazon	-			
	Atlantic Forest	0.968	-		
	Cerrado	0.051	0.036*	-	
	Uruguayan savanna	0.454	0.352	0.007*	-

Overall, CVA displayed relative overlap for all skull views among specimens from the Amazon, Atlantic Forest, and Uruguayan savanna, with total segregation only found for the Cerrado. As the results were similar for all skull views, we opted to represent only the results for the lateral view, as this was the only view that presented

significant differences. Shape variation along the first axis distinguished specimens from the Cerrado, placed in the negative values, from those of other ecoregions, roughly placed in the positive scores. The main differences occurred in the zygomatic arch region, with the lacrimal foramen positioned more anterior and the ventral point of the squamous and jugal suture positioned more posterior. The second axis did not show segregation among ecoregions (Fig. 4).

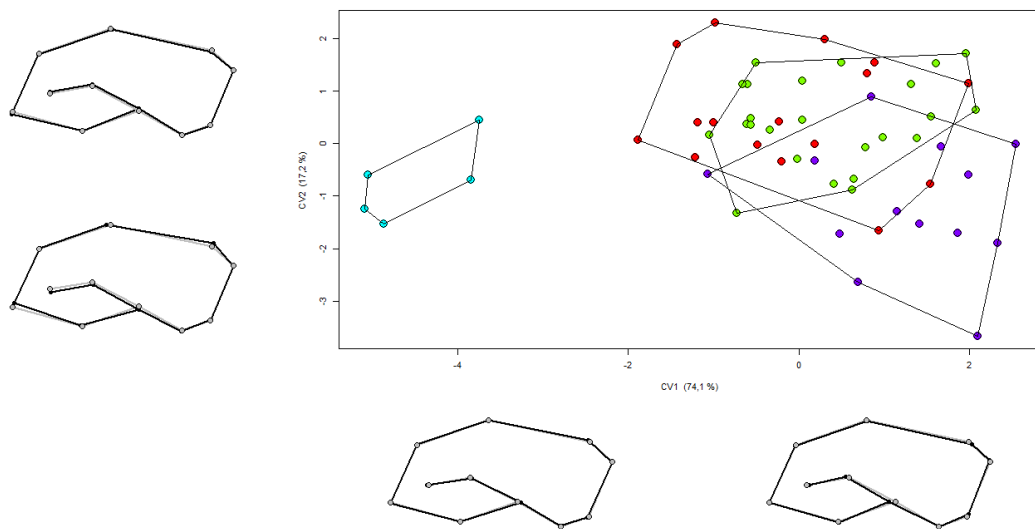


Figure 4. Canonical Variate axes (CVs) depicting the skull shape variation among specimens of *Herpailurus yagouaroundi* from distinct ecoregions in Brazil, in lateral view: Amazon (red), Atlantic Forest (green), Cerrado (blue), Uruguayan savanna (purple).

The RV test showed no significant correlation between the geographical distance and the Procrustes distances of the consensus shape for the ventral ($p = 0.579$), dorsal ($p = 0.549$), and lateral views ($p = 0.455$).

DISCUSSION

Sexual dimorphism

Our results indicate that there is a difference between male and female jaguarundi in skull size, but no sexual dimorphism in relation to shape. This finding of male skull being larger than female skull is in accordance with the findings of Segura et al. (2013), and similar to the results for other felids (Lucherini et al. 2006; Gambarini et al. 2016; Tellaecche et al. 2018).

Skull size

Among ecoregions, a clear size difference was found, with the specimens from the Amazon being significantly larger than specimens from the other ecoregions sampled in this study. However, this difference is not congruent with the size patterns reported for other felid species that occur in the same regions, such as the jaguar (*Panthera onca*) and the puma. Unlike the jaguarundi, these tend to be smaller in dense forests in the tropical region, with larger jaguars found in more open environments, such as Cerrado and Pantanal, and larger pumas found in the drier areas and temperate regions (Iriarte et al. 1990; Gay and Best 1995; Gambarini et al. 2016).

One possible explanation for this could be that this size differentiation occurs as a mechanism for the jaguarundi to reduce niche overlap with other sympatric small cats (Kiltie 1984). However, according to Morales and Giannini (2010), the fact that jaguarundi is predominantly diurnal (Di Bitetti et al. 2010), which is in strong contrast with all other Neotropical felids, seems to be the key ecological difference, given that this species extensively overlaps morphofunctionally with the smaller Neotropical cats. Temporal segregation is one adaptation that can reduce competition and contribute to species coexistence, and this may explain the lack of a morphological community-wide

character displacement in this felid assemblage (Di Bitetti et al. 2010; Dias et al. 2019). In this context, the competitive explanation for the jaguarundi's skull size differentiation in relation to similar and closely related species may not be the best one.

These differences in skull size could also be influenced by differences in resource availability among the ecoregions where it occurs. Some authors such McNab (2010) have proposed that the common element in the geographic variation in body size of mammals is the variation in the abundance and size of resources, and the factors that influence their availability or quality. This phenomenon occurs in the puma, whose body weight is correlated to its food habits. Larger specimens from temperate habitats generally eat larger prey from a smaller number of taxa, whereas smaller specimens are typically found in tropical habitats, where puma prey on smaller, more varied prey (Iriarte et al. 1990). Although the jaguarundi inhabits most of the Neotropics, its food habits are poorly understood in most of its range, especially in the Amazon.

The only published data from this region is based on an extremely small sample size and is not combined with estimates of prey availability (Tirelli et al. 2018). In the three fecal samples analyzed, *Dasypus* sp. and *Dasyprocta azarae* were identified as prey species. Based on literature on the jaguarundi's trophic ecology in other ecoregions in Brazil, these are among the biggest prey recorded for the species, and this kind of prey only exists in small proportions (Trovati et al. 2008; Silva-Pereira et al. 2011; Migliorini et al. 2018). In the Uruguayan savanna in Brazil, the jaguarundi exhibits food habits more specialized than other small cats (Migliorini et al. 2018). In this context, it is possible to hypothesize that jaguarundi may specialize in larger prey in the Amazon, causing the species (through natural selection) to develop a larger skull than in other environments. Thus, the resource size and availability hypothesis may be a possible explanation for the larger skull being adapted to larger prey.

Even if the jaguarundi exhibit a diet more similar to other small felids, consuming mostly small rodents, the Amazon region can contribute to this enlargement of skull. According to Maestri et al. (2016), the pattern of geographical variation in the body mass of sigmodontine rodent lineages across South America can be explained by the shared influence of phylogenetic community composition and environmental factors. Sites at lower latitudes (*e.g.*, Amazon, Caatinga, and northern Cerrado) have species that are larger than species from higher latitudes. The authors contend that the particular environment of these forested regions contributes to the relatively large body mass of the species that occur there (Rodríguez et al. 2008).

Other kinds of environmental factors, such as habitat and climate stability, have been related to the tendency of some primates such as New World monkeys, capuchins (*Cebus* and *Sapajus* spp.), and howlers (*Alouatta* spp.); and marsupials such as woolly opossums (genus *Caluromys*); to increase their body size towards the Amazon (Meloro et al. 2013; Magnus et al. 2017). However, these taxa have a strong association with the consumption of fruits. Once the availability of this resource varies seasonally, with high numbers of fruits coinciding with the rainy seasons in most tropical regions, these mammals may respond to habitat productivity, becoming larger in regions with less seasonal climate and high and constant rate of rainfall, such as in the Amazon.

Skull shape

To the best of our knowledge, this was the first study to investigate intraspecific variation in the skull shape and size of the jaguarundi. Here, we attempted to ascertain if the skull shape of jaguarundi follow a pattern of variation explained by genetic drift or natural selection. Our findings do not support the hypothesis of isolation by distance. This seems to be consistent with the cat's genetic variability reported by Ruiz-García et

al. (2018), who proposed a single subspecies for Central and South America. However, a study by Pires (2012) in which mitochondrial DNA and microsatellite markers were used, suggested that isolation by distance may have played some role in limiting gene flow between populations from south and north of the Amazon River. Although our sample included four specimens from the north of the river, we did not find any significant correlation between geographical distance and morphology. As also noted by Pires (2012), this could be the result of gene flow between these broad regions until the recent past.

Shape differentiation among ecoregions was also not extensively detected. Whenever a correlation between morphology and environment is hypothesized, it is often interesting to investigate the functional consequences of the shape differences observed. Our results suggested that skull shape was not environmentally structured, since a localized phenotype was only found in the Cerrado, where specimens presented a slightly longer and narrower rostrum and less robust zygomatic arches. In felids in general, expanded zygomatic arches provide space for the attachment of larger, stronger jaw-closing muscles (*temporalis* and *masseter*) that originate on the sides of the braincase. Together with a short snout, this provides an increased mechanical advantage to the jaw muscles for a bite with the canines and incisors, thus conferring advantages in feeding (Kitchener et al. 2010). The pattern found in the Cerrado seems surprisingly opposite to what we would expect. However, according to Sicuro and Oliveira (2011), the efficiency of the jaw apparatus among members of the Felidae family is quite consistent, thus some changes in the pattern of the bite mechanics are less relevant. Similar skull morphological patterns are found in species with very different life habits, whereas, on the other hand, cat species with very distinct skulls may have similar ecologies (Sicuro 2011). Thus, some craniomandibular shape changes may possibly

represent byproducts of casuistic fixation of phenotypical fluctuations rather than specific selections, and, despite this, skull-jaw performance is preserved.

In the Cerrado, remarkable variation in average annual temperature and rainfall occurs, with a very pronounced dry season during the winter. The vegetation landscape of the Cerrado ecoregion consists of a savanna that is very variable in structure, with a mixture of plants in the canopy layer, including trees and large shrubs, and a ground layer composed of subshrubs and herbs (Oliveira-Filho and Ratter 2002). This distinct environment may exert sufficient selective pressure to distinguish specimens of the Cerrado from the others. Considering the fact that this species is flexible and adaptable, and also has great dispersal ability (Pires 2012), it is likely that the skull shape of this population is probably not an adaptive trait but an outcome of phenotypic fluctuation. However, it is relevant to recognize that the sample size from the Cerrado was small. As such, a greater number of specimens could contribute to a better understanding of the skull shape of jaguarundi in this ecoregion.

In conclusion, in terms of skull size, all three views indicated that specimens from the Amazon were the largest relative to the other ecoregions sampled. Since the jaguarundi's temporal segregation is assumed to be an adaptation to reduce competition with other members of the Neotropical feline guild, resource availability might be the cause of the observed size variation in jaguarundi. Unfortunately, information on the carnivore guild composition in the Amazon is still limited. More data concerning the ecology of this species are still needed to test the effect of prey weight on this predator's weight to make a comparison among regions.

Overall, our results suggest that the skull shape was not significantly influenced by genetic drift, allowing us to reject the isolation by distance hypothesis. Even with the majority of specimens did not present localized phenotypes, except for

one, the hypothesis of natural selection was still confirmed. Even with the limitations of the CVA, the aim of this research was to explore the patterns of morphological variation in this species. Despite the limitations related to the sample size for some ecoregions, the data present statistical robustness. Further studies could benefit from sampling from additional regions, and increasing the sample size from the Cerrado, as a way to better understand the patterns of the jaguarundi's skull variation and its causes.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank all the curators of the following institutions for their kindness in providing the necessary information and for allowing the access to their collections: Dra. Tatiane Trigo (FZB/RS), Dra. Carla Fontana (MCT-PUCRS), Dr. Alexandre Uarth Christoff (MCNU), Dr. Maurício Graipel (LAMAq-UFSC), Juliana Barros (MZUSP), Karina Rebelo de Almeida (ZUEC-MAM), Dr. João Alves de Oliveira (MNHN), Dr. Fernando Perini (CCT-UFMG), MSc. Claudia Guimarães Costa (MCN-M) and Dra. Alexandra Bezerra (MPEG). We are also grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the postgraduate scholarship. Special thanks to Felipe Bortolotto Peters for his continued contribution in providing material for the scientific collection and for researches developed at LABIMAVE. Additional thanks to Mauro Bossi for contributions throughout the development of this study.

LITERATURE CITED

Bianchi, R. D. C., A. F. Rosa, A. Gatti, and S. L. Mendes. 2011. Diet of margay, *Leopardus wiedii*, and jaguarundi, *Puma yagouaroundi*, (Carnivora: Felidae) in Atlantic rainforest, Brazil. *Zoologia* 28: 127-132.

Bubadué, J. M., 2016. Character displacement under influence of Bergmann's rule in *Cerdocyon thous* (Mammalia: Canidae). *Hystrix* 27: 1-8.

Caso, A., T. de Oliveira, and S. V. Carvajal. 2015. *Herpailurus yagouaroundi*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T9948A50653167. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T9948A50653167.en>. Accessed 21 May 2019.

Dias, D. M., R. L. Massara, C. B. de Campos, and F. H. G. Rodrigues. 2019. Feline predator–prey relationships in a semi-arid biome in Brazil. *Journal of Zoology* 0:1-10.

Di Bitetti, M. S., C. D. De Angelo, Y. E. Di Blanco, and A. Paviolo. 2010. Niche partitioning and species coexistence in a Neotropical felid assemblage. *Acta Oecologica* 36: 403-412.

Dryden, I. L., and K.V. Mardia. 1998. *Statistical shape analysis*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Ersts, P. J. 2018. Geographic Distance Matrix Generator. Ver. 1.2.3. American Museum of Natural History, Center for Biodiversity and Conservation. www.biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/gdmg. Accessed 17 May 2018.

Gambarini, A., L. D. Mota, M. Haberfeld, and R. C. Paula. 2016. *Panthera onca*: À sombra das florestas. 1st ed. Avis Brasilis. Vinhedo.

Gay, S. W., and T. L. Best. 1996. Relationships between abiotic variables and geographic variation in skulls of pumas (*Puma concolor*: Mammalia, Felidae) in North and South America. *Zoological Journal of the Linnean Society* 117: 259-282.

GOOGLE. 2018. Google Earth website. www.earth.google.com/. Accessed 15 April 2018.

Heo M, and K. R. Gabriel. 1997. A permutation test of association between configurations by means of RV coefficient. *Communications in Statistics – Simulation and Computation* 27: 843–856.

Hernández-Romero, P. C., J. A. Guerrero and C. Valdespino. 2015. Morphological variability of the cranium of *Lontra longicaudis* (Carnivora: Mustelidae): a morphometric and geographic analysis. *Zoological Studies* 54: 1-12.

Hunter, L. 2015. *Wild cats of the world*. Bloomsbury Publishing. London.

Hunter, L. and P. Barrett. 2018. Field Guide to Carnivores of the World. Bloomsbury Wildlife.

Iriarte, J. A., W. L. Franklin, W. E. Johnson, and K. H. Redford. 1990. Biogeographic variation of food habits and body size of the America puma. *Oecologia* 85: 185-190.

Johnson W. E., E. Eizirik, J. Pecon-Slaterry, W. J. Murphy, A. Antunes, E. Teeling, and S. J. O'brien. 2006. The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. *Science* 311: 73-77.

Kiltie, R. A. 1984. Size ratios among sympatric neotropical cats. *Oecologia* 61:411-416.

Klingenberg, C. P. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and evolution* 226: 113-137.

Kitchener, A. C., B. Van Valkenburgh, and N. Yamaguchi. 2010. Felid form and function. Pp. 83-106 in *Biology and Conservation of Wild Felids* (D. Macdonald and A. Loveridge, eds). Oxford University Press. Oxford, Reino Unido.

Lucherini, M., C. Manfredi, E. Luengos, F. D. Mazim, L. Soler, and E. B. Casanave. 2006. Body mass variation in the Geoffroy's cat (*Oncifelis geoffroyi*). *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 169-174.

Maestri, R., A. L. Luza, L. D. de Barros, S. M. Hartz, A. Ferrari, T. R. O. de Freitas, and L. D. Duarte. 2016. Geographical variation of body size in sigmodontine rodents

depends on both environment and phylogenetic composition of communities. *Journal of Biogeography* 43: 1192-1202.

Magnus, L. Z., R. F. Machado, and N. Cáceres. 2017. Comparative ecogeographical variation in skull size and shape of two species of woolly opossums (genus *Caluromys*). *Zoologischer Anzeiger* 267: 139-150.

McNab, B. K. 2010. Geographic and temporal correlations of mammalian size reconsidered: a resource rule. *Oecologia* 164: 13-23.

Meloro, C., N. Cáceres, F. Carotenuto, J. Sponchiado, G. L. Melo, F. Passaro, and P. Raia. 2014. In and out the Amazonia: evolutionary ecomorphology in howler and capuchin monkeys. *Evolutionary Biology* 41: 38-51.

Migliorini, R. P., F. B. Peters, M. O. Favarini, and C. B. Kasper. 2018. Trophic ecology of sympatric small cats in the Brazilian Pampa. *PloS One* 13:1-13.

Monteiro, L. R. 1999. Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. *Systematic Biology* 48: 192-199.

Morales, M. M., and N. P. Giannini. 2010. Morphofunctional patterns in Neotropical felids: species co-existence and historical assembly. *Biological Journal of the Linnean Society* 100: 711-724.

Oliveira, T. G. 1998. *Herpailurus yagouaroundi*. *Mammalian Species Archive* 578: 1-6.

Oliveira-Filho, A. T., and J. A. Ratter. 2002. Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biome. Pp. 91-120 in *The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna* (P. S. Oliveira and R. J. Marquis, eds). Columbia University Press. New York.

Olson, D. M., E. Dinerstein, E. D. Wikramanayake, N. D. Burgess, G. V. N. Powell, E. C. Underwood, J. A. D'Amico, I. Itoua, H. E. Strand, J. C. Morrison, C. J. Loucks, T. F. Allnutt, T. H. Ricketts, Y. Kura, J. F. Lamoreux, W. W. Wettengel, P. Hedao, and K. R. Kassem. 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *BioScience* 51: 933-938.

Pires, C. B. 2012. Diversidade Genética e Filogeografia de *Puma yagouaroundi* (Mammalia, Carnivora, Felidae). M.S. thesis, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brazil.

QGIS Development Team 2018. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. www.qgis.osgeo.org. Accessed 20 October 2018.

R Development Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: Austria. www.rproject.org.

Rinaldi, A. R., F. H. Rodriguez, A. L. Carvalho, and F. C. Passos. 2015. Feeding of small Neotropical felids (Felidae: Carnivora) and trophic niche overlap in antropized mosaic landscape, South Brazilian. *Biotemas* 28: 155-168.

Rocha-Mendes, F., S. B. Mikich, J. Quadros, and W. A. Pedro. 2010. Feeding ecology of carnivores (Mammalia, Carnivora) in Atlantic forest remnants, southern Brazil. *Biota Neotropica* 10: 21-30.

Rodríguez, M. Á., M. Á. Olalla-Tárraga, and B. A. Hawkins. 2008. Bergmann's rule and the geography of mammal body size in the Western Hemisphere. *Global Ecology and Biogeography* 17: 274-283.

Rohlf, F. J. 2013. tpsUtil, file utility program. Ver. 1.64. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Rohlf, F. J. 2015. tpsDig, digitize landmarks and outlines. Ver. 2.19. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Ruiz-García, M., M. Pinedo-Castro, and J. M. Shostell. 2018. Mitogenomics of the jaguarundi (*Puma yagouaroundi*, Felidae, Carnivora): Disagreement between morphological subspecies and molecular data. *Mammalian Biology* 93: 153-168.

Schiaffini, M. I. 2016. A test of the Resource's and Bergmann's rules in a widely distributed small carnivore from southern South America, *Conepatus chinga* (Molina, 1782) (Carnivora: Mephitidae). *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* 81: 73-81.

Segura, V., F. Prevosti, and G. Cassini. 2013. Cranial ontogeny in the Puma lineage, *Puma concolor*, *Herpailurus yagouaroundi*, and *Acinonyx jubatus* (Carnivora: Felidae): a three dimensional geometric morphometric approach. *Zoological Journal of the Linnean Society* 169: 235-250.

Sicuro, F. L. 2011. Evolutionary trends on extant cat skull morphology (Carnivora: Felidae): a three dimensional geometrical approach. *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 176-190.

Sicuro, F. L., and L. F. B. Oliveira. 2011. Skull morphology and functionality of extant Felidae (Mammalia: Carnivora): a phylogenetic and evolutionary perspective. *Zoological Journal of the Linnean Society* 161: 414-462.

Silva-Pereira, J. E., R. F. Moro-Rios, D. R. Bilski, and F. C. Passos. 2011. Diets of three sympatric Neotropical small cats: Food niche overlap and interspecies differences in prey consumption. *Mammalian Biology* 76: 308-312.

Silva, L. G., T. G. Oliveira, C. B. Kasper, J. J. Cherém, E. A. Moraes, A. Paviolo, and E. Eizirik. 2016. Biogeography of polymorphic phenotypes: mapping and ecological modelling of coat colour variants in an elusive Neotropical cat, the jaguarundi (*Puma yagouaroundi*). *Journal of Zoology* 299: 295-303.

Tellaeche, C. G., J. I. Reppucci, M. M. Morales, V. E. M. Luengos, and M. Lucherini. 2018. External and skull morphology of the Andean cat and Pampas cat: new data from the high Andes of Argentina. *Journal of Mammalogy* 99: 906-914.

Tirelli, F. P., T. R. de Freitas, F. Michalski, A. R. Percequillo, and E. Eizirik. 2018. Using reliable predator identification to investigate feeding habits of Neotropical carnivores (Mammalia, Carnivora) in a deforestation frontier of the Brazilian Amazon. *Mammalia* 20180106.

Tófoli, C. F.; F. Rohe; and E. Z. F. Setz. 2009. Jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) (Geoffroy, 1803) (Carnivora, Felidae) food habits in a mosaic of Atlantic Rainforest and eucalypt plantations of southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 69: 871-877.

Trovati, R. G., C. B. Campos, and B. A. Brito. 2008. Nota sobre convergência e divergência alimentar de canídeos e felídeos (Mamalia: Carnivora) simpátricos no Cerrado brasileiro. *Neotropical Biology and Conservation* 3: 95-100.

Wang, E. 2002. Diets of ocelots (*Leopardus pardalis*), margays (*L. wiedii*), and oncillas (*L. tigrinus*) in the Atlantic rainforest in southeast Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 37: 207-212.

Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Data SD1. — Analyzed specimens of *Herpailurus yagouaroundi* in this study, with corresponding collection identification, sex (F, female; M, male; ?, unknown), and geographic origin. They are housed at the following Brazilian

institutions: Museu de Zoologia do Pampa (MZPAMPA); Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB/RS); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCT-PUCRS); Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU); Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina (LAMAq-UFSC); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP); Coleção de Mamíferos do Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso” da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC-MAM); Museu Nacional de História Natural (MNHN); Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CCT-UFMG); Coleção de Mastozoologia do Museu de Ciências Naturais PUC Minas (MCN-M) and Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

Collection	Specimen ID	Sex	Geographic origin
MZPAMPA	MZPAMPA-M0026	?	Caçapava do Sul, RS
	MZPAMPA-M0265	?	Vila Nova do Sul, RS
	MZPAMPA-M0675	F	Bagé, RS
	MZPAMPA-M0676	M	Piratini, RS
	MZPAMPA-M0678	M	Piratini, RS
FZB/RS	MCN 2572	M	Bagé, RS
	MCN 3032	?	Gaurama, RS
	MCN 3043	?	Santo Antônio da Patrulha, RS
	MCN 3057	M	Bagé, RS
	MCN 3351	M	Lageado, RS
MCT-PUCRS	MCP 0159	?	Santa Cruz do Sul, RS
	MCP 0614	M	Barão, RS
	MCP 0770	M	Barão, RS

	MCP 1903	F	Tapes, RS
MCNU	MCNU 4125	M	Santana da Boa Vista, RS
	MCNU 4168	M	Cachoeira do Sul, RS
LAMAq-UFSC	3531	M	Brunópolis, RS
	3792	F	Ervál Velho, RS
	6046	?	Lages, SC
MZUSP	000037	?	São Lourenço do Sul, RS
	001272	F	Catalão, GO
	002031	?	São Lourenço do Sul, RS
	002916	M	Franca, SP
	002977	F	Ituverava, SP
	002978	M	Ituverava, SP
	003692	?	Óbidos, PA
	005175	F	Cametá, PA
	005176	F	Cametá, PA
	007203	?	Franco da Rocha, SP
	007351	M	Presidente Venceslau, SP
	007388	M	Tietê, SP
	013481	?	Puraquecuará, PA
	013598	F	Fordlândia, PA
	031985	M	Parelheiros, SP
ZUEC-MAM	ZUEC-MAM 1222	M	Fazenda São José, MT
	ZUEC-MAM 1288	F	Fazenda Rio das Pedras, SP
	ZUEC-MAM 1745	F	Campinas, SP
MNHN	1039	?	Joinvile, SC

	3140	?	Palmas, TO
	3153	?	Rio Capitão Teles Pires, MT
	25724	?	Guandú, ES
	79049	?	BR-393, trevo de Bem Posta, RJ
	79158	?	Rodovia BR-040, Km 14, RJ
	79280	F	Rodovia BR-040, Km 15, RJ
	79490	?	Rodovia BR-040, Km 826, MG
	79548	F	Rodovia BR-040, Km 15, RJ
CCT-UFMG	UFMG 3938	?	Parque Estadual Rola-Moça, MG
	UFMG 4353	?	Cachoeira Paulista, SP
	UFMG 4548	?	Martinho Campos, SP
MCN-M	MCN-MZ 3100	?	Governador Valadares, MG
MPEG	MPEG 000149	M	Monte Alegre, PA
	MPEG 000150	M	Ilhas do Pará, PA
	MPEG 25399	?	Ilha do Marajó, PA
	MPEG 005633	F	Taperinha, PA
	MPEG 005642	M	Óbidos, PA
	MPEG 005644	M	Taperinha, PA
	MPEG 005645	F	Óbidos, PA
	MPEG005647	M	Taperinha, PA
	MPEG 040981	M	Paragominas, PA

CAPÍTULO II*

**VARIATION IN THE SKULL MORPHOLOGY OF THE SMALL
NEOTROPICAL MUSTELID *Galictis cuja* (CARNIVORA: MUSTELIDAE):
ISOLATION BY DISTANCE OR HABITAT ADAPTATION?**

*Artigo a ser submetido, elaborado de acordo com as normas da revista *Journal of Zoology*.

**Variation in the skull morphology of the small Neotropical mustelid *Galictis cuja*
(Carnivora: Mustelidae): Isolation by distance or habitat adaptation?**

Raissa Prior Migliorini^{1*}, Rodrigo Fornel², Carlos Benhur Kasper¹

¹Laboratório de Biologia de Aves e Mamíferos, Universidade Federal do Pampa, *campus* São Gabriel, Brazil; ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, *campus* Erechim, Brazil.

***Corresponding author:** raissa.biopampa@gmail.com

Abstract

The lesser grison (*Galictis cuja*) is one of the least known carnivores in the Neotropical region. Its wide geographical occurrence and range of habitats suggest the existence of morphological variation along its distribution. The aim of the present study was to investigate the variation in skull shape and size of this species by testing two hypotheses: populations from different ecoregions show localized phenotypes; or the species presents a more generalist phenotype throughout its distribution according to the isolation by distance model. The skulls of 52 museum specimens were photographed in ventral, dorsal, and lateral views, and analysed using morphometric geometric techniques. Although males were significantly larger than females ($p < 0.001$), sexual dimorphism in skull shape was absent. Comparison of adult skull size and shape between the Atlantic Forest and Uruguayan savanna specimens revealed that specimens from the Uruguayan savanna were significantly larger than the ones from the Atlantic Forest ($p < 0.001$), but without differences in skull shape. There was a correlation

between geographical distance and skull shape for the dorsal view, corroborating the isolation by distance model hypothesis. However, we cannot exclude the possibility of local phenotypes adapted to different environments, owing to the lack of samples from other regions. The availability and size of prey in each ecoregion could be an explanation for the pattern of the skull size distribution observed. However, more data about the ecology of this mustelid are needed, as well as increased sampling from its northern distribution, to better understand this relationship.

Keywords: geometric morphometrics, intraspecific variation, sexual dimorphism, Uruguayan savanna, Atlantic Forest.

Introduction

One of the least known carnivores in the Neotropical region, the lesser grison (*Galictis cuja*, Molina 1782) is a small mustelid, characterized by a thin and elongate body, short legs, and a short, bushy tail (Yensen & Tarifa, 2003; Oliveira, 2009). The lesser grison is found across a wide range of distribution including southern Peru, western Bolivia, central Chile, Paraguay, Uruguay, north Argentina (Yensen & Tarifa, 2003), and the greater part of Brazil. In Brazil, except for the Amazonian region where its congeneric, the greater grison (*G. vittata*) occurs, the lesser grison occupies almost all terrestrial biomes, including the Cerrado (Savanna) and Caatinga (Deserts and Xeric Shrublands) of the north-east, as well as the Atlantic Forest throughout the eastern seaboard, and the pampas grasslands towards the south (Bornholdt *et al.*, 2013).

The available literature about the species includes information about its trophic ecology in Argentina, Chile, Uruguay, and southern Brazil (Ebensperger, Mella, & Simonetti, 1991; Diuk-Wasser & Cassini, 1998; Delibes *et al.*, 2003; Kraus & Rödel,

2004; Zapata *et al.*, 2005; Kasper *et al.*, 2015), habitat selection (Zúñiga, Muñoz-Pedreros & Fierro, 2009), and anatomy (Ercoli *et al.*, 2012; 2016). With feet adapted for running and climbing, the lesser grison feeds mainly on small to medium-sized vertebrates, especially rodents, as well as birds, frogs, lizards, snakes, and their eggs (Yensen & Tarifa, 2003).

Evaluating the trophic segregation of small carnivorans from southern South America using a geometric morphometric approach, Schiaffini & Prevosti (2013) posited that the lesser grison belongs to a “hypercarnivorous” morphotype with strong zygomatic arches, long palatal plates, and large trigonids with reduced post-carnassial dentition, which are specializations for its diet of vertebrate flesh. In their recent revision of the genus *Galictis*, Bornholdt *et al.* (2013) proposed that, despite the clear morphological and genetic discrimination between the two species, the largest lesser grison males could overlap in size with the smallest greater grison males. Except for these studies, the cranial morphology of the species has been largely unexplored, even in evolutionary studies about cranial morphology of the Mustelidae family (Catalano, Ercoli & Prevosti, 2014; Law *et al.*, 2018).

The wide geographical distribution of the lesser grison and the range of habitats this mustelid occurs give rise to two hypotheses of morphological variation. Morphometric analysis of several mammalian craniums suggests that patterns of morphological variation in species with large distribution areas might be adaptations to a range of environmental conditions (Gay & Best, 1996), availability of resources (Macnab, 2010; Schiaffini, 2016), or to reduce competition with ecologically similar species occurring throughout their distribution (Bubadué *et al.*, 2015). Thus, our first hypothesis was that there should be a variation in the size and/or shape of the skull of the lesser grison among populations of different regions throughout the species’

distribution, with natural selection acting predominantly on the skull shape, leading to localized phenotypes adapted to their respective environments.

However, size and morphological variations are not always associated with adaptive forces, as in some cases they may be explained by geographic distance (Hernández-Romero, Guerrero & Valdespino, 2015). In population genetics, the isolation by distance model predicts that genetic similarity between populations will decrease exponentially as the geographic distance between them increases (Wright, 1943). Once it is possible to outline an analogy between genotype and phenotype, our second hypothesis was that the skull of the lesser grison might follow the isolation by distance model, with genetic drift as the main evolutionary force acting on the skull morphology generating a more generalist pattern throughout this mustelid's distribution.

There have been no studies until now that have investigated intraspecific morphological variations in the skull of the lesser grison skull using geometric morphometric techniques. Thus, the objective of the present study was to evaluate differences in size and shape of the skull of the species along its distribution in Brazil.

Materials and Methods

Sample

The skull of museum specimens of *G. cuja* was photographed using a Sony DSC-H9 digital camera, at a fixed distance of 24 cm using a support platform. A millimetre graph paper was used as a photographic background for subsequent scale referencing. The photographs were taken and landmarked by the same investigator (RPM) to avoid inter-observer error. Only adult skulls with known locality and sufficient integrity to digitalize landmarks that represent the entire skull morphology were included in the statistical analyses. Adult specimens were recognized as those

presenting a fully erupted permanent dentition along with a total fusion of the skull sutures (*following* Bornholdt *et al.*, 2013).

For each specimen where the corresponding geographical coordinates were missing, each collection locality was georeferenced using Google Earth (Google, 2018) with a general and central coordinate of municipality as the reference. The location records of the specimens were classified based on the ecoregions proposed by Olson *et al.* (2001), with adaptations, using a shapefile in QGIS 2.18.25 (QGIS Development Team 2018). The specimens sampled in the Alto Paraná Atlantic Forest, Araucaria Moist Forest, Serra do Mar Coastal Forest, Bahia Interior Forest, and Bahia Coastal Forest were grouped as the “Atlantic Forest” ecoregion (**Figure 1**).

The examined specimens are housed at the mammalian collections of the following institutions: Museu de Zoologia do Pampa, located at the Laboratório de Biologia de Mamíferos e Aves (LABIMAVE), Universidade Federal do Pampa, São Gabriel (MZPAMPA); Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (FZB/RS); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (MCT-PUCRS); Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Brazil (MCNU); Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil (LAMAq-UFSC); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil (MZUSP); Museu Nacional de História Natural, Rio de Janeiro, Brazil (MNHN); Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil (CCT-UFMG); and Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Brazil (MPEG). The list of analysed specimens is presented in the Supporting Information (Table S1).

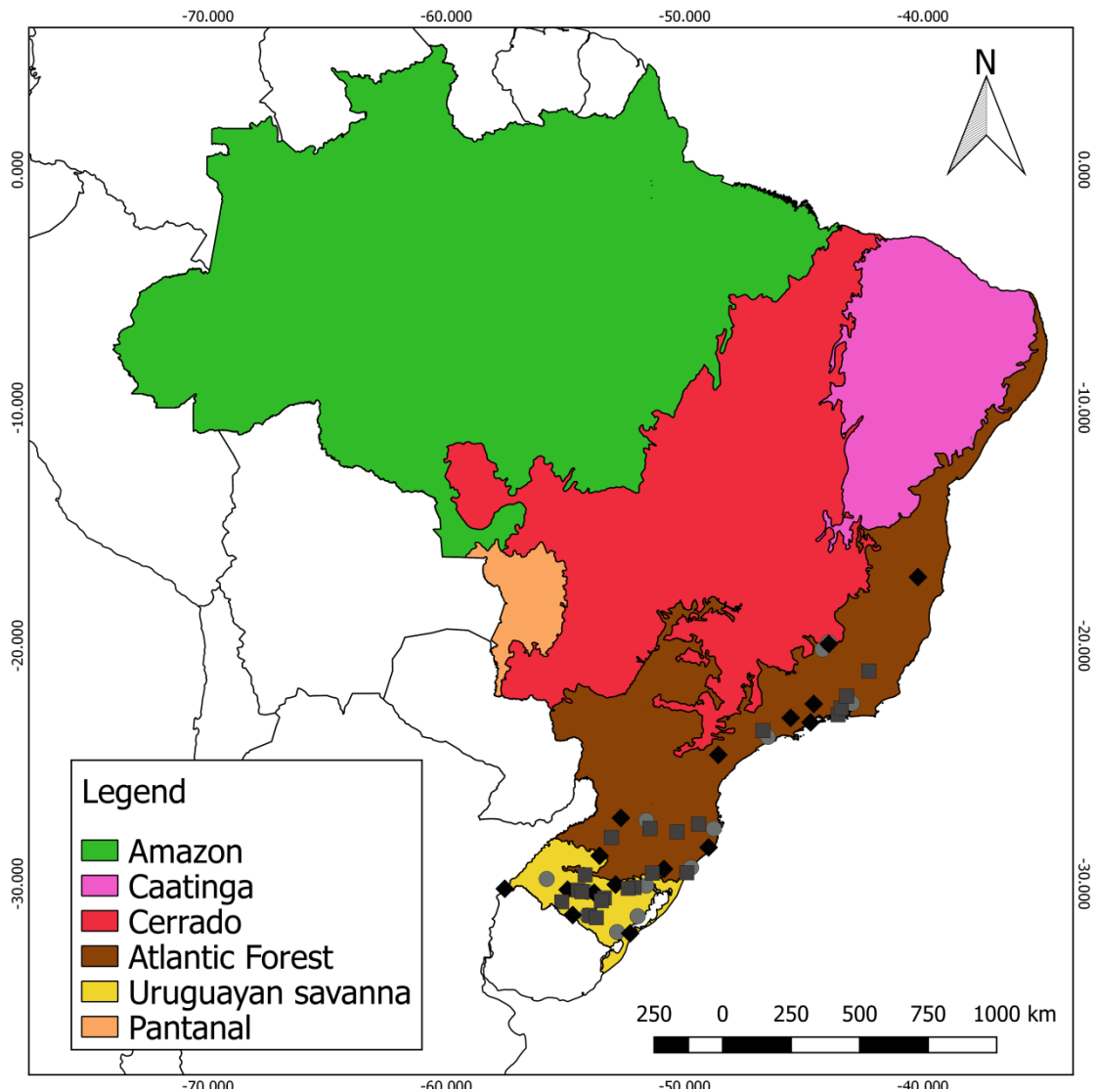


Figure 1. Geographic distribution of 52 analysed specimens of *Galictis cuja* (squares: males, diamonds: females, and circles: unsexed), indicating the ecoregions of origin.

Geometric morphometric procedures

The skull of 52 adult specimens (21 males, 17 females, and 14 unsexed) were photographed in ventral ($n = 48$), dorsal ($n = 51$), and lateral views ($n = 52$) (**Figure 2**). The photos were compiled using tpsUtil 1.64 (Rohlf, 2013) and the landmarks digitalized using tpsDig 2.26 (Rohlf, 2015). The specimens were grouped into Atlantic Forest (10 males, nine females, and six unsexed) and Uruguayan savanna (11 males,

eight females, and eight unsexed). As only three samples each were obtained from the Caatinga and Cerrado ecoregions, they were discarded from the analysis.

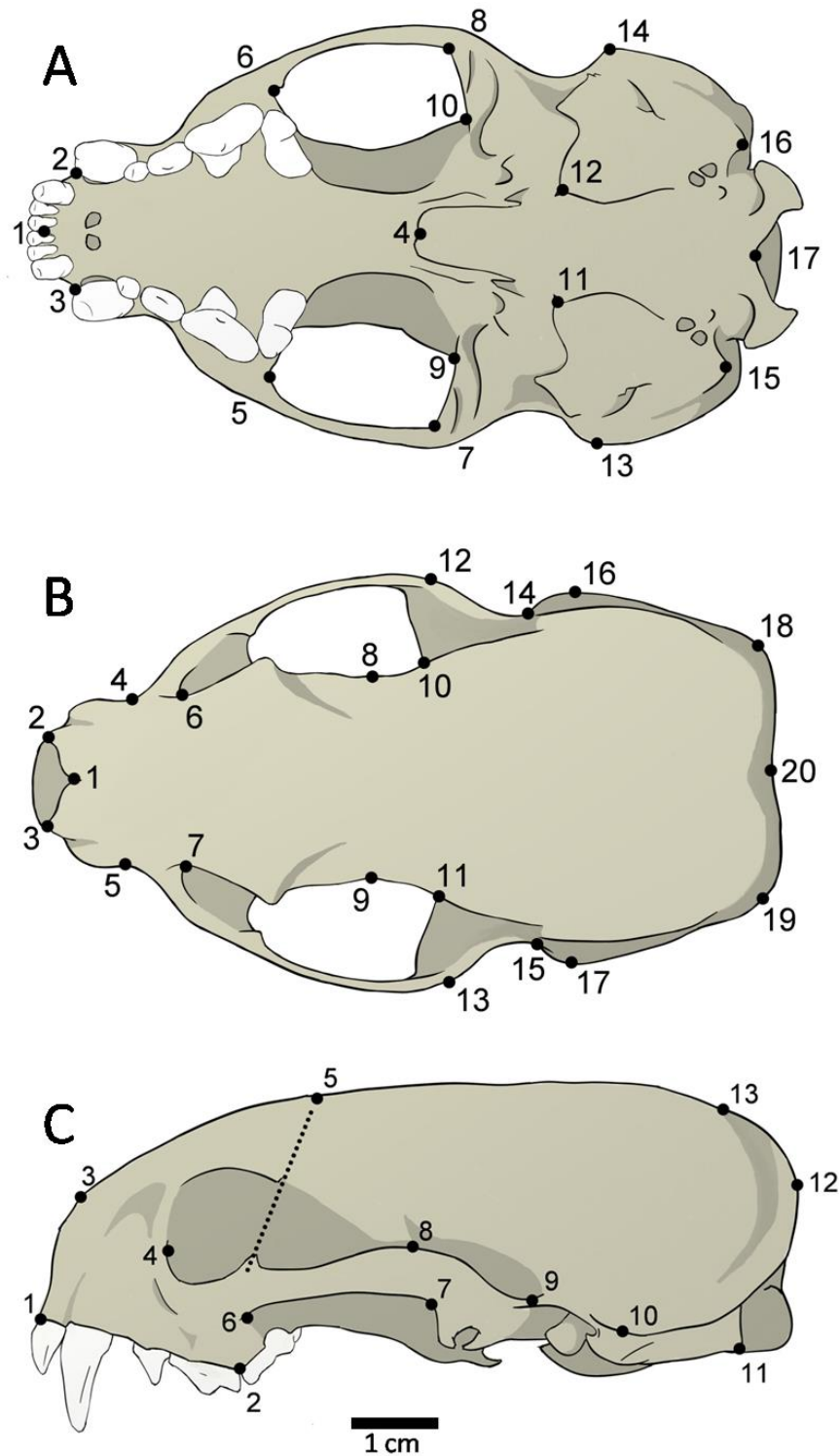


Figure 2. Landmarks digitized in 52 skulls of *Galictis cuja*. Ventral view (A): middle point of incisive series (1); most anterior point of canines (2-3); posterior point of

palatine torus (4), anterior point (5-6), external (7-8), and internal edge (9-10) of temporal fossa; anterior point of tympanic bulla (11-12); most lateral point of mastoid process (13-14); paracondylar process (15-16); and inferior point in the foramen magnum (17). Dorsal view (B): anterior point of the nasals in the *sutura internasalis* (1); tips of nasal process (2-3); infraorbital foramen (4-5); lacrimal foramen (6-7); point of least width between frontals (8-9); anterior point of squamous (10-11); most external posterior point of zygomatic arch (12-13); posterior point of squamous (14-15); most lateral point of the mastoid process (16-17); most external points of occipital (18-19); and intersection of temporal line and sagittal crest (20). Lateral view (C): anterior (1) and posterior (2) points of dentary row; most anterior point of the premaxilla and nasal bone suture (3); lacrimal foramen (4); point of the frontal straight to orbital processes (5); most lateral point of the insertion of the jugal on the maxilla (6); most posterior ventral (7) and higher (8) points of squamosal process; point of insertion of the zygomatic arch on the braincase (9); most lateral point of the mastoid process (10); paracondylar process (11); most external point of occipital (12); and intersection of temporal line and sagittal crest (13).

Data analysis

First, landmark coordinates were superimposed with a Generalised Procrustes Analysis (Dryden & Mardia, 1998), which removes effects not related to shape, such as position, scale, and orientation. Although extracting the shape information from the raw data of landmark coordinates removes variation in size per se, the shape data may still contain a component of size-related shape variation owing to the effects of allometry (Klingenberg, 2016). Therefore, the presence of allometry was examined using a multivariate regression of shape on size (Monteiro, 1999). As we opted to analyse size

and shape separately, the residuals of this regression were used for the subsequent analyses, representing size-independent shape variables. As a preliminary analysis, sexual size dimorphism was evaluated using a Student's *t*-test and shape using a multivariate analysis of variance (MANOVA).

A Student's *t*-test was performed to analyse statistical size differences between the distinct ecoregions. The hypothesis of the existence of differences in skull shape according to the different ecoregions was tested with a MANOVA. The shape variation had its dimensionality reduced with a Principal Component Analysis (PCA).

The localities of the specimens were used to generate a geographical distance matrix using *Geographic Distance Matrix Generator* v1.2.3 (Ersts, 2018). A Mahalanobis distance matrix was generated with the Procrustes distance of the consensus shape of the specimens. The hypothesis of isolation by distance was tested by correlating these matrixes, through an RV coefficient (Heo & Gabriel, 1997). All the statistical analyses and graphs were generated in "R" version 3.2.2 (R Development Core Team, 2018).

Results

Males and females differed in skull size in the ventral ($t = -5.9755$, $df = 33.789$, $p < 0.001$), dorsal ($t = -7.006$, $df = 33.93$, $p < 0.001$), and lateral ($t = -6.853$, $df = 35.914$, $p < 0.001$) views, with males being larger than females. The results evidenced no skull shape differences between sexes (ventral: $p = 0.995$, dorsal: $p = 0.989$, and lateral: $p = 0.981$). Based on this absence of significant statistical difference in skull shape, males, females, and the unsexed specimens were pooled together for the subsequent analysis.

The Student's *t*-test showed significant differences for skull size between the Atlantic Forest and Uruguayan savanna in the ventral ($t = -4.413$, $df = 45.972$, $p < 0.001$), dorsal ($t = -3.1426$, $df = 48.139$, $p = 0.002$), and lateral ($t = -3.5445$, $df = 46.684$, $p < 0.001$) views, with the specimens from the Uruguayan savanna being larger in relation to the ones from the Atlantic Forest, as represented in the boxplot of the ventral view (**Figure 3**).

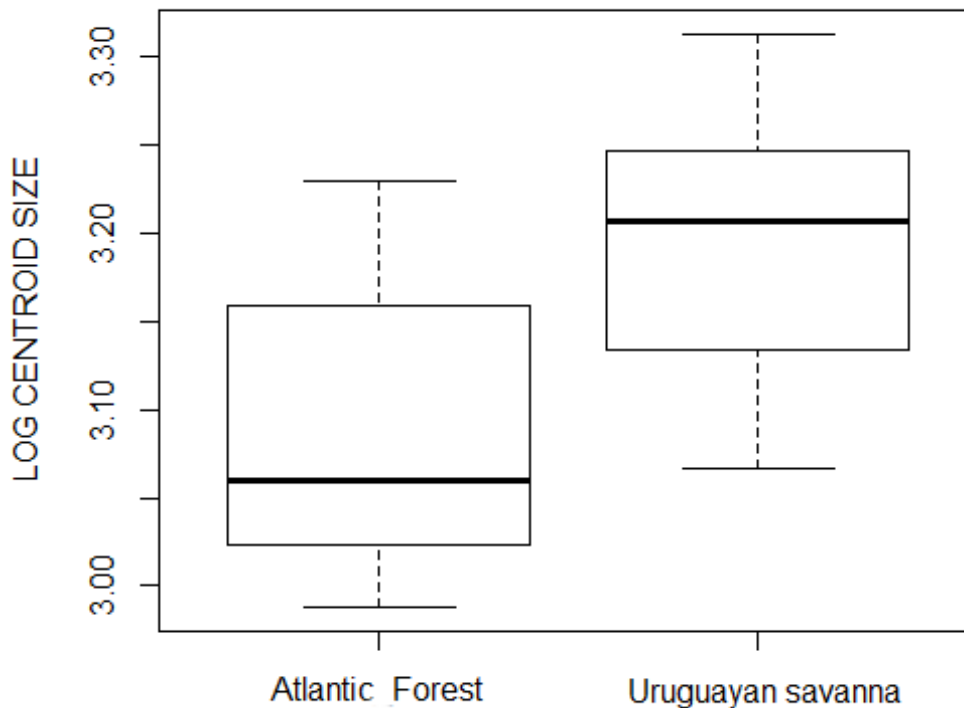


Figure 3. Boxplot of skull log centroid size of *Galictis cuja* among ecoregions in Brazil, in ventral view. The black line represents median values; the boxes, the first interquartile; and the bars, the second interquartile.

The multivariate regression of shape on size revealed that allometry was significant for the three views of the skull ($p < 0.05$). The amounts of shape predicted by size were 22.7%, 24.2%, and 9.5% for the ventral, dorsal, and lateral views, respectively.

The first 18 principal components (PCs) cumulatively explained 95.5% of total variance in the dorsal view; the first 17 explained 95.6% variance in the ventral view; and the first 14 explained 96% variance in the lateral view. Plotting the first PCs (19.9% dorsal, 18.7% ventral and 31.3% lateral) with the second (15.6% dorsal, 13.9% ventral and 14.4% lateral) PCs, the PCA plot did not cluster groups for any of the skull views. The MANOVA revealed no skull shape differences between the ecoregions sampled (ventral: $p = 0.98$; dorsal: $p = 0.47$; and lateral: $p = 0.96$).

The RV coefficient showed significant correlations between the geographical distance and the Procrustes distances of the consensus shape for the dorsal view ($p = 0.001$), but not for the ventral ($p = 0.82$) and lateral ($p = 0.07$) views of the skull.

Discussion

Our results indicate a lack of sexual dimorphism in the skull shape of the lesser grison, but the species exhibits sexual dimorphism in skull size, with males being larger than females. This sexual dimorphism could be associated with the effect of feeding ecology on the mating system of the species. According to Noonan *et al.* (2016), the Mustelidae family exhibits a trend where sexual dimorphism is greater among smaller species. Small mustelids, such as the lesser grison, are predominately obligate carnivores, feeding almost exclusively on vertebrates (Zapata *et al.*, 2005). In this species, the dispersion of food resources would promote defendable, intrasexual territories, resulting in mating systems where males must compete for access to females, which confers a selective advantage to larger males (Noonan *et al.*, 2016).

This was the first study to investigate the intraspecific variation in the skull shape and size of the lesser grison. A significant difference in skull size was found, with specimens from the Uruguayan savanna being significantly larger than the ones from

the Atlantic Forest. Interestingly, during their assessment of morphological characteristics, Bornholdt *et al.* (2013) found two individuals of the lesser grison, one from Rio Grande do Sul state, southern Brazil and another from the coast of Uruguay, considered exceptionally large by the authors, overlapping in size with the greater grison. However, this was attributed to within-population interindividual variation, and no particular geographical trend was tested.

Competition is assumed to occur mostly among closely related species, but it may also take place among species from different clades with similar ecology (Valkenburgh, 1999). Throughout the ecoregions sampled, there were no other similar small mustelids that could compete with the lesser grison for the same resources. The only other hypercarnivorous species in sympatry are the felids (Reis *et al.*, 2011). In southern Brazil, Kasper *et al.* (2015) reported that the lesser grison bases its diet on rodents, with indices of up to 95% of food niche overlap with the small cats. However, these species probably use different foraging strategies; cats generally ambush their prey, whereas the lesser grison locates and attacks dens and nests, besides actively chasing some prey like the Brazilian guinea pig (*Cavia* spp.) (*personal observations*). Thus, in this context, trophic competition might not provide the most comprehensive explanation for the lesser grison's skull size variation.

In contrast, an assemblage of New World least weasels do not seem to follow the predictions of character displacement. In America, the long tailed-weasel, *Mustela frenata*, presents a wide range distribution, occurring from north Canada to the north-east of South America. This species is smaller when sympatric with its two smaller congeners —*M. erminea* and *M. nivalis*— suggesting that the force driving canine size evolution in this species may be local adaptation for hunting similar resources (Meiri,

Simberloff & Dayan, 2011). Thus, morphological convergence in size may occur in cases of use of similar resource bases in sympatry.

Schiaffini (2016) found Molina's hog-nosed skunk (*Conepatus chinga*) with larger skull size in areas such as the Humid Pampas and Uruguayan Savanna than in the Low Monte and Dry Chaco, in Argentina (Olson *et al.*, 2001). Since these were the ecoregions with higher net primary productivity, in comparison to the other ecoregions sampled in southern South America, his findings support the hypothesis of resource availability, according to which the spatial variation in mammal body size could be explained by the availability and characteristics of consumed resources (McNab, 2010). Despite the wide distribution of the lesser grison, its food habits are poorly understood in most of its habitat range. The only published data in Brazil are from Rio Grande do Sul state and are not combined with estimates of prey availability (Kasper *et al.*, 2015), precluding a comparison of different patterns of prey consumption in the Uruguayan savanna and the Atlantic Forest.

The mustelids evolved higher bite forces simply through evolutionary shifts towards larger head and body sizes (Law *et al.*, 2018). The mean weight of specimens from the Uruguayan savanna sampled in this work was greater than that of the specimens from the Atlantic Forest, with the former weighing, on average, 1.59 kg (1.25 kg for females and 1.74 kg for males) and the latter weighing 1.23 kg (0.7 kg for females and 1.41 kg for males). The availability and size of prey in each ecoregion could possibly explain the pattern of the skull size observed in the lesser grison. More data about this mustelid's ecology as well as increased sampling from its northern distribution are needed, to better understand this relationship.

Our results revealed a significant correlation between the geographical and morphological distances for the dorsal view, which agrees with the isolation by distance

model. Dietary ecology is known to influence evolution of cranial shape in mustelids (Law *et al.*, 2018), modifying regions related to the biomechanics of chewing and biting (the snout, palate and row length, the zygomatic arches, and temporal line/sagittal crest), with strong effects on muscle attachment sites (Dumont *et al.*, 2016). Unfortunately, the lack of information regarding the diet of the lesser grison in the Atlantic Forrest and the Uruguayan savanna region only allows us to speculate that this species could feed on larger prey in the Uruguayan savanna than in the Atlantic Forest.

In other species of mustelids such as the Neotropical otter (Hernández-Romero *et al.*, 2015), changes in skull shape respond to different selective pressures, as well as geographical barriers and large distances between the regions. However, the lesser grison seems to occur continuously and uniformly along the Atlantic Forest and Uruguayan savanna, with no apparent geographical barriers.

In this study, isolation by distance was the major factor influencing the variation in skull shape of the lesser grison between the Atlantic Forest and Uruguayan savanna. However, we cannot exclude the possibility of local phenotypes adapted to different environments, owing to the lack of samples from other regions. Therefore, a more representative sampling for the entire distribution of the lesser grison, especially from the Caatinga and Cerrado ecoregions, is recommended to completely understand this variation.

Acknowledgements

We thank all the curators of the following institutions for their cooperation in providing the necessary information and for allowing access to their collections: Dra. Tatiane Trigo (FZB/RS), Dra. Carla Fontana (MCT-PUCRS), Dr. Alexandre Uarth Christoff (MCNU), Dr. Maurício Graipel (LAMAq-UFSC), Juliana Barros (MZUSP), Dr. João

Alves de Oliveira (MNHN), Dr. Fernando Perini (CCT-UFMG), and Dra. Alexandra Bezerra (MPEG). We are also grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the postgraduate scholarship. Special thanks to Felipe Peters for his continued contribution in providing material for the research developed at LABIMAVE. Additional thanks to Mauro Bossi for contributions throughout the development of this study.

References

Bornholdt, R., Helgen, K., Koepfli, K.P., Oliveira, L., Lucherini, M. & Eizirik, E. (2013). Taxonomic revision of the genus *Galictis* (Carnivora: Mustelidae): species delimitation, morphological diagnosis, and refined mapping of geographical distribution. *Zool J Linnean Soc.* **167**, 449-472.

Bubadué, J.M., Cáceres, N., Carvalho, R.S. & Meloro, C. (2015). Ecogeographical Variation in Skull Shape of South-American Canids: Abiotic or Biotic Processes? *Evol Biol.* **43**, 145-159.

Catalano, S.A., Ercoli, M.D. & Prevosti, F.J. (2014). The more, the better: the use of multiple landmark configurations to solve the phylogenetic relationships in musteloids. *Syst Biol.* **64**, 294-306.

Delibes, M., Travaini, A., Zapata, S.C., & Palomares, F. (2003). Alien mammals and the trophic position of the lesser grison (*Galictis cuja*) in Argentinean Patagonia. *Can J Zool.* **81**, 157-162.

Diuk-Wasser, M.A. & Cassini, M.H. (1998). A study on the diet of minor grisons and a preliminary analysis of their role in the control of rabbits in Patagonia. *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* **33**, 3-6.

Dryden, I. L. & Mardia, K.V. (1998). *Statistical shape analysis*, 1st ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Dumont, M., Wall, C.E., Botton-Divet, L., Goswami, A., Peigné, S. & Fabre, A.C. (2016). Do functional demands associated with locomotor habitat, diet, and activity pattern drive skull shape evolution in musteloid carnivorans?. *Biol J Linn Soc.* **117**, 858-878.

Ebensperger, L.A., Mella, J.E. & Simonetti, J.A. (1991). Trophic-niche relationships among *Galictis cuja*, *Dusicyon culpaeus*, and *Tyto alba* in central Chile. *J. Mammal.* **72**, 820-823.

Ercoli, M.D., Echarri, S., Busker, F., Álvarez, A., Morales, M.M. & Turazzini, G.F. (2012). The functional and phylogenetic implications of the myology of the lumbar region, tail, and hind limbs of the lesser grison (*Galictis cuja*). *J. Mamm. Evol.* **20**, 309-336.

Ercoli, M.D., Álvarez, A., Busker, F., Morales, M.M., Julik, E., Smith, H.F., Adrian, B., Barton, M., Bhagavatula, K., Poole, M., Shahsavan, M., Wechsler, R. & Fisher, R. E. (2016). Myology of the head, neck, and thoracic region of the lesser grison (*Galictis*

cuja) in comparison with the red panda (*Ailurus fulgens*) and other carnivorans: phylogenetic and functional implications. *J. Mamm. Evol.* **24**, 289-322.

Ersts, P.J. (2018). Geographic Distance Matrix Generator (version 1.2.3). American Museum of Natural History, Center for Biodiversity and Conservation. Available at: http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/gdmg, downloaded on 17 December 2018.

Gay, S.W. & Best, T.L. (1996). Relationships between abiotic variables and geographic variation in skulls of pumas (*Puma concolor*: Mammalia, Felidae) in North and South America. *Zool J Linnean Soc.* **117**, 259-282.

GOOGLE. (2018). Google Earth website. Available at: <http://earth.google.com/>, downloaded on 30 July 2018.

Heo, M. & Gabriel, K.R. (1997). A permutation test of association between configurations by means of RV coefficient. *Commun Stat Simul Comput.* **27**, 843–856.

Hernández-Romero, P.C., Guerrero, J.A. & Valdespino, C. (2015). Morphological variability of the cranium of *Lontra longicaudis* (Carnivora: Mustelidae): a morphometric and geographic analysis. *Zool. Stud.* **54**, 1-12.

Kasper, C.B., Peters, F.B., Christoff, A.U. & de Freitas, T.R.O. (2015). Trophic relationships of sympatric small carnivores in fragmented landscapes of southern Brazil: niche overlap and potential for competition. *Mammal.* **80**, 143-152.

Klingenberg, C. P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol*, **226**, 113-137.

Kraus, C. & Rödel, H.G. (2004). Where have all the cavies gone? Causes and consequences of predation by the minor grison on a wild cavy population. *Oikos*. **105**, 489–500.

Law, C.J., Duran, E., Hung, N., Richards, E., Santillan, I. & Mehta, R.S. (2018). Effects of diet on cranial morphology and biting ability in musteloid mammals. *J evol biol*. **31**, 1918-1931.

McNab, B.K. (2010). Geographic and temporal correlations of mammalian size reconsidered: a resource rule. *Oecol*. **164**, 13-23.

Meiri, S., Simberloff, D. & Dayan, T. (2011). Community-wide character displacement in the presence of clines: A test of Holarctic weasel guilds. *J Anim Ecol*. **80**, 824-834.

Monteiro, L.R. (1999). Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. *Syst Biol*. **48**, 192-199.

Noonan, M.J., Johnson, P.J., Kitchener, A.C., Harrington, L.A., Newman, C. & Macdonald, D.W. (2016). Sexual size dimorphism in musteloids: An anomalous allometric pattern is explained by feeding ecology. *Ecol Evol*. **6**, 8495-8501.

Oliveira, T.G. (2009). Notes on the distribution, status, and research priorities of little-known small carnivores in Brazil. *Small Carniv Conserv.* **41**: 22–24.

Olson, D.M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E.D., Burgess, N.D., Powell, G.V.N., Underwood, E.C., D’Amico, J.A., Itoua, I., Strand, H.E., Morrison, J.C., Loucks, C.J., Allnutt, T.F., Ricketts, T.H., Kura, Y., Lamoreux, J.F., Wettengel, W.W., Hedao, P. & Kassem, K. R. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *BioScience.* **51**, 933-938.

QGIS Development Team. (2018). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. Available at: <http://qgis.osgeo.org>, downloaded on 30 November 2018.

R Development Core Team. (2018). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: R Development Core Team. Available at: <http://www.rproject.org>, downloaded on 30 July 2018.

Reis, N.R, Peracchi, A.L., Pedro, W.A. & Lima, I.P. (2011). *Mamíferos do Brasil*. 2nd Ed. Londrina: Universidade Estadual de Londrina.

Rohlf, F.J. (2013). tpsUtil, file utility program. Version 1.64. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Rohlf, F.J. (2015). tpsDig, digitize landmarks and outlines. Version 2.19. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Schiaffini, M.I. & Prevosti, F.J. (2013). Trophic segregation of small carnivorans (Carnivora: Mustelidae and Mephitidae) from the southern cone of South America. *J. Mamm. Evol.* **4**, 407-416.

Schiaffini, M.I. (2016). A test of the Resource's and Bergmann's rules in a widely distributed small carnivore from southern South America, *Conepatus chinga* (Molina, 1782) (Carnivora: Mephitidae). *Mamm Biol*, **81**, 73-81.

Van Valkenburgh, B. (1999). Major patterns in the history of carnivorous mammals. *Annu Rev Earth Planet Sci.* **27**, 463–493.

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics.* **28**, 114.

Yensen, E. & Tarifa, T. (2003). *Galictis cuja*. *Mammal Species.* **728**, 1–8.

Zapata, S. C., Travaini, A., Delibes, M. & Martínez-Peck, R. (2005). Annual food habits of the lesser grison (*Galictis cuja*) at the southern limit of its range. *Mammalia mamm.* **69**, 85-88.

Zúñiga, A., Muñoz-Pedrerros, A. & Fierro, A. (2009). Uso de hábitat de cuatro carnívoros terrestres en el sur de Chile. *Gayana, Zool.* **73**, 200-210.

Supporting Information

Table S1. Analysed specimens of *Galictis cuja*, with corresponding collection identification, sex (F, female; M, male; ?, unknown), and geographic origin. They are housed at the following Brazilian institutions: Museu de Zoologia do Pampa (MZPAMPA); Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB/RS); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCT-PUCRS); Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU); Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina (LAMAq-UFSC); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP); Museu Nacional de História Natural (MNHN); Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CCT-UFMG) and Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

Collection	Specimen ID	Sex	Geographic origin
MZPAMPA	M0004	F	Cachoeira do Sul, RS
	M0005	?	Santa Margarida do Sul, RS
	M0102	M	Rosário do Sul, RS
	M0116	?	São Gabriel, RS
	M0387	F	Vila Nova do Sul, RS
	M0452	M	Minas do Leão, RS
	M0531	M	São Gabriel, RS
	M0542	F	Rosário do Sul, RS
	M0604	M	Pantano Grande, RS
	M0611	?	Eldorado do Sul, RS
	M0618	?	Pedro Osório, RS

	M0688	M	Caçapava do Sul, RS
	M0691	M	Caçapava do Sul, RS
	M0692	M	Bagé, RS
	M0694	M	Candiota, RS
FZB/RS	MCN2512	?	Passo de Torres, SC
	MCN2765	F	Bagé, RS
	MCN3065	M	RS 389, Km 56, RS
MCT-PUCRS	MCP1787	M	RS 446, Bom Princípio, RS
	MCP1820	?	BR-290, Alegrete, RS
MCNU	MCNU071	F	Barra do Quaraí, RS
	MCNU627	M	São Pedro do Sul, RS
	MCNU757	?	Bagé, RS
	MCNU1829	M	Chapada, RS
	MCNU2775	?	Rio do Peixe, Ouro, SC
	MCNU3720	F	BR 287, Km 22, RS
	MCNU3722	F	Rio Grande, RS
LAMAq-UFSC	UFSC746	?	Santo Amaro da Imperatriz, SC
	UFSC785	F	Tubarão, RS
	UFSC870	M	Rio dos Bugres, SC
	UFSC4830	F	SCT 480, trilha do Pitoco, SC
	UFSC5706	M	Lages, SC
MZUSP	000230	?	São Lourenço do Sul, RS
	000978	F	Ipiranga, SP
	001247	M	Três Rios, RJ
	006463	M	Butantã, SP

	009633	?	Santos, SP
	001004	?	São Lourenço do Sul, RS
MNHN	1882	M	Campo Grande, RJ
	3127	F	Itatiaia, RJ
	3129	?	Teresópolis, RJ
	8236	F	Pedra Branca, Paraty, RJ
	29983	F	Fazenda Serra Azul, BA
	29984	F	Taubaté, SP
	29985	M	Tinguá, Nova Iguaçu, RJ
	30001	M	São João da Glória, MG
CCT-UFMG	UFMG3824	F	Belo Horizonte, MG
	UFMG3935	?	Sítio Braúna, Pampulha, MG
	UFMG3978	?	Brumadinho, MG
MPEG	22188	M	Barracão, RS
	22229	F	Cachoeira do Sul, RS
	22230	F	Gramado, RS

5 CONCLUSÕES GERAIS

Como análise preliminar, observou-se o mesmo padrão de dimorfismo sexual tanto para o gato-mourisco quanto para o furão-pequeno, onde o crânio dos machos é significativamente maior que o das fêmeas, porém sem apresentar diferença significativa na forma. Entre pequenos mustelídeos, como o furão-pequeno, é conhecido este padrão de dimorfismo sexual, segundo a qual o efeito da ecologia alimentar nos sistemas de acasalamento pode ser um fator que explica a variação de tamanho entre os sexos. A dispersão dos recursos alimentares leva a existência de territórios intra-sexuais defensáveis. Neste arranjo, machos maiores têm vantagem seletiva na competição pelo acesso às fêmeas.

O fato dos espécimes de gato-mourisco provenientes da Amazônia serem significativamente maiores do que os indivíduos das outras ecorregiões foi de certa forma inesperado, quando comparado ao padrão oposto apresentado por outros felinos Neotropicais. Neste caso, uma vez que o gato-mourisco utiliza a segregação temporal como forma de reduzir competição com os outros pequenos felinos em simpatria, é possível que a disponibilidade de recursos seja a causa principal desta diferenciação.

Devido à falta de correlação entre a distância geográfica e a forma do crânio, a hipótese do isolamento por distância para o gato-mourisco foi rejeitada. Diferenças significativas para a forma entre ecorregiões não foram extensivamente detectadas, sendo que apenas o Cerrado parece apresentar um fenótipo localizado, demonstrado pela vista lateral. As características distintas deste ambiente poderiam estar exercendo pressões seletivas suficientes para distinguir estes espécimes. Porém, devido à sua flexibilidade e capacidade de dispersão, e da alta consistência da forma do crânio inerente da família Felidae, em suportar certa variabilidade sem perder a funcionalidade, esta poderia ser uma flutuação fenotípica fixada.

Os espécimes de furão-pequeno também apresentaram variação regional de tamanho, sendo os da Savana Uruguia significativamente maiores quando comparados aos da Mata Atlântica, porém sem diferença significativa de forma. Como não há outros mustelídeos simpátricos similares em tamanho e ecologia a ele, divergência pela competição parece não ser a explicação deste padrão. Sabe-se que a ecologia alimentar é um fator de influência na evolução da forma do crânio na família Mustelidae, levando a modificações relacionadas à biomecânica da mastigação. Uma vez que uma força de

mordida maior também está relacionada ao aumento de tamanho, diferenças na disponibilidade e tamanho das presas em cada ambiente poderiam estar levando a esta diferenciação de tamanho do crânio do furão-pequeno.

Os resultados corroboraram a hipótese do isolamento por distância, através da correlação significativa da distância geográfica e forma da vista dorsal. Porém, a existência de fenótipos localizados não pode ser totalmente excluída, devido à falta de amostragem de espécimes deste mustelídeo em outras regiões.

Este foi o primeiro trabalho a investigar variações intraespecíficas na forma e tamanho do crânio do gato-mourisco e do furão-pequeno. Infelizmente, dados básicos da ecologia de ambas as espécies ainda são necessários, de forma a melhorar nossa compreensão dos processos evolutivos envolvidos nos padrões de variação de forma. Amostragens que abranjam o restante da distribuição geográfica destes animais, assim como uma maior representatividade de espécimes do Cerrado e Caatinga são recomendadas para elucidar com maior precisão estas e outras questões para futuras pesquisas ecológicas e morfológicas.