
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E MORFOMÉTRICAS DOS PÊLOS DE ROEDORES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE SÃO PAULO

MARCELO ANTONIO HARADA PENNA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Zoologia)

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS
MORFOLÓGICAS E MORFOMÉTRICAS DOS PÊLOS
DE ROEDORES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO
DE SÃO PAULO**

MARCELO ANTONIO HARADA PENNA

Orientador: Prof. Dr. NIVAR GOBBI

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade
Estadual Paulista “Julio de Mesquita
Filho”, Campus de Rio Claro, para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Área de
Concentração:Zoologia)

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
maio de 2009**

592-599 Penna, Marcelo Antonio Harada

P412a Avaliação de características morfológicas e morfométricas dos pêlos de roedores da Mata Atlântica do estado São Paulo / Penna, Marcelo Antonio Harada. – Rio Claro : [s.n.], 2009
80 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Nivar Gobbi

1. Zoologia – Classificação. 2. Mamíferos. 3. Rodentia. 4. Identificação. 5. Pêlos. 5. Técnicas. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Aos meus pais Neide e Dâmaso e à Annie, Dedico

"Aprender é descobrir aquilo que você já sabe. Ensinar é lembrar aos outros que eles sabem tanto quanto você..."

"Quando você chega ao limite de toda luz que você conhece, e está a ponto de dar um passo na escuridão, FÉ é saber que uma dessas coisas vai acontecer: vai haver chão, ou você vai ser ensinado a voar."

Richard David Bach

AGRADECIMENTOS

Desde o começo desta (longa) jornada recebi a colaboração de diversas pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e me sentiria muito mal de deixar passar alguma. Para as pessoas que por ventura eu tenha esquecido de citar, deixo de antemão as minhas sinceras desculpas.

Para começar, gostaria de agradecer à CAPES pela bolsa concedida para a realização deste estudo.

Aos funcionários do Depto. de Ecologia do I.B. da UNESP-Rio Claro pela sua prestatividade e simpatia. Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação pela eficiência e cordialidade. Ao Pessoal da Cantina: Rogério, Van, Rô, Lú, Teta e Lê pela amizade, brincadeiras e principalmente por não cuspirem nos meus salgados e lanches (espero).

Aos antigos amigos: Baço, Pixuco, Bozó, Andréa e Paulinha, que mesmo estando longe fisicamente sempre estiveram por perto nas minhas lembranças e nas deliciosas histórias que sempre tenho para contar.

Aos amigos que tornaram a minha estadia mais agradável: Bacaxi, Giloba, Fred, Harry, Chal, Matheus, Bixão, Henrique, Rafa (Bixinho), Itu, Shakira, Perdido, Fernando (primo), Jaú, Lagartixa, Minhoca, Dunha, Fejão, Michele, Lígia, Tatão, Dalila, Lú, Andréa, Bruna, Gabi, Regiane, Christine, Marina, Marília, Samile, Glei, Poita, Matraca, Miss, Pedrita e Tiu Pepeu (tenho certeza que estou esquecendo um monte de gente). Muito mais do que amigos e/ou alunos, vocês foram a minha família aqui, me diverti muito com vocês e ganhei mais um estoque infindável de histórias para contar (infelizmente, para mim, vocês também ganharam um monte às minhas custas, não é?)!!

Ao Prof. Mário Benincasa, pelas diversas conversas tarde da noite, pelas histórias pitorescas, e principalmente por sempre ter acreditado em mim.

Ao Prof. Carlos Henrique Silva Penteado (Ex-Editor da Holos Environment), pela amizade, pelas várias conversas, e “consultoria” ocasional que contribuíram para que eu me tornasse um biólogo melhor.

Ao Prof. Miguel Petreire Jr., que muito mais do que ser meu orientador de iniciação científica, deu oportunidade a um aluno medíocre como eu e me ensinou a ler um artigo corretamente e a pensar. Muito mais do que ser um pesquisador da sua estirpe, eu gostaria de ter um coração tão grande quanto o seu.

Ao Prof. Almir Ferraz Filho, que a despeito da diferença de idade se tornou um dos meus maiores amigos, que me deu muita "porrada" para que eu me tornasse uma pessoa melhor (menos pior), que me deu a oportunidade de conhecer o Pantanal e uma série de personalidades fantásticas (Jenni, Mar, Tëero e Evegny.

Ao Prof. Mário de Vivo, por ter gentilmente permitido a coleta do material na coleção de mamíferos do MZUSP. E a todo o pessoal do MZUSP (principalmente a Juliana) pelo coleguismo e ajuda durante as coletas.

Ao Dr. Andrei Trofimov (Academia Russa de Ciências), que me ajudou a entender melhor o raciocínio científico Russo, possibilitando assim o desenvolvimento do protocolo de tratamento dos pêlos proposto aqui.

Ao Prof. Nivar Gobbi... Amigo, mestre, mentor, orientador... É difícil explicar essa figura... Como ele mesmo disse uma vez: "...a gente vem se orientando e co-orientando há tanto tempo que os papéis de orientador e aluno às vezes se confundem...". Tenho tudo para agradecer a você! Pelas oportunidades, pela liberdade, pelas conversas, por ter me deixado criar um caminho meu mesmo sabendo que esse não era o melhor caminho, por ter me apresentado o maravilhoso mundo da Ecologia, e por ter me dado a oportunidade de ser seu amigo! Sei bem que você teria uma vida bem mais fácil se eu não tivesse atrapalhado tanto e te agradeço do fundo do coração por ter acreditado em mim!

Aos meus pais... Eles fizeram muito mais por mim do que eu merecia! Por eles eu cheguei aqui... Se não cheguei muito bem foi por culpa minha, mas o fato e o mérito de chegar aqui foi deles... Espero ser digno de ser seu filho hoje, amanhã e sempre...

À Annie... O que eu posso dizer? Muito mais que namorada ela foi minha amiga, uma pessoa que me coloca no meu lugar (Ohhh!!! Aplausos para ela!!!) e me ajudou de uma maneira que ela nem percebe... Quando eu estava no fundo do poço, ela tentou me salvar de todo jeito... O que ela fez está acima da obrigação ou devoção... Não tenho palavras suficientes para agradecer... Espero poder retribuir tudo o que você fez por mim!

Por último, a Deus. Apesar das nossas diferenças, você é o Cara!

RESUMO

O estudo das características microscópicas dos pêlos de mamíferos tem sido desenvolvido com o propósito de utilizá-las como critério taxonômico, especialmente para a identificação de restos presentes em fezes, conteúdos estomacais e bolotas de regurgitação de predadores. Os pêlos são menos danificados no processo digestivo, e são freqüentemente a única prova para identificação da presa em estudos de hábito alimentar, já que ossos e dentes sofrem intensa fragmentação durante a mastigação apresentando baixo valor diagnóstico, portanto um conhecimento maior da estrutura do pêlo facilita esses estudos e oferece uma base para estudos mais completos de predação e seus efeitos sobre as espécies de presa. Assim, os objetivos do presente projeto foram o desenvolvimento de técnicas de preparação de lâminas de pêlos para coleções e observações diretas; o desenvolvimento de uma chave de identificação de alguns roedores de mata atlântica baseada em pêlos; e a análise morfométrica dos pêlos de algumas espécies de roedores para a comparação com dados biométricos. Foram desenvolvidas 3 novas técnicas para a preparação de lâminas para a observação da medula de pêlos e outras 3 para a observação do padrão cuticular. Essas técnicas proporcionam um maior índice de sucesso na preparação de lâminas, aumentando também a visibilidade dos padrões e conseqüentemente as possibilidades de pesquisas na área.

Palavras Chave : Mamíferos, Rodentia, Identificação, Pêlos, Técnicas

ABSTRACT

The mammal hair identification has been used across the world for studies in forensics, in the field of public health, in textile fibers research, and in mammals feeding ecology, being useful on the identification of leftovers on feces and stomach contents. Hairs are the less damaged structures by digestive processes and nonetheless are the only clue for the identification of the prey in studies of feeding ecology of predators, since bones and tooth suffer heavy damage during the chewing process, being of a low diagnostic value. These factors show the importance of a better knowledge of the hair structure for prey or predator ecology studies. Also the hair trapping and identification has a important value in animal research bioethics, since the mammal surveys can be developed with hair-traps or scats/pellets without any harm or interference for the animals which have no risk to get addicted to the bait, which usually bias surveys, and minimizing the stress for being caught. The aim of the present thesis were the development of better techniques for the preparation of hair plates for collections and direct observations; the development of a identification key for Rain Forest rodents; and the morphometrical analysis of those mammals hairs for further comparison and analysis with biometrical data. There were developed 6 new techniques, being 3 for medulla pattern observation, and another 3 for cuticular impressions. Those techniques showed a higher success index on plate preparation, enabling the development of high level research on this field.

Key Words : Mammals, Rodentia, Identification, Hair, Techniques

SUMÁRIO

	Página
1 – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 – Histórico sobre a utilização de pêlos	2
1.2 – Estrutura dos pêlos	5
1.3 – Padrões medulares e cuticulares	14
2 – OBJETIVOS	20
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 – Técnicas de preparação de lâminas para a observação da medula de pêlos	21
3.2 – Técnicas de preparação de lâminas para a observação do padrão de escama de pêlos	23
3.3 – Desenvolvimento de técnicas de tratamento de pêlos e preparação de lâminas para a observação dos padrões de escama e medula de roedores de Mata Atlântica.....	25
3.4 – Caracterização morfológica dos padrões de escama e medula dos pêlos de roedores de Mata Atlântica.....	26
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 – Avaliação das técnicas de preparação de lâminas para a observação da medula de pêlos.....	30
4.1.2 – Protocolo de tratamento de pêlos para a observação de medula.....	31
4.2 – Avaliação das técnicas de preparação de lâminas para a observação do padrão de escama de pêlos.....	33
4.2.1 – Protocolo de preparação de lâminas de impressão do padrão de escama de pêlos.....	35
4.3 – Caracterização morfológica dos padrões de escama e medula dos pêlos de roedores de Mata Atlântica.....	37
4.4 – Considerações Gerais.....	44
5 – CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
7 - ANEXOS.....	58
7.1 – ANEXO I: Fotografias das lâminas preparadas pelas técnicas avaliadas	59
7.2 – ANEXO II: Fotografias dos padrões medulares e cuticulares.....	61
7.3 – ANEXO III: Fotografias dos padrões medulares e cuticulares de <i>Agouti paca</i> e <i>Trinomys iheringi</i>	

1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os pêlos são anexos epidérmicos queratinizados exclusivos dos mamíferos. Acredita-se que em espécies primitivas, os pêlos eram escassos possuindo uma função essencialmente táctil. Com a diversificação, irradiação e especialização dos mamíferos, a pelagem passou a cobrir praticamente todo o corpo passando a adquirir também as funções de termorregulação e proteção mecânica (HERSHKOVITZ, 1977; POUGH *et al.*, 2003).

Segundo Teerink (1991), a cutícula, a medula e o córtex dos pêlos-guarda dos mamíferos apresentam padrões morfológicos que quando analisados em conjunto possibilitam a obtenção de parâmetros diagnósticos específicos, sendo estruturas anatômicas de grande valia na identificação das espécies.

O estudo das características microscópicas dos pêlos de mamíferos tem sido desenvolvido com o propósito de utilizá-las como critério taxonômico, especialmente para a identificação de restos presentes em fezes, conteúdos estomacais e bolotas de regurgitação de predadores (BENEDICT, 1947). Os pêlos são menos danificados no processo digestivo (BRUNNER E COMAN, 1974) e freqüentemente são a única prova para identificação da presa em estudos de hábito alimentar, já que ossos e dentes sofrem intensa fragmentação durante a mastigação apresentando baixo valor diagnóstico (CHEHÉBAR E MARTÍN, 1989), portanto um conhecimento maior da estrutura do pêlo facilita esses estudos e oferece uma base para estudos mais completos de predação e seus efeitos sobre as espécies de presa (HAUSMAN,

1930; WILLIAMS, 1938; MEYER, 1952; DAY 1966; BRUNER e COMAN, 1974; BRUNNER e WALLIS, 1986; BUSCH, 1986; CHEHÉBAR e MARTÍN, 1989; DOUGLAS 1992; WOLF E LONG 1997). A possibilidade de identificação de mamíferos através dos pêlos também tem servido de auxílio na paleontologia, permitindo a identificação de alguns mamíferos fósseis que apresentem pêlos preservados (HAUSMAN, 1930; MEYER, 1952; BUSCH, 1986); nas ciências forenses, auxiliando na identificação de suspeitos e vítimas, e em trabalhos de levantamentos de fauna de mamíferos. Uma vez que os pêlos podem ser encontrados no ambiente, presos à vegetação, entradas de tocas, cercas, locais de repouso (BRUNNER E COMAN, 1974) ou contidos em fezes e regurgitos e egagrópilas (DAY, 1966), as metodologias de identificação contribuem com o benefício adicional de possibilitar o levantamento de espécies em uma determinada área, dispensando o uso de armadilhas convencionais e conseqüente aprisionamento dos animais (evitando o estresse causado por esse tipo de método) (TABERLET *et al.*, 1993).

Alem disso, a identificação de mamíferos por pêlos tem sido usada para desenvolver pesquisas relacionadas à filogenia (TABERLET *et al.*, 1993; TABERLET E BOUVET, 1994), paleontologia, arqueologia, ciências forenses, saúde pública e produção de fibras têxteis (WALLIS, 1993). Segundo Mayer (1952), essa identificação é possível porque a morfologia do pêlo é específica para cada espécie.

Sendo assim, o uso das características estruturais dos pêlos para a identificação de espécies de mamíferos vem sendo extensamente adotado, principalmente em estudos ecológicos e taxonômicos australianos, auxiliando análises qualitativas de faunas regionais e hábitos alimentares de predadores (BRUNNER E WALLIS, 1986).

1.1 – Histórico sobre a utilização de pêlos

A primeira grande contribuição ao estudo da estrutura dos pêlos foram os trabalhos de Hausman (1920 e 1930), nos quais são feitas descrições e desenhos de pêlos, apresentando dados sobre a configuração de escamas e medulas para pêlos de 166 mamíferos. Porém, foi Mathiak (1938), quem produziu a primeira chave de identificação para pêlos de mamíferos (para mamíferos do sul de Michigan). Esta chave baseou-se principalmente na aparência da secção transversal de pêlos, medidas de diâmetro e comprimento dos mesmos e organização da medula (BRUNER e COMAN, 1974).

Mathiak (1938) desenvolveu uma chave de identificação para pêlos de mamíferos da região sul do estado de Michigan (EUA) considerando principalmente o diâmetro e o comprimento dos pêlos. Williams (1938), elaborou uma chave de identificação para pêlos de toupeiras e doninhas.

Em 1940, Wildman publicou um trabalho sobre a estrutura de fibras de importância industrial que, posteriormente, seria aceito como um trabalho definitivo sobre a estrutura de pêlos. Além da descrição detalhada destas fibras, ele produziu uma chave, ou sistema de identificação, para pêlos desconhecidos. Em 1960, este trabalho recebeu a contribuição de Appleyard, com seu Guia de Identificação de Fibras Animais (BRUNER e COMAN, 1974).

Mayer (1952) publicou uma chave de identificação descritiva para pêlos de mamíferos da Califórnia, baseando-se em valores de comprimentos e perfil geral dos pêlos dorsais de cerca de 390 espécies e subespécies, e Benedict (1957) publicou um estudo detalhado com pêlos de morcegos. Esse estudo descreveu a estrutura dos pêlos de 16 famílias, além de apresentar uma chave de identificação de pêlos dorsais desses animais.

Day (1966), foi o primeiro a utilizar a análise de pêlos como uma importante ferramenta no estudo de ecologia alimentar de carnívoros, baseando-se no padrão de escamas, padrão de medula e corte transversal.

Brunner e Coman (1974) publicaram um dos mais completos e significativos estudos das características estruturais de pêlos-guarda dos mamíferos australianos,

apresentando pranchas específicas para os padrões de medula, escama e corte transversal.

Diante da comprovação do valor taxonômico da análise dos pêlos, várias chaves e guias de identificação foram elaboradas tanto para um táxon em particular (BENEDICT, 1947; HILTON E KUTSCHA, 1978) como para mamíferos de uma localidade em particular (MAYER, 1952; BUSCH, 1986; CAPURRO E NOVARRO, 1988; WALLIS, 1993; FERNANDEZ E ROSSI, 1998). Tais chaves atentaram para as seguintes características estruturais dos pêlos-guarda:

- Forma da medula: a medula é observada por transparência ao microscópio óptico (MAYER, 1952; DAY, 1966; BRUNNER E COMAN, 1974).
- Padrão de escamas: impressão em plástico observada ao microscópio óptico (HAUSMAN, 1944; BENEDICT, 1947; Mayer, 1952).
- Corte transversal: feito à mão ou ao micrótomo (DAY, 1966; BRUNNER E COMAN, 1974; HILTON E KUTSCHA, 1978).

Aspectos muito importantes contribuíram para identificação de padrões específicos como para Benedict (1947) que utilizou a forma das escamas como caráter diagnóstico importante em Chiroptera e, juntamente com a ausência de medula, pôde diferenciar famílias de morcegos da Califórnia. Para Southgate *et al.* (1996), que através de pêlos encontrados em fezes de dingos (*Canis familiaris dingo*) pôde identificar um item alimentar tido como extinto no continente australiano o “Golden Bandicoot” (*Isodon auratus*); e para Vásquez *et al.* (2000), que através de análises qualitativas e quantitativas da largura do pêlo e escamas puderam incrementar a eficiência da identificação das características morfológicas dos pêlos de animais do noroeste argentino.

Estes estudos, bem como muitos outros, trouxeram grandes contribuições para o conhecimento sobre a estrutura dos pêlos de mamíferos e demonstraram a importância destes como um caráter diagnóstico. Porém, alguns problemas a respeito da identificação de mamíferos através dos pêlos, levantaram grandes discussões a respeito do valor taxonômico dos mesmos. Dentre os problemas levantados, temos:

- A considerável variabilidade dos tipos de pêlos encontrados mesmo em um único indivíduo;
- A variação na estrutura de um único pêlo ao longo de seu comprimento;
- O apreciável grau de sobreposição interespecífica de características particulares, limitando a utilidade de algumas estruturas como auxílio diagnóstico (BRUNER e COMAN, 1974).

No que se refere à comparação de pêlos provenientes de diferentes partes do corpo de uma mesma espécie, MATHIAK (1938), MAYER (1952) e DAY (1966) mostraram que os pêlos de diferentes partes do corpo dos mamíferos podem ser comparados entre si, sem prejuízos na identificação, excetuando-se os pêlos das extremidades como as orelhas, cabeça, pescoço, cauda e patas. No entanto podem haver exceções como no caso de *Marmosops incanus*, que segundo OLIVEIRA, LORINI & PERSSON (1992) apresentam dimorfismo sexual na estrutura da pelagem da região escapular.

Apesar de todas as discussões, muitos estudos demonstraram a importância taxonômica e confiabilidade da utilização de pêlos, permitindo a identificação de mamíferos em níveis de família, gênero e espécie, levando, inclusive, à construção de chaves para identificação taxonômica (HAUSMAN, 1930; MEYER, 1952; BRUNER e COMAN, 1974; MOORE *et al.*, 1974; BUSCH, 1986; WALLIS, 1993; FERNÁNDEZ e ROSSI, 1998; VÁZQUEZ *et al.*, 2000; AMMAN *et al.*, 2002).

1.2 – Estrutura dos pêlos

A presença de pêlos distingue os mamíferos das demais classes de vertebrados. Devido a sua coloração e arranjo, eles apresentam uma série de funções, incluindo camuflagem e comunicação. Entretanto, sua função principal e primária seria a de isolamento térmico, o que permitiu aos mamíferos atingirem regiões com climas mais frios, apresentando, desta forma, a sua distribuição geográfica atual (POUGH *et al.*, 2003).

Os pêlos são estruturas queratinizadas altamente modificadas, que crescem descontinuamente, intercalando fases de repouso e crescimento, e se originam de uma invaginação da epiderme que, na fase de crescimento do pêlo se apresenta como uma dilatação terminal, o bulbo piloso. No centro do bulbo encontra-se a papila dérmica, onde ocorrem as divisões celulares que irão formar as camadas que envolvem a raiz e os elementos estruturais constituintes dos pêlos (cutícula, córtex e medula). A rápida multiplicação das células da papila empurra esses elementos estruturais para a abertura do folículo, em direção à superfície da pele. A medida que isto acontece, as camadas do pêlo sofrem queratinização para formar a haste do mesmo (NASON, 1948; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Dessa forma, a estrutura do pêlo depende inteiramente dos folículos e, uma vez que tenha sido empurrado para a superfície da pele, não será mais composto por células vivas e sua morfologia não irá mais modificar-se (BRUNNER e COMAN, 1974).

A queratinização dos pêlos lhes confere grande resistência, possibilitando assim a comparação de pêlos com diferentes origens (espécimes taxidermizados, amostras fecais, conteúdos gastrointestinais, etc...) entre si, independentemente dos processos químicos (taxidermia e digestão) e mecânicos (mastigação e intemperismo) aos quais tenham sido submetidos (KELLER, 1978; QUADROS E MONTEIRO-FILHO 1998; TEERINK, 1991).

Segundo Teerink (1991), existem diferentes tipos de pêlos (com diferentes funções e formas) que são formados por três camadas concêntricas de células queratinizadas. A camada mais externa é a cutícula, formada por escamas cuticulares resultantes do processo de produção e deposição de alfa-queratina dura nas células. A camada intermediária é o córtex, também formado pela deposição de alfa-queratina dura e suas células podem apresentar grânulos de melanina. A camada mais interna é a medula, formada pela deposição de alfa-queratina mole nas células. Estas estruturas apresentam arranjos e formas distintas dentre os diferentes mamíferos, sendo, por isso, utilizadas como um caráter taxonômico na identificação dos mesmos (MEYER, 2001).

Muitas análises são feitas com pêlos do corpo do animal, pela razão de constituírem a maior percentagem do total de número de pêlos. Pêlos da cabeça, pernas e cauda, podem ter estrutura igual ou totalmente diferente dos pêlos do resto do corpo. Pêlos da cabeça são considerados, às vezes, achatados e de grande diâmetro em relação ao resto dos pêlos do corpo (MATHIAK, 1938).

Os mamíferos apresentam diferentes tipos de pêlos, alguns apresentam uma gama de tipos maior que outros. Além disso, a abundância e os tipos podem mudar com o tempo, estando estas mudanças associadas a alguns fatores como a idade, mudas sazonais, nutrição, etc. Os principais tipos de pêlos encontrados em mamíferos são (BRUNNER e COMAN, 1974):

- Vibrissas

As vibrissas são pelos sensoriais, grandes e duros, mais largos na sua metade proximal, afinando em direção à ponta. Bigodes e outros tipos de pêlo localizados próximos a regiões sensitivas dos mamíferos em geral são considerados como vibrissas. Estes pêlos não são de grande valor na identificação de mamíferos, visto que sua estrutura básica é muito similar em todos os mamíferos (BRUNNER e COMAN, 1974).

- Cerdas

Pêlos robustos e rígidos de diâmetro uniforme ao longo de seu comprimento. Geralmente apresentam medula muito fina, ou não apresentam medula. Em alguns mamíferos, como raças de porcos domésticos, a pelagem inteira é composta por este tipo de pêlo (BRUNNER e COMAN, 1974).

- Sobrepêlos (Overhairs)

São pêlos esparsamente distribuídos e distintamente mais logo que os demais na pelagem. Como regra, estes pêlos são mais densamente pigmentados que os demais imediatamente a sua volta. Eles apresentam um pequeno valor diagnóstico (BRUNNER e COMAN, 1974).

- Pêlos-guarda (Guard hairs)

São os mais largos ou grossos dos demais pêlos que formam a pelagem principal, incluindo aqueles denominados de pêlo "Shield", nos quais a porção distal é notavelmente mais larga e achatada. Pêlos-guarda sem "Shield" apresentam um diâmetro uniforme ao longo da maior parte de seu comprimento, afinando apenas em direção a ponta. Estes pêlos geralmente apresentam as características mais diagnósticas, sendo, portanto, de grande importância na identificação de mamíferos (BRUNNER e COMAN, 1974).

- Subpêlos (Underhairs)

Estes pêlos são mais finos e curtos que os pêlos-guarda, sendo comumente ondulados, apresentando praticamente o mesmo diâmetro ao longo de seu comprimento. Em geral, são de pequeno valor diagnóstico (BRUNNER e COMAN, 1974).

Oficialmente, o estudo da morfologia dos pêlos foi iniciado por Hausman (1920) que analisou 5 elementos estruturais de um pêlo típico (Figura 1), que em geral apresenta três camadas bem definidas: medula, córtex e cutícula (Figura 2) (MAYER, 1952; BRUNNER e COMAN, 1974; CHERNOVA, 2002):

- Medula

A medula é a camada mais interna do pêlo, sendo composta por células de formato irregular, fracamente queratinizadas, com uma distribuição frouxa e aleatória, apresentando-se encolhidas devido à presença do ar que preenche os espaços intercelulares. Estas células podem ou não conter pigmentos (BENEDICT, 1957; MOORE *et al.*, 1974; BRUNNER e COMAN, 1974; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

A medula pode não estar presente ao longo de todo o pêlo, sendo esporadicamente interrompida, ou até mesmo estar ausente em alguns tipos de pêlos mais finos (MOORE *et al.*, 1974).

O significado funcional desta estrutura é comumente relacionado ao isolamento térmico da pelagem, ao invés de proteção mecânica. Esta relação da medula com o isolamento térmico é confirmada pela variação sazonal do desenvolvimento da mesma. A presença de cavidades com ar nesta camada aumenta sua propriedade isolante (CHERNOVA, 2003).

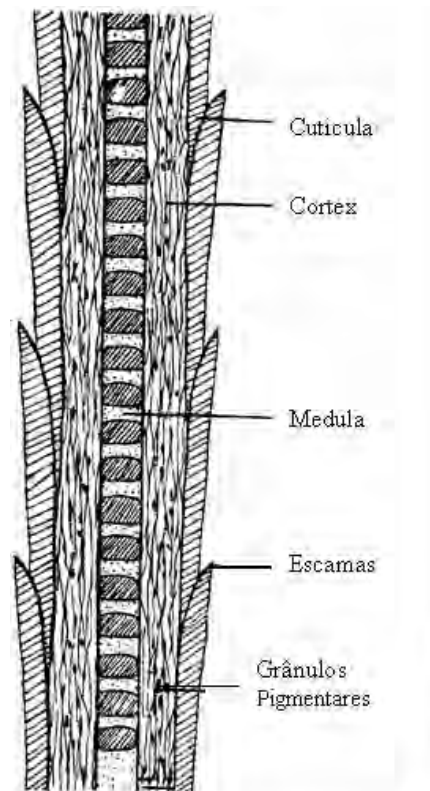


Figura 1 – Modelo esquemático das estruturas morfológicas de um pêlo-guarda típico. (modificado de MOORE *et al.*, 1974).

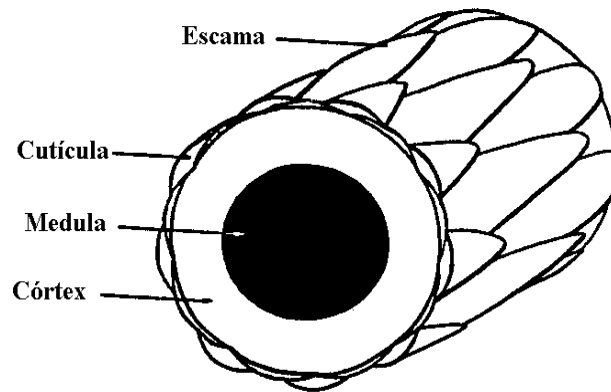


Figura 2 – Esquema de um pêlo mostrando suas três camadas (modificado de: BRUNNER e COMAN, 1974).

- Córtex

O córtex corresponde à camada que envolve a medula, sendo composto por células fusiformes mais queratinizadas e compactamente dispostas. A camada cortical pode ou não apresentar pigmentos, mostrando-se transparente quando estes não estão presentes. Entre as células do córtex podemos encontrar espaços com formato de fuso entre, o fuso do Córtex. Este se forma durante o processo de queratinização dos pêlos, quando espaços intercelulares preenchidos com líquidos são substituídos por ar. Estes espaços são maiores e mais abundantes na base do pêlo, desaparecendo ou tornando-se mais finos em direção a extremidade do pêlo. Quanto mais grosso o pêlo, mais espaços ele contém. A função dos espaços ainda não é muito conhecida, mas acredita-se que possam estar envolvidos em transporte de gases ou substâncias, além de conferir certa flexibilidade a camada cortical, onde as células podem se deslocar devido a presença dos mesmos (HAUSMAN, 1930; CHERNOVA, 2003).

Os pigmentos podem estar presentes no córtex ou medula, ou em ambos. A pigmentação dessas camadas se deve a presença de melanina. Dois tipos de melanina ocorrem nos pêlos de mamíferos, a eumelanina e a pheomelanina. A primeira resulta em pêlos escuros, marrons ou pretos, enquanto a segunda confere uma coloração amarela ou avermelhada (BRUNER e COMAN, 1974). A coloração branca ocorre na ausência completa das melaninas. Os pêlos prateados e/ou

grisalhos são produzidos pela substituição gradual dos grânulos de melanina por bolhas de ar no interior da medula do pêlo (HERSHKOVITZ, 1977). Esses grânulos de pigmentos são produzidos *in situ* pelas células do bulbo capilar, sofrendo poucas modificações a partir de então. Desta forma, a pigmentação dos pêlos é resultado de fatores atuando na formação dos elementos epiteliais dos mesmos, exceto pela descoloração devido ao desgaste (NASON, 1948).

A distribuição, a cor e o tipo de pigmento correspondem a características diagnósticas interessantes. A distribuição dos pigmentos ao longo do pêlo varia, podendo conferir um padrão de bandas aos pêlos de alguns mamíferos. A maioria dos pêlos com bandas apresenta a ponta escura seguida por uma sucessão de bandas claras e escuras. Quando o padrão de banda não está presente, a maior concentração de pigmentos geralmente ocorre nas regiões distais, enquanto que as porções basais são mais claras (MAYER, 1952).

Quanto aos tipos de pigmento, estes são essencialmente granulares, mas, por conveniência, eles podem ser classificados em difusos, granulares ou agregados (MAYER, 1952).

A utilização da pigmentação para diagnóstico, no entanto, apresenta algumas limitações, visto que a interpretação das cores é, de certo modo, subjetiva. Além disso, as cores variam muito de acordo com a intensidade da luz utilizada para a observação. Existem notáveis variações na cor entre pêlos de diferentes partes do corpo. Outros fatores limitantes ao uso de pigmentação para identificação é o fato de que a distribuição dos pigmentos pode mudar consideravelmente ao longo do pêlo e descolorações podem ocorrer (MAYER, 1952; BRUNER e COMAN, 1974).

O córtex exibe poucas características diagnósticas, exceto quando submetido a tratamento com soda cáustica ou ácidos, tendo um pequeno valor como critério para determinação de espécie, e em muitos casos acredita-se que padrões formados pelo arranjo dos grânulos de pigmento ou sua forma podem oferecer uma característica para identificação (BRUNNER E COMAN, 1974).

Acredita-se que a principal função da camada cortical esteja relacionada à

força e firmeza do pêlo. Porém, acredita-se que esta esteja envolvida também na absorção de odores, como feromônios (CHERNOVA, 2003).

- Cutícula

A cutícula corresponde à camada mais externa do pêlo, sendo composta por escamas queratinizadas finas e transparentes (HAUSMAN, 1930; NASON, 1948; BENEDICT, 1957; BRUNNER e COMAN, 1974; MEYER, 2002), funcionando como uma capa, que envolve o córtex e separa o filamento do pêlo da parede do folículo. As extremidades distais das escamas estão voltadas em direção a extremidade dos pêlos, estando em contato com as escamas do envoltório interno destes dentro dos folículos, as quais apontam para a direção oposta, mantendo, assim, o pêlo firme. À medida que o pêlo cresce para fora da superfície do corpo, é continuamente separado da parede do folículo. Essa separação ocorre entre a superfície da cutícula do pêlo e a cutícula da parede do folículo, sendo esta uma das possíveis funções da cutícula (NASON, 1948).

Em 1941, Rudall sugeriu que uma outra função da cutícula seria a de envolver o córtex, impedindo que este se rompa (ou rache), aumentando a durabilidade do pêlo. Segundo ele, em algum momento do processo evolutivo, a cutícula também pode ter servido pra prevenir a transferência de água e algumas substâncias solúveis do corpo para fora deste (NASON, 1948).

A largura e o comprimento dos pêlos, bem como a presença e posição de constrições são consideradas características muito úteis na identificação de pêlos, além disso, são relativamente fáceis de obter (MAYER, 1952).

A estrutura da medula varia consideravelmente dependendo da espécie. Os tipos de medula, os tipos e distribuição de seus pigmentos, sua variação em diâmetro ao longo da haste do pêlo, bem como a razão entre seu diâmetro e a largura total do pêlo consistem em importantes características de identificação de mamíferos, até mesmo em nível de espécie (MAYER, 1952; BRUNNER e COMAN, 1974; CHERNOVA, 2003).

Outras pesquisas, ainda, têm demonstrado que a estrutura da medula também depende da espessura do pêlo. Desta forma, pêlos mais finos, menores que 10 μm , não apresentam medula; pêlos mais espessos, de 10 a 25 μm , apresentam medula descontínua (interrupted); pelos com espessura entre 25 a 75 μm apresentam medula intermediária (intruding); aqueles com espessura entre 75 e 95 μm apresentam medula contínua e os mais espessos que 95 μm apresentam medula fragmentada (fragmental) (Figura 7) (CHERNOVA, 2003).

Além do caráter taxonômico, a estrutura das escamas cuticulares pode ainda estar relacionada ao hábito do animal, apresentando certo valor em interpretações biológicas relacionando estruturas e função dos pêlos. Em muitas espécies de morcegos foram verificadas adaptações específicas do arranjo e forma das escamas que auxiliam na coleta de pólen, em morcegos nectarívoros (HOWELL E HODGKIN, 1976) e na conservação de odores específicos do animal, como é o caso dos pêlos de regiões glandulares denominados osmetrichia (HICKEY E FENTON, 1987 *apud* CHERNOVA, 2001). Meyer, em 1995, sugeriu que a forma das escamas também pode estar envolvida na sustentação de vôos planados e as irregularidades das escamas de morcegos comedores de insetos podem ser uma adaptação ao vôo, aumentando a turbulência do fluxo de ar (MEYER *et al.* 2001).

As escamas e a medula são as primeiras estruturas analisadas por um microscopista, pois são elementos mais facilmente visualizados (HAUSMAN, 1930). Além da forma e distribuição (disposição) das escamas, outros padrões também são bastante utilizados, como: área das escamas, número de escamas por área (mm^2), índice de escama, comprimento e largura máxima destas nas porções medianas, juntamente com o comprimento máximo dos pêlos. Os três últimos são considerados os mais úteis segundo alguns autores (BENEDICT, 1957), enquanto outros consideram o número de escamas, comprimento e largura das mesmas de pequeno valor diagnóstico, visto que há considerável sobreposição entre medidas de várias espécies (ZUBAIN e FATIMAH, 1990).

O índice de escama (scale index) é bastante utilizado. Ele corresponde a razão entre o comprimento da escama e o maior diâmetro (ou largura) na porção

mediana do pêlo (MAYER, 1952; BRUNNER E COMAN, 1974; CHERNOVA, 2001), sendo considerado ideal que este comprimento correspondesse a média dos comprimentos das escamas na região do diâmetro utilizado (MAYER, 1952). Enquanto esta medida é considerada de valor duvidoso como auxílio diagnóstico por alguns autores (BENEDICT, 1957; BRUNNER e COMAN, 1974), outros consideram este índice uma das características mais objetivas no estudo de escamas (MAYER, 1952). Os primeiros colocam que, ao longo de curtas distâncias em um pêlo individual, o tamanho das escamas pode variar consideravelmente, resultando em alterações deste índice. Além disso, esse valor não transmite informações a respeito da forma das escamas, sendo assim, uma escama curta e larga em um pêlo fino pode ter o mesmo índice de uma escama longa e estreita num pêlo largo (BRUNNER e COMAN, 1974).

Assim como a pelagem tem valor à sistemática de mamíferos, as partes que compõem um pêlo também possuem características de importância taxonômica. Essas características auxiliam na identificação de diferentes amostras de pêlos, outra característica utilizada em chaves de identificação, além dos quatro elementos estruturais do pêlo, é a forma geral e tamanha do pêlo, que são características facilmente observáveis, e além do comprimento e diâmetro do pêlo é considerada também a presença de constrictões (MAYER, 1952).

A característica básica do pêlo é determinada primariamente por fatores hereditários, a condição fisiológica de um animal causada por mudança sazonal, doença, idade ou alimentação, provavelmente são os fatores mais importantes na influência hereditária para característica dos pêlos (WILLIAMS, 1938). Segundo Nason (1948), os fatores ambientais são capazes de influenciar essas estruturas, mas não ao ponto de alterar suas características básicas. Em seu trabalho nenhuma correlação foi encontrada entre a estrutura dos pêlos de morcegos e seu habitat (caverna e árvores).

Quando comparados mamíferos diferentes, de acordo com o aumento do tamanho corpóreo ou volume corporal, a razão entre a largura da escama e seu comprimento aumentou. Pequena relação foi encontrada entre esta razão e a área

das escamas cuticulares em ordens de animais pequenos e com densa pelagem. Em animais de pequeno a médio porte, foi encontrada relevante relação entre a densidade dos pêlos (pêlos por cm^2) e a área da escama e entre a razão largura e comprimento da escama e densidade dos pêlos. Quanto menor a área da cutícula e a razão entre a largura da escama e seu comprimento, maior a densidade da pelagem (MEYER, 2002).

A razão entre a largura e o comprimento da escama, que é muito relacionada com o diâmetro do pêlo, pode refletir uma função efetiva das mesmas na sustentação de pêlos finos. Essas escamas formam um tubo segmentado que pode sustentar o córtex, um tanto quanto fino, quando os pêlos-guardas estão eretos durante períodos frios. Esta idéia é corroborada pelos estudos de Dobb, em 1961, e Jones, em 1994, mostrando que as células cuticulares apresentam um centro extremamente queratinizado, sendo estas muito resistentes a deformações mecânicas. Em animais maiores, nos quais o córtex é mais grosso, esse aspecto é menos importante (MEYER, 2002).

Segundo Meyer (2002), a grande relação de parâmetros escama-dependentes com a densidade da pelagem em Insectivora, Chiroptera e pequenos roedores (Rodentia) pode, indiretamente, indicar a evolução de uma pelagem leve e homogênea com qualidades de alto isolamento. Esta idéia é corroborada pela visão de que para uma termorregulação efetiva, a uniformidade da espessura da pelagem parece ser mais importante que a espessura máxima da pelagem em certas regiões do corpo. Este é o caso para animais de pequeno volume corpóreo, visto que a homogeneidade dos tipos de pêlo (da pelagem), obviamente significa um melhor isolamento, o qual é necessário devido a superfície corpórea relativamente grande destes animais.

1.3 – Padrões medulares e cuticulares

Para a análise de padrões medulares, é comum dividir o pêlo em 4 regiões (figura 3), base, meio, *shield* e ponta, cuja base se localiza acima da raiz do pêlo, e abaixo do meio, que por sua vez se localiza logo antes da região *shield*, esta é

região de maior diâmetro do pêlo. Em alguns pêlos o diâmetro não muda ao longo de seu comprimento, portanto é dividido em 3 partes apenas: base, meio e ponta. Já para a análise do padrão de escamas, o pêlo é usualmente dividido em 5 regiões: base, meio, *shield* e ponta, nesse tipo de divisão só é adicionada a região transicional, que fica entre o meio e a região *shield* (MOORE *et al.*, 1997).

Pêlo-guarda com Região “Shield”



Pêlo-guarda



Figura 3 – Divisão dos pêlos (modificado de MOORE *et al*, 1974).

No esquema de classificação de escamas, segundo Brunner e Coman (1974), existem dois grandes grupos, coronal e imbricada. No padrão coronal, a escama envolve completamente o diâmetro do pêlo, enquanto que no padrão imbricate, as escamas se estendem apenas em uma parte da circunferência do pêlo. A maioria dos pêlos usados tem o padrão imbricate (Figura 4), que é subdividido em 4 tipos, e estes por sua vez são também subdivididos, num total de 11 tipos dentro desse padrão (Figura 5).

Para os tipos de borda (Figura 5) foram utilizadas nomenclaturas traduzidas da classificação de Brunner e Coman (1974), sendo que o item A (smooth) da figura recebeu o nome de “lisa”, o item B (crenate) de “crenada”, o item C (rippled) de “serrilhada”, o item D (scalloped) de “arredondada” e o item E (dentate) de “dentada”.

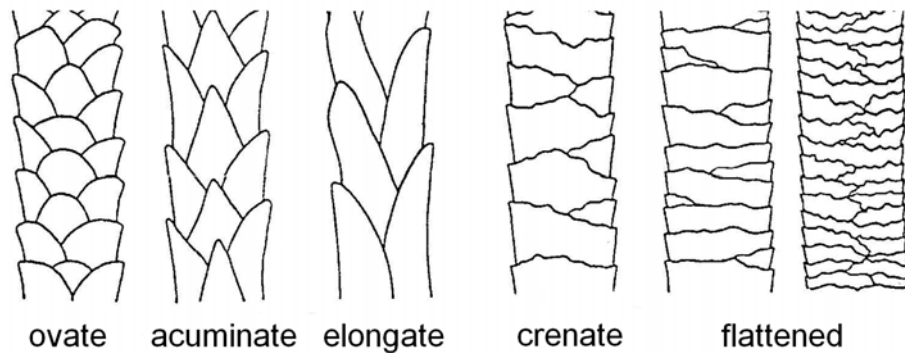
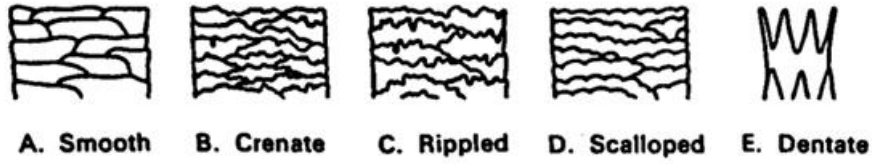


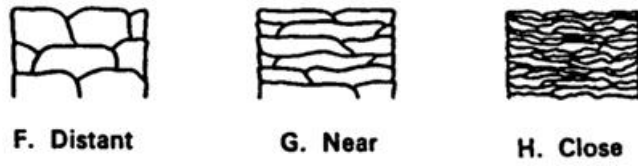
Figura 4 – Tipos de escamas imbricadas (Fonte: BENEDICT, 1957).

Moore *et al.* (1974) propuseram outro conjunto de padrões de escama (Figura 6), que ocasionalmente são utilizados. Essa classificação, desenvolvida nos Estados Unidos (Wyoming) contribui com alguns padrões diferentes. A adoção desses padrões é interessante pelo fato de que os mamíferos norte americanos e sul americanos (especialmente no caso dos roedores) são mais próximos entre si, em termos evolutivos, do que com os mamíferos australianos, para os quais a classificação de Brunner e Coman (1974) foi desenvolvida.

Formato da borda das escamas



Distância entre as Margens



Padrões de Escama

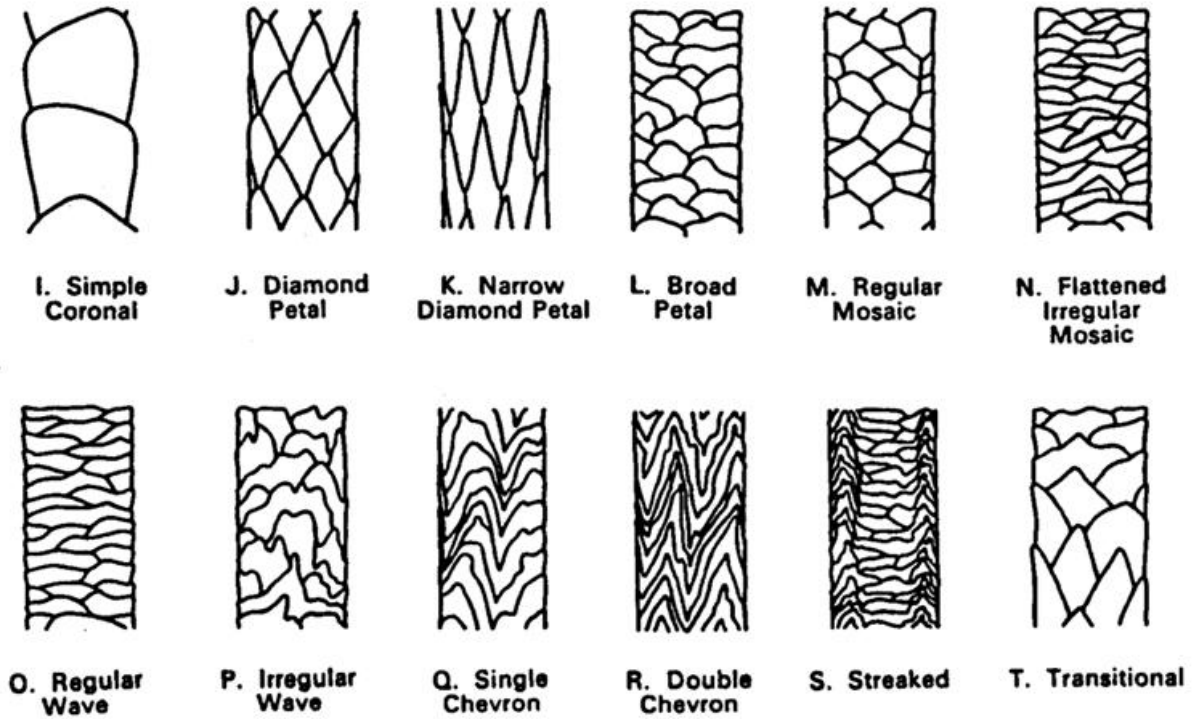


Figura 5 – Representações e classificações dos Padrões de Escama (modificado de BRUNNER & COMAN, 1974)

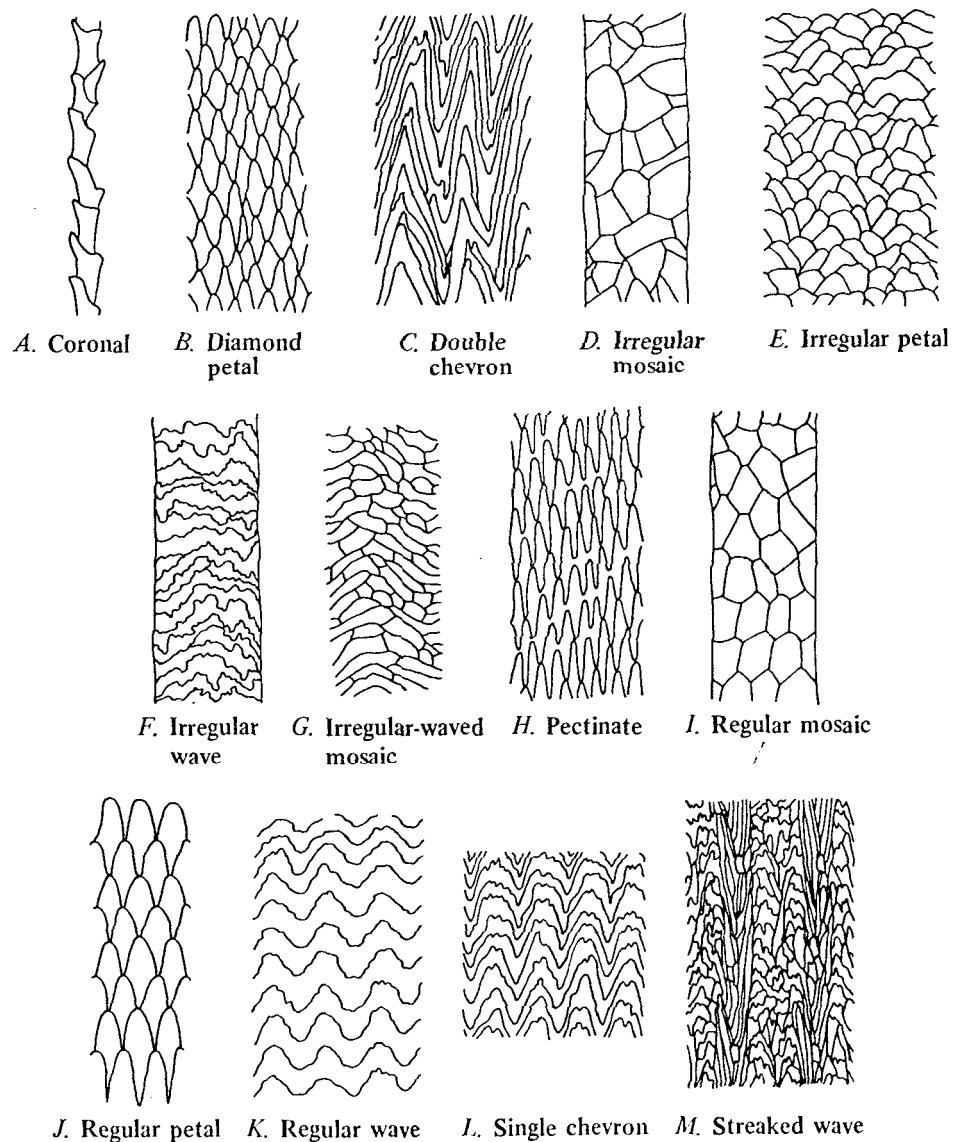


Figura 6 – Padrões de Escama segundo Moore et al. (1974) e suas respectivas denominações

Segundo Brunner e Coman (1974), a medula é classificada em 4 grupos estruturais: *unbroken* (medula contínua com diâmetro regular ou irregular), *broken* (medula é interrompida por seções de córtex), *ladder* (medula que tem uma ou mais séries de espaços de ar) e *miscellaneous* (quando apresenta características de mais de um dos grupos acima, é geralmente incomum). Cada um desses grupos pode ser subdividido, num total de 12 tipos diferentes de medula (Figura 7).

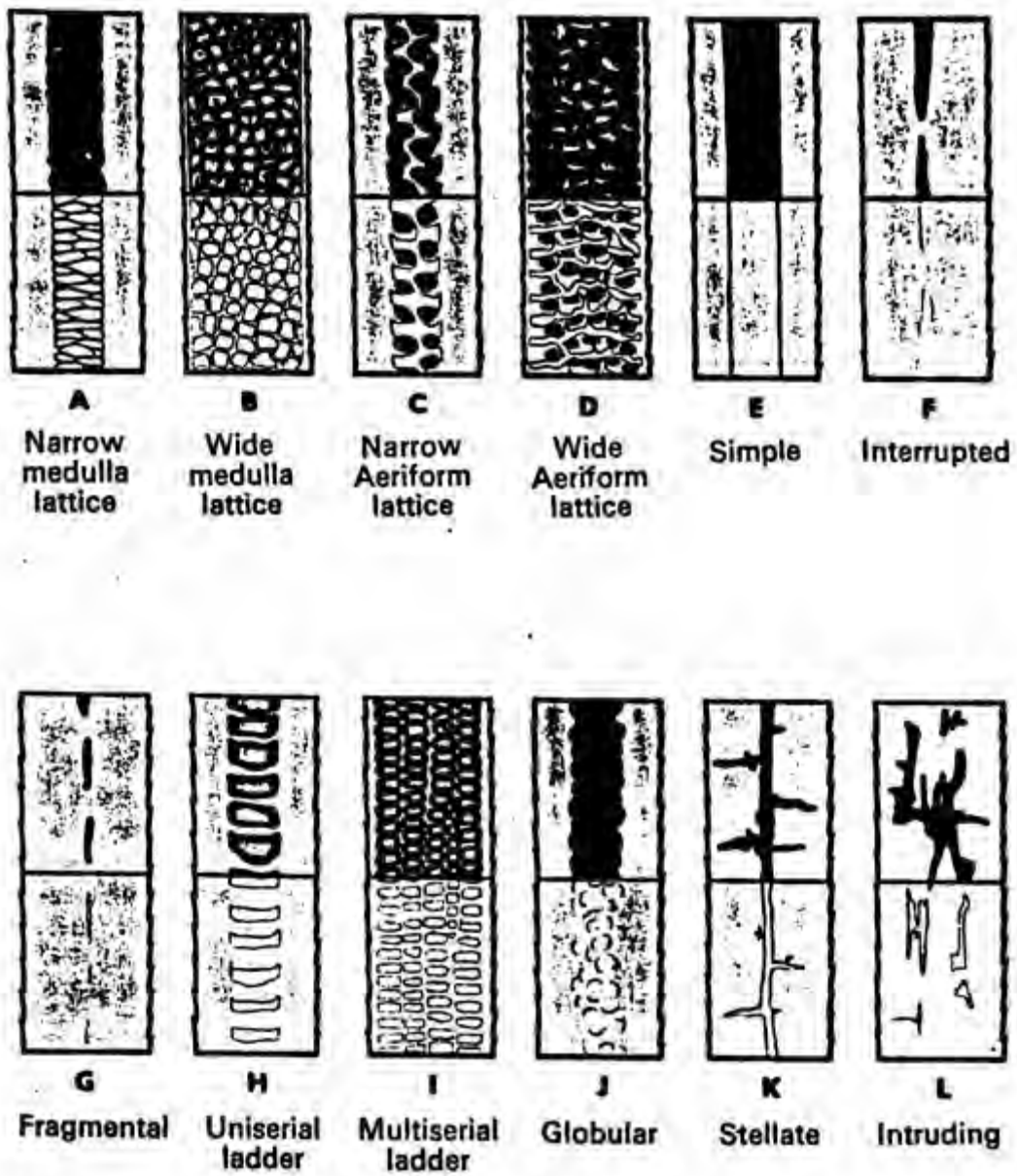


Figura 7 – Representações e classificações dos Padrões de Medula (modificado de BRUNNER & COMAN, 1974)

2 – OBJETIVOS

Os objetivos do presente projeto foram a revisão e o desenvolvimento de técnicas de preparação de lâminas de pêlos para coleções e observações diretas; o desenvolvimento de uma chave de identificação de alguns roedores de mata atlântica baseada em pêlos; e a análise morfométrica dos pêlos de algumas espécies de roedores para a comparação com dados biométricos.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Os pêlos dos espécimes utilizados no trabalho, foram obtidos à partir da coleção de mamíferos do MZUSP. O material coletado, foi retirado da região cervical dos animais com auxílio de pinça de ponta fina (relojoeiro), e acondicionado em envelopes de papel, e identificados com (quando possível): nome científico, local de coleta, data, sexo, idade (adulto/jovem) e código da coleção MZUSP.

Para a avaliação de técnicas, foram utilizados pêlos de indivíduos dos gêneros *Akodon*, *Olygorizomys*, *Oryzomys* e *Sciurus*, que não possuíam identificação até espécie na coleção do MZUSP.

As lâminas preparadas foram observadas em um microscópio Zeiss Primo Star e fotografadas com uma câmera digital Canon Powershot A640.

3.1 – Técnicas de preparação de lâminas para a observação da medula de pêlos

Foram testadas diversas técnicas convencionalmente utilizadas para a preparação de lâminas de pêlos descritas na literatura, a seguir :

1 – Observação direta : pêlos aplicados diretamente em uma lâmina de vidro com uma gota de glicerina e recobertos com lamínula ;

2 – Técnica de Mayer (1952) : uso de Tetracloreto de Carbono para a limpeza dos pêlos – deixados para secar e montados em entellan (o autor originalmente utilizou bálsamo do Canadá) ;

3 – Técnica de Fernandez e Rossi (1998): Como a técnica descrita pelo autor era muito vaga, mas também bastante semelhante à de Chehébar e Martin (1989) e um antigo protocolo desenvolvido pelo nosso laboratório (MORLIM-JÚNIOR *et al.*, 2001), optamos por usar a nossa variação, que consiste em submergir os pêlos em uma solução de álcool 70% por três minutos e monta-los em lâminas de vidro. Quando a medula não pode ser identificada os pêlos foram submersos em uma solução de água oxigenada 40v por 40 minutos e depois lavados com água destilada e montados em glicerina para observação;

4 – Técnica de Quadros (2002): Os pêlos foram submetidos a dois métodos de limpeza: lavagem em uma solução de éter sulfúrico e álcool etílico (1:1) (SHORT 1978) e lavagem em álcool etílico comercial puro (adaptado de CHARVET & KELLER 1989). Para a diafanização, os pêlos foram embebidos em água oxigenada comercial 30 volumes, solução de hidróxido de potássio em água a 2% ou solução de hipoclorito de sódio em água a 90% para diafanização. Posteriormente o material foi montado em uma lâmina de vidro com Entellan. A autora utilizou diversos tempos de tratamento e um corte transversal na região shield de alguns pêlos que não foram repetidos em nosso experimento.

5 – Técnica de Brunner e Coman (1974): Os pêlos foram mantidos em Xilol por 24h e posteriormente foram montados em uma lâmina de vidro com glicerina.

Apenas mais outro protocolo foi testado, mas devido a um desacordo com o Dr. Andrei Trofimov (Kazan State University) para a divulgação da mesma, não foi

possível descrevê-la. No entanto cabe ressaltar que infelizmente essa técnica foi ineficiente para a observação adequada dos padrões de medula.

Com base nos dados obtidos nestes experimentos, e informações da literatura, foi desenvolvido um protocolo próprio.

3.2 – Técnicas de preparação de lâminas para a observação do padrão de escama de pêlos

Foram testadas várias das técnicas convencionalmente adotadas para a preparação de lâminas de pêlos descritas na literatura, a seguir :

1 – Montagem com esmalte/cola branca: Foi realizado um "esfregaço" de esmalte/cola branca em uma lâmina de vidro, onde os pêlos foram depositados, tomando-se o cuidado para que alternadamente estivessem com a ponta ou a base ligeiramente para fora da lâmina a fim de facilitar a sua retirada quando o meio utilizado estivesse seco ;

2 – Técnica de Fernandez e Rossi (1998): Foi realizado um "esfregaço" de fluido corretor (p.ex. : liquid paper) em uma lâmina de vidro, onde os pêlos foram depositados, tomando-se o cuidado para que alternadamente estivessem com a ponta ou a base ligeiramente para fora da lâmina a fim de facilitar a sua retirada quando o meio utilizado estivesse seco ;

3 – Técnica de Mayer (1952) e Hardy e Plitt (1940): Consiste em prensar alguns pêlos com um plástico termicamente sensível a uma temperatura de 90 graus por 20 minutos.

4 – Técnica de Brunner e Coman (1974): Foi realizado um "esfregaço" de cola de pvc em uma lâmina de vidro, onde os pêlos foram depositados, tomando-se o cuidado para que alternadamente estivessem com a ponta ou a base ligeiramente para fora da lâmina a fim de facilitar a sua retirada quando o meio utilizado estivesse seco .

Outras técnicas como a de Carter e Dilworth (1971), que consistia na utilização de um spray de verniz em vez de cola/esmalte, a de Day (1966) que utilizava gelatina e a de Weingart (1973) que era bastante similar às de Mayer (1952) e Hardy e Plitt (1940), também foram testadas, no entanto essas técnicas além de trabalhosas, obtiveram resultados preliminares muito abaixo do desejável, motivo pelo qual não foram incluídas neste estudo. Quadros (2002), também obteve pouco sucesso realizando uma revisão extensa e detalhada sobre essas técnicas.

Com base na experiência obtida na realização dessas técnicas, foram desenvolvidas certas modificações para gerar um protocolo próprio.

3.3 – Desenvolvimento de técnicas de tratamento de pêlos e preparação de lâminas para a observação dos padrões de escama e medula

À partir dos experimentos citados e, juntamente com a assessoria do Dr. Andrei Trofimov (Kazan State University – Federação Russa) e da Dra. Barbra Triggs (Consultora Independente – Austrália), foram desenvolvidos novos protocolos para o tratamento de pêlos e preparação de lâminas para a observação dos padrões de escama e medula das espécies de roedores de Mata Atlântica discriminados neste trabalho.

3.4 – Caracterização morfológica dos padrões de escama e medula dos pêlos de roedores de Mata Atlântica

As espécies que seriam utilizadas originalmente estão discriminadas na Tabela 1. A nomenclatura não foi atualizada para manter a fidelidade à literatura.

Tabela 1 – Lista dos Roedores de Mata Atlântica do Estado de São Paulo, atualizada a partir de publicações e livros (modificado da listagem não publicada do Prof. Dr. Mário de Vivo).

Ordem Rodentia

Subordem Sciurognathi

Família Sciuridae

Sciurus alphonsei

Sciurus ingrami *

Família Cricetidae

Subfamília Sigmodontinae

Tribo Thomasomyini

Delomys colinus *

Delomys dorsalis *

Delomys sublineatus *

Rhipidomys mastacalis

Wilfedomys oenax

Wilfedomys pictipes *

Abrawayaomys ruschi *

Oecomys trinitatis

Olygoryzomys delticola ?

Olygoryzomys eliurus

Olygoryzomys nigripes

Oryzomys capito

Oryzomys intermedius

Oryzomys kelloggi *

Oryzomys lamia

Oryzomys ratticeps *

Oryzomys subflavus

Phaenomys ferrugineus

Pseudoryzomys simplex

Rhagomys rufescens

Nectomys squamipes

Tribo Phyllotini

*Calomys callosus**Calomys laucha**Calomys tener*

Tribo Akodontini

*Akodon cursor**Akodon mystax**Akodon sanctipaulensis* **Akodon serrensis* **Blarinomys breviceps* **Bolomys lasiurus**Brucepattersonius albinasus* **Brucepattersonius griserufescens***Brucepattersonius iheringi* **Brucepattersonius soricinus* **Oxymycterus angularis**Oxymycterus caparaoe* **Oxymycterus hispidus**Oxymycterus nasutus**Oxymycterus roberti**Oxymycterus rufus**Thaptomys nigritus*

Tribo Sigmodontini

Holochilus brasiliensis +*Holochilus sciureus* +?*Lundomys molitor* +?

Tribo Scapteromyini

Bibimys labiosus ?*Kunsia fronto* +

Tribo Wiedomyini

Wiedomys pyrrhorhinus

Subordem Hystricognathi

Família Erethizontidae

*Coendou prehensilis**Chaetomys subspinosus* **Sphiggurus insidiosus**Sphiggurus spinosus* ?

Família Caviidae

Cavia aperea

Cavia fulgida *

Cavia magna

Galea spixii

Família Hydrochaeridae

Hydrochaeris hydrochaeris

Família Agoutidae

Agouti paca

Família Dasyproctidae

Dasyprocta azarae

Dasyprocta leporina

Dasyprocta prymnolopha

Família Ctenomyidae

Ctenomys brasiliensis +

Ctenomys torquatus +

Família Echimyidae

Subfamília Eumysopinae

Cliomys bishopi

Cliomys laticeps ?

Carterodon sulcidens +

Subfamília Dactylomyinae

Kannabateomys amblyonyx *

Subfamília Echimyinae

Callistomys pictus *

Nelomys blainvillei

Nelomys brasiliensis *

Nelomys dasythrix

Nelomys nigrispinus *

Nelomys thomasi *

Trinomys albispinus

Trinomys dimidiatus *

Trinomys iheringi *

Trinomys setosus *

+ = espécie que habita formações vegetais abertas; * = espécies endêmicas; ? = espécie a confirmar

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 78 espécies listadas na Tabela 1, apenas 49 constavam do acervo do MZ-USP, sendo que cinco destas estavam com a identificação a confirmar e outras quatro dispunham de apenas 1 indivíduo. Ainda, durante a coleta do material, foi possível observar que diversos espécimes identificados com a mesma espécie muitas vezes nem ao menos se assemelhavam externamente, o que foi verificado após a confecção e análise das lâminas. Dessa maneira, inicialmente foram descartados aproximadamente 40% dos pêlos coletados, dando-se preferência adotar como "controle" os espécimes que possuíam anotações de cariotipagem, que haviam sido submetidos a algum tipo de avaliação molecular para a identificação definitiva e, preferencialmente aqueles que possuísem um N superior a 40 (20 machos e 20 fêmeas) . Assim, foram analisados pêlos de 23 espécies de roedores descritos nas Tabelas 3 e 4.

Originalmente, além da avaliação de técnicas de preparação de pêlos para a visualização do padrão de medula e escamas, pretendia-se avaliar técnicas de

preparação de lâminas para a visualização da secção transversal dos pêlos, no entanto, como a literatura descreve apenas dois tipos de técnicas que além de proporcionarem uma taxa de sucesso muito baixa, consomem muito material, optou-se por não realizá-las.

4.1 – Avaliação das técnicas de preparação de lâminas para a observação da medula de pêlos

As figuras correspondentes às técnicas analisadas encontram-se no ANEXO I.

1 – Observação direta :

O material analisado sem nenhum tratamento apresentou-se muito difícil de observar, uma vez que a luz do microscópio recebe muita “resistência” da medula para atravessá-la (Figura 7).

2 – Técnica de Mayer (1952) :

A utilização de Tetracloreto de Carbono apresentou pouca variação em relação ao tratamento de observação direta na maioria das tentativas, no entanto, em alguns casos, era possível visualizar o contorno da medula do pêlo (Figura 8).

3 – Técnica de Fernandez e Rossi (1998):

Essa técnica já apresenta uma grande melhoria na observação da medula dos pêlos (Figura 9), é importante notar que além da clareza com que se observa o córtex, praticamente não há pigmentação visualizável e os espaços escuros que aparecem no interior do pêlo são gerados pelo ar no interior do pêlo. Ainda, pode-se observar na figura superior que em alguns pontos a medula aparece sem ar. Em

uma observação mais detalhada, percebeu-se que o tempo de permanência na lâmina com glicerina ajudava na substituição do ar por esse material (Figura 10), fenômeno este que nos auxiliou no desenvolvimento de um meio de observação mais eficiente.

4 – Técnica de Quadros (2002):

Esta técnica se mostrou bastante intrigante devido à instabilidade de resultados. A cada duas em três tentativas, os resultados foram idênticos à técnica de observação direta. As lâminas que resultavam em alguma alteração apresentavam intensa pigmentação cortical (Figura 11) e alta quantidade de ar no interior dos pêlos, praticamente impossibilitando a visualização do padrão de medula; ou nos melhores casos apresentavam uma redução na quantidade de pigmentos (principalmente na ponta e na base), mas ainda com uma grande quantidade de ar no interior dos pêlos (Figura 12).

5 – Técnica de Brunner e Coman (1974):

Esta técnica mostrou-se parcialmente adequada, considerando-se as demais técnicas analisadas, apresentando uma certa pigmentação cortical, mas deixando pouca quantidade de ar no interior dos pêlos (Figura 13), evidenciando o padrão medular claramente.

4.1.2 – Protocolo de tratamento de pêlos para a observação de medula

Com base nos experimentos anteriores, optou-se pelo desenvolvimento de técnicas que tivessem por objetivo a remoção do ar do interior dos pêlos sem a remoção exagerada dos grânulos de pigmento para que fosse possível o estudo posterior da distribuição espacial dos mesmos. Analisando as técnicas da literatura, observou-se que grande parte dos autores desenvolveram técnicas que implicavam em um pequeno investimento de tempo na preparação do material sem levar em consideração outros fatores ambientais como a temperatura.

Após diversas tentativas e variações, verificou-se que a melhor maneira de atingir os objetivos seria tratar o material com uma solução menos agressiva por um maior período de tempo. Para tanto, sugere-se que o material seja imerso em uma solução de H₂O₂ 30% e Alcool Etílico P.A. na proporção de 1:1 por um período de 96h para a limpeza de impurezas e a remoção do excesso de pigmentação do córtex dos pêlos a uma temperatura de 22°C (+/- 1°C). Em temperaturas inferiores a 20°C (+/- 1°C), pode ser necessário o tratamento do material por até 160h. No entanto, recomenda-se cautela no prolongamento do tempo de tratamento, pois a exposição prolongada a esta solução tende a degenerar a estrutura dos pêlos.

Após o tratamento, sugere-se que sejam preparadas lâminas provisórias com 1 gota de glicerina e lamínula, e que estas sejam deixadas em repouso por pelo menos outras 96h para que haja tempo hábil para a glicerina penetrar no interior do pêlo e remover o ar. Aqui as variações de temperatura ambiente também são importantes, sendo recomendado que em baixas temperaturas (abaixo de 18°C) a glicerina seja substituída por uma solução de glicerina e Álcool Etílico na proporção de 1 :1 para agilizar a substituição. Após a verificação do sucesso do tratamento os pêlos podem ser preparados com Entellan a fim de se obterem lâminas permanentes. Exemplos da eficácia dessa metodologia estão descritos nas Figuras 14, 15, 16, 17 e 18.

Alguns pêlos datados do final do séc. XIX e início do séc. XX, dada a sua fragilidade, foram preparados de maneira ligeiramente diferente, utilizando-se a seguinte técnica (desenvolvida especificamente para esse propósito):

- 3 a 5 pêlos foram inseridos em ependörfs de 3,5 ml contendo uma solução composta Álcool Polivinílico (PVAL) e Álcool Etílico na proporção de 1:1 por aproximadamente 160h, com a finalidade de se "colarem" as escamas, recuperando o contorno original da medula;
- Após esse período, os pêlos foram transferidos para lâminas de vidro com uma gota de uma solução de glicerina, água deionizada e álcool etílico (P.A.) na proporção de 1:1:1 por aproximadamente 96h (cobertos por lamínulas), a fim de serem removidos eventuais bolsões de ar presentes no interior da

medula, além de outras escamas e partículas de sujeira e pele que ainda estivessem grudadas nos pêlos.

- Todo o procedimento deve *a priori* ser conduzido a uma temperatura de 22°C (+/- 1°C), pois em temperaturas inferiores, foram observados resultados insatisfatórios (pouca eliminação de grânulos de pigmento e ar do interior do pêlo), provavelmente devido a uma menor taxa de desidratação do Álcool Polivinílico.

Esta técnica também se mostrou eficiente para o tratamento de pêlos que foram encontrados em fezes de onças coletadas há mais de 8 anos, além de pêlos que ficaram expostos no ambiente presos em cercas. Embora tenha sido eficiente tanto para a conservação e/ou restauração do material, quanto para observação do padrão de medula, as amostras tratadas por este processo mostraram grande retração das câmaras da medula impossibilitando qualquer análise morfométrica dos mesmos.

4.2 – Avaliação das técnicas de preparação de lâminas para a observação do padrão de escama de pêlos

1 – Montagem com esmalte/cola branca:

O "esfregaço" de esmalte/cola branca em lâmina de vidro foi realizado com o auxílio de uma lamínula para a obtenção de uma camada bem fina do material. Foi observado que independentemente do tamanho dos pêlos (e da espécie), o importante para o "sucesso" com essa técnica é o grau de umidificação dos pêlos os quais foram mergulhados em uma solução de glicerina e água deionizada (1 :1) por 24h antes de serem enxugados com papel toalha para serem depositados sobre as lâminas com o esfregaço. Caso esse procedimento não seja seguido, o material fica muitas vezes mais mergulhado em uma parte do esfregaço do que em outra, resultando em irregularidades na impressão do padrão de escamas. Em geral esse método foi bastante eficiente, salvo pela formação de uma borda que dificulta a medição correta do diâmetro do pêlo e prejudica a contagem de escamas (Figuras 19, 20 e 21).

2 – Técnica de Fernandez e Rossi (1998):

O "esfregaço" de fluido corretor em uma lâmina de vidro, obteve resultados bastante ruins, sendo praticamente impossível observar o padrão de escamas, salvo quando a lâmina foi virada para baixo, quando foi possível observar indícios do padrão de escamas. Embora o autor não tenha explicado melhor, é possível que esse tipo de técnica deva apresentar melhores resultados quando observado à um microscópio invertido.

3 – Técnica de Mayer (1952) e Hardy e Plitt (1940):

Foram testados diversos materiais plásticos termo-sensíveis, inclusive resinas que depois de secas e aquecidas eram usadas na prensagem do material como prevê as técnicas de Mayer (1952) e Hardy e Plitt (1940). No entanto o material utilizado não resultou em muitos resultados. Outras técnicas como a de Carter e Dilworth (1971) que consistia na utilização de um spray de verniz também foram testadas, mas não foi possível encontrar um material que se adequasse aos requerimentos. Posteriormente, foi possível a utilização de plástico transparente comum (polietileno de baixa densidade transparente), a qual será detalhada adiante.

4 – Técnica de Brunner e Coman (1974):

O "esfregaço" de cola de pvc em uma lâmina de vidro, apresentou bons resultados, mas como no caso da técnica de esmalte/cola branca, ainda foram observadas bordas do material utilizado quando do exame das lâminas (Figuras 22 e 23).

No geral, as técnicas 1 e 4 são bastante similares e apresentam bons resultados, no entanto a taxa de sucesso é muito baixa e extremamente irregular. Os materiais utilizados apresentam uma viscosidade relativamente alta que dificulta a

preparação das lâminas. Além disso, os defeitos nas impressões causados pelas irregularidades do pêlo e devido à rápida secagem dos meios utilizados (Figuras 24 e 25).

4.2.1 – Protocolo de preparação de lâminas de impressão do padrão de escama de pêlos

Com base nos experimentos anteriores, optou-se pelo desenvolvimento de técnicas que tivessem por objetivo uma maior eficiência na observação da impressão do padrão de escamas dos pêlos. Um dos fatores principais foi a eliminação das bordas, uma vez que dificultam a utilização de análises morfométricas. Para tanto, foram realizadas pequenas alterações nas metodologias 1 e 4, utilizando-se um tratamento prévio dos pêlos e substituindo o meio de impressão.

Em primeiro lugar, procurou-se aumentar o grau de umidificação dos pêlos para minimizar as irregularidades nas impressões. Assim, os pêlos eram mergulhados em uma solução de glicerina e água deionizada (1 :1) por 24h antes de serem enxugados com papel toalha para serem depositados sobre as lâminas com o esfregaço.

Em segundo lugar, como meio de impressão alternativo, foi utilizada uma cola à base de Álcool Polivinílico, que possui uma viscosidade menor possibilitando uma maior aderência dos pêlos. Embora este material ainda deixe uma pequena quantidade de borda em torno da impressão, a mesma não prejudica a análise morfológica do pêlo (Figuras 26, 27 e 28). Como problemas tanto deste procedimento quanto das técnicas 1 e 4 é o acúmulo de poeira sobre as lâminas, que são impossíveis de serem lavadas sem prejuízo da impressão.

Levando em consideração a questão da montagem de coleções permanentes de lâminas de escamas, foi desenvolvido outro método, baseado na técnica de

Mayer (1952) e Hardy e Plitt (1940). O processo consiste em depositar 2 ou três pêlos sobre um pedaço de polietileno de baixa densidade transparente (cortado do mesmo tamanho de uma lâmina de vidro padrão), e prensá-los entre 2 lâminas de vidro, presas por cliques metálicos. Após a prensagem das lâminas, as mesmas são depositadas em uma estufa (ou equivalente) à uma temperatura de 100°C entre 2 e 3 minutos.

Após esse período, as lâminas são retiradas e o padrão de escamas fica impresso permanentemente no plástico. As grandes vantagens dessa técnica são a uniformidade da impressão, a possibilidade de se lavar o material (plástico) sem prejuízos, ao contrário das lâminas de escama feitas com cola ou esmalte e, a possibilidade de se inverter o plástico para observação, o que na maioria das vezes (com pêlos finos) elimina a visualização das bordas (Figura 29).

Nos casos em que o material é bastante frágil (como no caso de pêlos datados do final do séc. XIX e início do séc. XX), dificultando preparação de lâminas para a observação do padrão de escamas, tanto as técnicas presentes na literatura corrente quanto a desenvolvida com PEBD, são inadequadas. Para tanto, foi desenvolvida outra técnica para observação dos padrões, a fim de se contornarem esses problemas.

A técnica em questão consiste em remover os pêlos dos ependörfs, transferi-los para lâminas de vidro, cobri-los com lamínula de tamanho adequado e, pingar nas bordas da lamínula uma solução de éter sulfúrico e álcool etílico (P.A.) na proporção de 1:2. A observação ao microscópio óptico deve ser realizada imediatamente após a deposição da solução na lâmina, dada a sua volatilidade (Figura 31). Embora não seja possível medir precisamente o padrão de escamas, e este não fique muito claro, a técnica é útil para obter-se o padrão de escamas sem perder ou prejudicar o pêlo em questão.

4.3 – Caracterização morfológica dos padrões de escama e medula dos pêlos de roedores de Mata Atlântica

Um fenômeno interessante registrado foi que os padrões de medula observados para alguns indivíduos eram visivelmente diferentes dos registrados para a mesma espécie (em diversos casos). A princípio considerou-se o descarte desse material, no entanto, ao observar os dados da ficha de identificação desse material constatou-se que todas essas amostras provinham de indivíduos jovens. O formato da medula desses espécimes apresentava-se menos "complexo" e muito mais facilmente observável que os demais (adultos). Em alguns casos, os indivíduos apresentavam no máximo um padrão *Narrow Aeriform Lattice* com até 3 grânulos de pigmentos bem definidos, e em outros, apresentavam o padrão *Wide Aeriform Lattice* com apenas 4 grânulos de pigmentos de maneira bastante nítida (o que é muito difícil de se observar em pêlos de indivíduos adultos). De qualquer maneira, após a constrição o número de grânulos diminuía e o padrão predominante na região shield passava a ser do tipo *Uniserial Ladder*.

Apesar dessas observações, os pêlos de indivíduos juvenis apresentaram pouca variação em relação aos pêlos de adultos, no que se refere ao tamanho e padrão de escamas. Na chave para identificação de roedores elaborada, estão inclusas algumas características distintivas para indivíduos juvenis.

A maioria dos gêneros apresentaram padrões de medulas muito semelhantes, sendo diferenciados, essencialmente, pela presença de especificações nos padrões de escamas. Apenas para os gêneros *Hydrochaeris* e *Agouti*, houve uma pequena diferenciação, pois apenas foi observado o padrão de medula *Globular*. Quanto ao padrão de medula da base e ponta, todos os gêneros apresentaram os mesmos, ou seja, padrão *Uniserial Ladder*, coincidindo com o padrão coronal, observado na ponta e base das escamas, exceto na base dos pêlos de *Wilfredomys* e *Sciurus*, que

já iniciam com o padrão *Broad Petal* e *Narrow Diamond Petal* e *Dasyprocta*, que apresenta base com padrão *Broad Petal* e ponta *Regular Wave close*.

A Tabela 2 contém as siglas utilizadas para os padrões de medula e escama. Os resultados da análise dos padrões de medula e escama das espécies estudadas estão sumarizados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 2 - Siglas utilizadas no desenvolvimento da chave de identificação

Padrão de Medula	Sigla
Narrow Medulla Lattice	NML
Wide Medulla Lattice	WML
Narrow Aeriform Lattice	NAL
Wide Aeriform Lattice	WAL
Uniserial Ladder	UL
Globular	G
Padrão de Escamas	Sigla
Simple Coronal	SC
Narrow Diamond Petal	NDP
Diamond Petal	DP
Broad Petal	BP
Irregular Wave	IW
Irregular Waved Mosaic	IWM
Regular Wave Mosaic	RWM
Regular Petal	RP
Narrow Broad Petal	NDP
Regular Mosaic	RM
Regular Wave	RW
Single Chevron	SCH
Streaked	SK

Flattened Irregular Mosaic	FIM
Irregular Wave	IW
Double Chevron	DCH
Transitional	TR

para se referir à distância entre as escamas

Close	(c)
Distant	(d)
Near	(n)
Near e close	(n,c)

para se referir ao tipo de borda da escama

Borda arredondada	(ba)
Borda levemente arredondada	(bla)
Borda crenada	(bc)
Borda levemente crenada	(blc)
Borda serrilhada	(bs)
Borda lisa com borda serrilhada	(bl-bs)
Borda lisa com borda crenada	(bl-bc)
Borda levemente arredondada com borda crenada	(bla-bc)

Tabela 3 - Padrões de escama das espécies estudadas

Espécie	Região do pêlo				
	base	meio	transição	shield	ponta
<i>Abrawayaomys ruschi</i>	SC	NDP	BP/RW(n)	RW(n)	SC
<i>Cuniculus paca</i>	SK	SK	SK	SK	SK
<i>Akodon montensis</i>	SC	NDP	T	RWM(bc)/IW (n)	SC (bc)
<i>Brucepattersonius iheringi</i>	SC	NDP	BP/RWC	RWC	SC
<i>Calomys callosus</i>	SC	NDP	BP/IWM	RWC	SC
<i>Cavia aperea</i>	RW	RW	T	IW	IW
<i>Cavia fulgida</i>	BP	RWM(d)	RWM (n)	SK	IW(n)(bc)
<i>Dasyprocta azarae</i>	FIM	FIM	T	IW	IW
<i>Delomys dorsalis</i> (?)	SC	NDP	T	BP	SC
<i>Delomys sublineatus</i>	SC	NDP	T	RWM (bl/bc)	SC
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	RW	FIM	T	RW	SC
<i>Nectomys squamipes</i>	SC	NDP	T	RWM(bla/bc)	SC (bc)
<i>Oecomys trinitatis</i>	SC	NDP	BP/IWM	RWC	SC
<i>Oligoryzomys delticola</i>	SC	NDP	T	RWM (blc)	SC
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	SC	NDP	T	RWM (blc)	SC
<i>Oryzomys capito</i>	SC	NDP	BP/RWD	RWC	SC
<i>Oryzomys nigripes</i>	SC	NDP	T	RWM (ba)	SC
<i>Oryzomys intermedius</i>	SC	NDP	T	RWM (bla)	SC
<i>Oxymycterus hispidus</i>	DP	NDP	T	RWM(n,c)	SC (bc)
<i>Guerlinguetus aestuans</i>	SC	BP	BP/RWM(D)	RWM(bc)	SC
<i>Thaptomys nigrita</i>	SC	NDP	T	RWM(ba)	SC
<i>Trinomys iheringi</i>	SC	SK	SK	SK	SK

* Padrões onde não está especificado o tipo de borda, considerar como borda lisa.

Tabela 4 – Padrões de escama das espécies estudadas.

Espécie	Região do pêlo			
	base	meio	shield	ponta
<i>Abrawayaomys ruschi</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Cuniculus paca</i> *	G	G	G	G
<i>Akodon montensis</i>	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Brucepattersonius iheringi</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Calomys callosus</i>	UL	NAL	NAL	UL
<i>Cavia aperea</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Cavia fulgida</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Dasyprocta azarae</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Delomys dorsalis</i>	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Delomys sublineatus</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> *	G	G	G	G
<i>Nectomys squamipes</i>	UL	NAL	NAL/WAL	UL
<i>Oecomys trinitatis</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Oligoryzomys delticola</i>	UL	NAL	NAL/WAL	UL
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Oryzomys capito</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL
<i>Oryzomys intermedius</i>	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Oryzomys nigripes</i>	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Oxymycterus hispidus</i>	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Guerlinguetus aestuans</i> *	UL	NAL	NAL/WAL/NAL	UL
<i>Thaptomys nigrita</i>	UL	NAL	NAL	UL
<i>Trinomys iheringi</i>	UL	NAL/WAL	WAL	UL

* os gêneros de algumas espécies foram modificados da Tabela 1 para se adequar à nova proposta de nomenclatura (BONVICINO et al, 2008; WEKSLER et al, 2006; WEKSLER e BONVICINO, 2005).

Com base nesses dados, foi elaborada uma chave de identificação para as espécies de roedores analisadas neste estudo (tabela 5)

Tabela 5 - Chave de identificação para as espécies de roedores analisadas neste estudo

1 ^a	Padrão medular do tipo <i>UL</i> na base do pêlo.....	2	
1b	Padrão medular do tipo <i>G</i> em toda a extensão do pêlo.....	9	
2 ^a	Padrão medular exclusivamente do tipo <i>NAL</i> na porção Mediana.....	3	
2b	Padrão medular variando do tipo <i>NAL</i> para <i>WAL</i> na porção mediana, e do tipo <i>WAL</i> praticamente ao longo de toda a região <i>Shield</i> ⁽¹⁾	6	
3a	Padrão medular exclusivamente do tipo <i>NAL</i> ao longo da região <i>Shield</i> ⁽²⁾	4	
3b	Padrão medular variando do tipo <i>NAL</i> para <i>WAL</i> desde o início até o meio da região <i>Shield</i> , e à partir desse ponto podendo variar para o tipo <i>NAL</i> ⁽³⁾	5	
4a	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>BP/IWM</i> na região de constrição e, <i>RWC</i> na região <i>Shield</i>		<i>Calomys callosus</i>
4b	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>T</i> na região de constrição e, <i>RWM</i> (<i>ba</i>) na região <i>Shield</i>		<i>Thaptomys nigrita</i>
5a	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>T</i> na região de constrição e, <i>RWM</i> (<i>bla/bc</i>) na região <i>Shield</i>		<i>Nectomys squamipes</i>
5b	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>T</i> na região de constrição e, <i>RWM</i> (<i>blc</i>) na região <i>Shield</i>		<i>Oligoryzomys delticola</i>
5c	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>T</i> na região de constrição e, <i>RWM</i> (<i>bc</i>) e <i>IW</i> (<i>n</i>) na região <i>Shield</i>		<i>Akodon montensis</i>
5d	Padrão cuticular do tipo <i>SC</i> na base, <i>NDP</i> na porção mediana, <i>T</i> na região de constrição e, <i>RWM</i> (<i>bl/bc</i>) na região		<i>Delomys sublineatus</i>

	<i>Shield</i>	
5e	Padrão cuticular do tipo SC na base, NDP na porção mediana, T na região de constrição e, RWM (bla) na região <i>Shield</i>	<i>Oryzomys intermedius</i>
5f	Padrão cuticular do tipo SC na base, NDP na porção mediana, T na região de constrição e, RWM (ba) na região <i>Shield</i>	<i>Oryzomys nigripes</i>
5g	Padrão cuticular do tipo DP na base, NDP na porção mediana, T na região de constrição e, RWM (n,c) na região <i>Shield</i>	<i>Oxymycterus hispidus</i>
5h	Padrão cuticular do tipo SC na base, BP na porção mediana, BP/RWM(d) na região de constrição e, RWM (b,c) na região <i>Shield</i>	<i>Sciurus aestuans</i>
6a	Padrão cuticular do tipo SC na base e NDP na porção mediana.....	7
6b	Padrão cuticular diferente do tipo SC na base.....	8
7a	Padrão cuticular do tipo BP/IWM na região de constrição e RW(c) na região <i>Shield</i>	<i>Oecomys trinitatis</i>
7b	Padrão cuticular do tipo BP/RWC na região de constrição e RWC na região <i>Shield</i>	<i>Brucepattersonius iheringi</i>
7c	Padrão cuticular do tipo BP/RWD na região de constrição e RW(c) na região <i>Shield</i>	<i>Oryzomys capito</i>
7d	Padrão cuticular do tipo BP/RWM na região de constrição e RWM na região <i>Shield</i>	<i>Abrawayaomys ruschi</i>
7e	Padrão cuticular do tipo T na região de constrição e BP na região <i>Shield</i>	<i>Delomys sublineatus</i>
7f	Padrão cuticular do tipo T na região de constrição e RW na região <i>Shield</i>	<i>Wilfredomys pictipes</i>
7g	Padrão cuticular do tipo T na região de constrição e RWM(blc) na região <i>Shield</i>	<i>Oligoryzomys nigripes</i>
8 ^a	Padrão cuticular do tipo RW na porção mediana, T na região de constrição e IW na região <i>Shield</i>	<i>Cavia aperea</i>
8b	Padrão cuticular do tipo RWM(d) na porção mediana, RWM(n) na região de constrição e SK na região <i>Shield</i> ..	<i>Cavia fulgida</i>
8c	Padrão cuticular do tipo SK desde a porção mediana até a	<i>Trinomys iheringi</i>

	região <i>Shield</i>	
8d	Padrão cuticular do tipo FIM na desde a porção mediana até a região de constrição e IW na região <i>Shield</i>	<i>Dasyprocta azarae</i>
9a	Padrão cuticular do tipo RW na base, e SK desde a porção mediana até a região <i>Shield</i>	<i>Agouti paca</i>
9b	Padrão cuticular do tipo RW na base, FIM na porção mediana, T na região de constrição e RW na região <i>Shield</i>	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>

⁽¹⁾ em geral, pêlos de indivíduos juvenis podem passar a apresentar o padrão de medula do tipo *Uniserial ladder* à partir do meio para o fim da região mediana, estendendo-se até a ponta do pêlo.

⁽²⁾ no caso de indivíduos juvenis, o padrão de medula ,em geral, varia do tipo *Narrow Aeriform Lattice* para *Uniserial ladder* ao longo da região *Shield*.

⁽³⁾ no caso de indivíduos juvenis, o padrão de medula pode passar a ser do tipo *Uniserial ladder* à partir da porção mediana da região *Shield* até a ponta do pêlo.

4.4 – Considerações Gerais

Embora não tenha sido o objetivo deste trabalho, durante a coleta do material, foram testadas outras técnicas de remoção dos pêlos, como a utilização de pinças de ponta chata (pinças de sombrancelha) e fita adesiva. Optou-se finalmente pela utilização de pinças de relojoeiro por que a utilização dos outros instrumentos acumulava muito mais subpêlos do que pêlos-guarda.

Durante a análise dos pêlos de cada indivíduo, foram montadas algumas lâminas com subpêlos para verificar se os mesmos não poderiam apresentar algum valor diagnóstico adicional, no entanto, estes não apresentaram variações em nenhuma das regiões abordadas, ou seja, em lâminas de medula, o padrão se repetiu na base, meio, região shield e ponta e, em lâminas de escamas, a diferenciação apenas pôde ser feita através da presença de constrições e irregularidades no formato dos pêlos.

Foram verificadas algumas discrepâncias em relação aos padrões cuticulares observados com os modelos presentes nas pranchas de Brunner e Coman (1974) e Moore et al. (1974) (Figuras 5, 6 e 7). Essas variações provavelmente devem-se ao fato de que em ambientes tropicais, a diversidade de espécies e nichos é maior e, portanto, seria de se esperar que fossem encontradas espécies com padrões medulares e cuticulares diferentes dos observados em regiões sub-tropicais e temperadas pelos autores supracitados. Apesar de alguns padrões não serem exatamente idênticos, não foi observado nenhum padrão totalmente diferente neste trabalho.

Embora possa parecer necessária uma adequação dos dois tipos de padrões propostos, a literatura apresenta dados que contrariam essa proposição. Capurro e Novarro (1988) e Chehébar e Martin (1989), propuseram uma série de “novos” padrões de medula e escama para tentar enquadrar de uma melhor maneira as formas visualizadas, no entanto a super-especificação dos padrões não apresentou uma melhoria significativa na diferenciação interespecífica. No entanto, Cavia et al. (2008) propuseram um sistema bastante interessante que consiste em considerar os padrões *Narrow Aeriform Lattice* e *Wide Aeriform Lattice*, como variações do padrão *Uniserial Ladder*, passando dessa maneira a serem chamados de *Uniserial (Uniserial Ladder)*, *Biserial (Narrow Aeriform Lattice)*, *Triserial (Narrow Aeriform Lattice e/ou Wide Aeriform Lattice)* e *Multiserial (Wide Aeriform Lattice)*.

Apesar desse tipo de classificação ser mais detalhado, quando comparada com a utilizada no presente trabalho, não se observa nenhuma alteração drástica na identificação dos padrões de medula de indivíduos adultos. Embora esse detalhamento possa parecer mais didático e fácil de visualizar e/ou classificar os padrões de medula, o mesmo não foi adotado aqui porque para as pessoas que não estão familiarizadas com as técnicas de preparação e com a visualização do que seria uma “lâmina ideal”, a presença de um pouco de ar no interior do pêlo pode deixar dúvidas sobre o padrão ser *Biserial* ou *Triserial*. Além disso, não existe a necessidade de inventar nomes diferentes ou recriar padrões que estão bem

estabelecidos, motivo pelo qual não foi adotada nem mesmo a proposta de nomenclatura de Quadros (2005).

Para facilitar a visualização e compreensão dos problemas relacionados às diferenças dos padrões medulares e cuticulares propostos na literatura e observados no presente trabalho, foram colocados exemplos fotográficos dos mesmos no ANEXO III.

Para constatar a diferenciação dos padrões de medula de pêlos de jovens e adultos, o material obtido da coleção do MZ-USP foi comparado com material coletado em campo. Os resultados mostraram que mesmo quando era possível ver o saco escrotal de machos adultos, em alguns casos os pêlos apresentavam-se com características de juvenis.

Embora as variações encontradas para pêlos de indivíduos jovens possam ser consideradas, a princípio, como um fator que diminua a validade da identificação de mamíferos por pêlos, elas também sugerem que o fenômeno possa refletir um resquício evolutivo. As observações de Brunner e Coman (1974) sugerem que ao menos em regiões temperadas os pêlos de indivíduos jovens podem apresentar características diferentes dos adultos, uma vez que sua função é quase que exclusivamente de manutenção térmica e, mesmo quando adultos, algumas espécies promovem mudança total da pelagem que se altera morfológicamente para se adequar a outras funções em função das estações do ano. As considerações de Chernova (2003) e Sokolov et al. (1999) sobre a estrutura e função dos pêlos, corroboram com essa suposição.

De todas as espécies estudadas, apenas *Agouti paca* e *Trinomys iheringi* foram mais difíceis de serem identificadas pela chave devido a problemas inerentes ao tipo de pêlos guarda que possuem que é côncavo por quase toda a sua extensão mas principalmente na região Shield, o que dificultou tanto a preparação de lâminas quanto a identificação e fotografia dos padrões. Visando evitar quaisquer

dificuldades, diversas fotos dos padrões cuticulares e medulares dessas espécies estão no Anexo III.

A análise morfométrica do material foi comprometida, devido à observação de que os pêlos tratados pelas técnicas desenvolvidas sofreram uma contração de aproximadamente 30% do diâmetro, provavelmente ocasionada pela remoção dos grânulos de pigmento e pela baixa sustentação oferecida pelo meio de observação utilizado (glicerina, água e álcool 1:1:1) (Triggs, B e Trofimov, A. V. com. pess).

5 – CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de preparação de pêlos desenvolvidas no presente trabalho obtiveram resultados extremamente satisfatórios tanto em relação à preparação de lâminas permanentes quanto ao tratamento e restauração de pêlos antigos e/ou danificados. No entanto, infelizmente, devido à contração observada em relação ao diâmetro dos pêlos, ainda é necessário o desenvolvimento de uma solução que substitua o ar no interior dos pêlos e forneça sustentação o suficiente para que possam ser realizadas análises morfométricas de maneira adequada.

Para viabilizar a morfometria de pêlos antigos ou que ficaram expostos ao tempo ou passaram pelo trato digestivo de outros animais, sugere-se que sejam realizados experimentos controlados com pêlos "de boa procedência" realizando diversas medidas nos mesmos antes e depois de submetê-los a condições desfavoráveis.

A verificação da existência de diferenças entre pêlos de indivíduos jovens e adultos representa um grande avanço na aplicação de técnicas de identificação por pêlos em pesquisas de hábito alimentar por possibilitar ao menos a diferenciação da faixa etária das presas quando não existe registro ósseo. Sugere-se que em trabalhos futuros que levem em consideração a identificação de indivíduos jovens, seja utilizada a proposta de caracterização de padrão medular de Cavia et al. (2008),

uma vez que a variação do padrão medular pode ser mais facilmente observada pelo número de ocorrências de intrusões de córtex no interior da medula, do que através da simples observação de padrões genéricos.

A ocorrência de padrões de medula com poucas variações dentro da ordem, corrobora com a bibliografia, uma vez que Chernova (2003) considera que o padrão de medula tende a apresentar pouca variação entre as famílias da mesma Ordem.

A observação de um padrão de medula Globular (G) em *Hidrochaeris hidrochaeris* e *Agouti paca* ao longo dos pêlos, sugere que essa característica seja relevante do ponto de vista ecológico-evolutivo, podendo estar relacionada à adaptações ao modo de vida dessas espécies.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENEDICT, F.A. Hair structure as a generic character in bats. **University California Publications in Zoology**, v. 59, p. 285-548, 1947.
- BONVICINO, C. R. de OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, J. S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos** .- Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 120 p. 2008.
- BROWN Jr., K.S.; BROWN, G.G. Habitat alteration and species loss in Brazilian forests. Em: WHITMORE, T.C., SAYER, J.A. (Ed.) **Tropical deforestation and species extinction**, London; Chapman and Hall, p. 119 – 142. 1992.
- BRUNNER, H. e COMAN, B.J. **The identification of mammalian hair**. Victoria, Austrália: Inkata Press, 1974. 177p.
- BRUNNER, H. e WALLIS, R. Roles scat predator analysis in australian mammal research. **Victorian Nat (Nature)**, v. 103, n. 3, p. 79-87, 1986.
- BUSCH, M. Identificación de algunas especies de pequeños mamíferos de la Provincia de Buenos Aires mediante caractersticas de sus pelos. **PHYSIS**, Buenos Aires, Secc. C. v. 44, n.107, p. 113-118, 1986.
- CÂMARA, I. G. Tropical moist forest conservation in Brazil. Pp, 413-421. Em: **Tropical rain forest: ecology and management**. S. L. Sutton, T. C. Whitmore, & A. C. Chadwick (Eds.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1983.
- CAPURRO, A. e NOVARRO, A. **Identificación de pequenos mamíferos de la Provincia de Neuquién através de características de sus pelos**. Manuscrito Inédito, 26 p. 1988.

- CARLETON, M. D. & MUSSER, G. G. Systematic studies of oryzomyine (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of Myrciryzomys. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.** n. 191, 83p, 1989.
- CARTER, B. C. E DILWORTH, T. G. A simple technique for revealing the surface pattern of hair. **Amer. Midl. Natur.**, v. 85, p. 260-262, 1971.
- CERQUEIRA, R., et al. A five year population study of an assemblage of small mammals in Southeastern Brazil. **Mammalia**, v. 57, n. 4, p 507-517, 1993.
- CERQUEIRA, R., FERNANDEZ, F. A. S., QUINTELA, M. F. Mamíferos da restinga de Barra de Maricá, Rio de Janeiro. **Papéis Avulsos de Zoologia**. v. 37, n. 9, p. 141-157, 1990.
- CHEHÉBAR, C. e MARTÍN, S. Guia para el reconocimiento microscópico de los pelos de los mamíferos de la Patagônia. **Acta Vertebrata, Donaña**, v.16, n. 2, p. 247-291, 1989.
- CHERNOVA, O.F. Architectonics of the medulla of guard hair and its importance for identification of taxa. **Doklady Biol. Sci.** v.376. p. 81-85, 2001.
- CHERNOVA, O.F. Architectonic and diagnostic significance of hair cortex and medulla. **Biol. Bulletin**. v. 30, n.1, p. 53-62, 2003.
- CHERNOVA, O.F. One more example of morphological convergence: Similarity between the architectonics of feather and hair. **Doklady Biol. Sci.** v. 405, p. 446-450. 2005.
- CLEMENT, J. L.; HAGEGE, R.; PAREUX, A. L.; CONNET, J. & GASTALDI, G. New concepts about hair identification revealed by electron microscope studies. **Journal of Forensic Sciences**, JFSCA. 26 (3): 447-458pp,1981.
- COMAN, B.J. e BRUNNER, H. Food-habitats analysis using a fiber cross-sectioning technique. **Journal of Wildlife Management**, v. 35, n. 3, p. 576-579, 1971.
- COSTA. A. C. M. **Ecologia de um grupo de mico-leões-pretos (*Leontopithecus chrysopygus*, Mikan, 1823) na mata ciliar da Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista, SP.** 1997. 109f. Dissertação (Mestrado em Zoologia). Departamento de Zoologia – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- D'ANDREA, R.S., LAGAMBA, R. **Estudos Preliminares sobre a Ecologia de População de Pequenos Mamíferos em um Trato Florestal Isolado, na Fazenda Santa Carlota, Município de Cajuru, São Paulo.** 1987. 87 f.

Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

- DAY, M. G. Identification of hair and feather remains in the gut and faeces of stoats and weasels. **Journal of Zoology**, London, v. 148, p. 201-217, 1966.
- DIETZ, J. M. Ecology and social organization of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). **Smithsonian Contributions to Zoology**, n. 392, p.1-51. 1984.
- DOUGLAS, R. M. Microscopic identification of the digestive tract contents of spotted grass snakes, *Psammophylax rhombeatus rhombeatus* (Reptilia: Colubridae). **Journal of African Zoology**, v. 106, p. 401-411, 1992.
- EMMONS, L. H. Geographical variation in densities and diversities of nonflying mammals in Amazonia. **Biotropica**, n.16, v.3, p.210-222. 1984.
- ERNEST, K. A. & M. A. MARES. Ecology of *Nectomys squamipes* the Neotropical water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behavior. **J. Zool.** n. 210, p. 599-612. 1986.
- FERNÁNDEZ, G. J. e ROSSI, S. Medullar type and cuticular scale patterns of hairs of rodents and small marsupials from the Mont Scrubland (San Luis Province, Argentina). **Mastozoología Neotropical**, Buenos Aires, v. 5, n. 2. p. 109-116, 1998.
- FONSECA, G. A. B.; HERMMANN, G.; LEITE, Y. L. R. Macrogeography on Brazilian Mammals. In: EISENBERG, J. F. & REDFORD, K. H. (Eds.) **Mammals of the neotropics. The central neotropics**. Chicago University Press: Chicago. v. 3. 1999. p. 549-563.
- FONSECA, G.A.B.; KIERULF, M.C.M. Biology and natural history of Atlantic forest mammals. **Bulletin Florida State Museum Biological Science**, v. 34, n. 3, p. 99-152. 1989.
- GENTILE, R., CERQUEIRA, R. Movement patterns of five species of small mammals in a Brazilian restinga. **Journal of Tropical Ecology**, v. 11, p. 671-677, 1995.
- GENTILE, R., D'ANDREA, P. S., CERQUEIRA, R. Age structure of two marsupial species in a Brazilian restinga. **Journal of Tropical Ecology**, v. 11, p. 678-682, 1995.
- HARDY, J. I. e PLITT, T. M. An improved method for revealing the surface structure of fur fibers. **U.S.D.I. Wildlife Circ.** v. 7. 10 pp., 1940.

- HAUSMAN, L. A. Applied microscopy hair, **Scientific Monthly**, v. 59, p. 195-202, 1944.
- HAUSMAN, L. A. Further studies of the relationship of the structural characters of mammalian hair. **American Naturalist**, v. 58, p. 544-557, 1924.
- HAUSMAN, L. A. Recent studies of hair structure relationships. **Scientific Monthly**, v. 30, p. 258-277, 1930.
- HAUSMAN, L. A. Structural characteristics off the hair of the mammals. **American Naturalist**, v. 54, p. 496-523. 1920.
- HERSHKOVITZ, P. 1977. Evolutionary and Comparative Morphology of New World Monkeys, Infraorder Platyrrhini. 67-368p. In: **Living New World Monkeys** (Platyrrhini) (P. Hershkovitz, ed.). The University of Chicago Press, Chicago. 1117p.
- HILTON, H. e KUTSCHA, N. P. Distinguishing characteristics of the hairs of eastern coyote, domestic dog, red fox and bobcat in Maine. **The American Midland Naturalist**, v. 100, n. 1, p. 223-227, 1978.
- JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio Janeiro: Editora Guanabara Koogan, S. A , 9ª ed., 1999. 427 p.
- KATI, V.; DEVILLERS, P.; DUFRÊNE, M.; LEGAKIS, A.; VOKOU, D.; LEBRUN, P. Testing the Value of Six Taxonomic Groups as Biodiversity Indicators at a Local Scale. **Conservation Biology**, v. 18, n.3, p. 667–675, 2004.
- KELLER, A. Détermination des mammifères de la Suisse par leur pelage: I. Talpidae et Soricidae. **Revue Suisse de Zoologie** 85: 758-761, 1978.
- LEE, M. S.Y. A worrying systematic decline. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 15, n. 8. 2000.
- LINDENMAYER, D. B.; MCCARTHY, M. A.; PARRIS, K. M.; POPE, M. L. Habitat fragmentation, Landscape context, and mammalian assemblages in southeastern Australia. **Journal of Mammalogy**, n. 81, v.3: p. 787-797. 2000.
- LOWRY, P.P. II. A time for taxonomists to take the lead. **Oryx**, n. 35, v.4, p. 273-274. 2001.
- LYNE, A G. e MCMAHON, T. S. Observations on the surface structure of the hairs of Tasmanian monotremes and marsupials. **Pap. Roy. Tasmania**, p. 71-84, 1950.
- MARES, M. A. Conservation in South America: problems, consequences and solutions. **Science**, v.233, p. 519-520. 1986.

- MARES, M. A. Neotropical mammals and the myth of Amazonian biodiversity. **Science**. n. 255, p. 976-979. 1992.
- MARES, M. A., ERNEST, K. A., GETTINGER, D. D. Small mammal community structure and composition in the Cerrado Province of Central Brazil. **Journal of Tropical Ecology**. v.2, p. 289-300. 1986.
- MATHIAK, H. A. A key to hairs of the mammals of southern Michigan. **Journal of Wildlife Management**, v. 2, n. 4, p. 251-268, 1938.
- MAYER, W. V. The hair of California mammals with keys to the dorsal guard hairs. **The American Midland Naturalist**, v. 48, n. 2, p. 480-512, 1952.
- MESERVE, P. L. Habitat and resource utilization by rodents of a California coastal sage scrub community, **Journal of Ecology**. V. 45, p. 647-666. 1976.
- METZGER, J.P.; DECAMPS, H.; The structural connectivity threshold: an hypothesis in conservation biology at the landscape scale. **Acta Ecologica**, v. 18, n. 1, p. 28-31, 1997.
- MEYER, W.; SCHNAPPER, A. e HÜLMANN, G. The hair cuticle of mammals and its relationship to functions of the hair coat. **J. Zool., Lond.** n. 256, p. 489-494. 2002.
- MIRANDA, E.E. e MATTOS, C. Brazilian rain forest colonization and biodiversity. **Agric. Ecosystems Environ.**, v. 40, p. 275-96, 1992.
- MIRANDA, E.E.; MATTOS, C. Brazilian rain forest colonization and biodiversity. **Agricultural Ecosystems and Environmental**, v. 40, p. 275-296, 1992.
- MITTERMEIER, R.A.; COIMBRA-FILHO, A.F.; CONSTABLE. I.D.; RYLANDS. A.B.; VALLE, Conservation of primates in the Atlantic forests of Brazil, New York, **Zoological Yearbook**, 1982. 58 p.
- MOOJEN, J. (1952). **Os Roedores do Brasil**. Instituto Nacional do Livro, Rio de Janeiro, Brazil.
- MOORE, T. D.; SPENCE, L. E. e DUGNOLLE, C. E. **Identification of the dorsal guard hairs of some mammals of Wyoming**. Wyoming Game and Fish Department, Bulletin n. 14, 1974. 177 p.
- MORLIN-JUNIOR, J.J.; PENNA, M. H. A & GOBBI, N. Análise de técnicas para a preparação de lâminas de pêlos utilizadas na identificação de animais. **Anais do 1º Congresso Brasileiro de Mastozoologia**. 2001.

- NOVACEK, M. J. Mammalian evolution: an early record bristling with evidence. **Current Biology**, n. 7, p. 489-491. 1997.
- OLIVEIRA, J. A., M. L. LORINI & V. G. PERSSON. 1992. Pelage variation in *Marmosa incana* (Didelphidae, Marsupialia) with notes on taxonomy. **Zeitschrift Säugetierkunde** 57: 129-136.
- PAGANO, S. N. & H. F. LEITAO-FILHO. Composição florística do estrato arbóreo de mata mesófila semidecídua, no município de Rio Claro (Estado de São Paulo). **Revta. Bras. Bot.** 10: 37-47. 1987.
- POUGH, J. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J.B. 2003. **A vida dos vertebrados**. 6ª ed. São Paulo, Atheneu.
- QUADROS, J. **Identificação microscópica de pêlos de mamíferos brasileiros e sua aplicação no estudo da dieta de carnívoros**. 2002. 127f. Tese (Doutorado em Zoologia). Departamento de Zoologia – Universidade Federal do Paraná.
- QUADROS, J. E BRAGA, F. G. Caracterização morfológica dos pêlos de diferentes partes do corpo de alguns carnívoros com ocorrência no estado do Paraná-BR. **Anais do XIII Jornadas Argentinas de Mastozoologia**. Puerto Iguazú, Argentina. 1998
- QUADROS, J. E MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Effects of digestion, putrefaction, and taxidermy processes on *Didelphis albiventris* hair morphology. **Journal of Zoology**, London 244: 331-334. 1998.
- SÃO PAULO - SECRETARIA DO ESTADO DO GOVERNO E GESTÃO ESTRATÉGICA. **Decreto No. 42.838. Declara as Espécies da Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção e as Provavelmente Ameaçadas de Extinção e dá providências correlatas**. São Paulo, 1998.
- SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE - SEMA. **Macrozoneamento das Bacias dos Rios Mogi Guaçu, Pardo e Médio-Grande: questões sócio-ambientais regionais**. Governo do Estado de São Paulo. São Paulo. 1995. (Relatório Técnico).
- SHORT, H. L. Analysis of cuticular scales on hairs using the scanning electron microscope. **Journal of Mammalogy**, v. 59, p. 261-268, 1978.
- SOKOLOV, V. E.; USHAKOV, N. A.; TSELIKOVA, N.; FEOKTISTOV, N. Y.; KOLTOVOY, N. A. АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ТАКСОН- ПЕЦИФИЧНЫХ

ПАРАМЕТРОВ КУТИКУЛЫ ОСТЕВЫХ ВОЛОС ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СИСТЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПО МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ ВОЛОСА. **ИЗВЕСТИЯ АН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ**, n. 5, p. 554-561. 1999.

SOUTHGATE, R.; PALMER, C.; ADAMS, M.; MASTERS, P.; TRIGGS, B. e WOINARSKI, J. Population and Habitat Characteristics of the Golden Bandicoot (*Isodon auratus*) on Marchinbar Island, Northern Territory. **Wildlife Research**, v. 23, p.647-664, 1996.

STAINS, H. J. 1958. Field key to guard hair of middle western furbearers. *Journal of Wildlife Management*. 22: 95-97pp.

STALLINGS, J. R. Small Mammal Inventories in an Eastern Brazilian Park. **Bull. Florida State Mus., Biol. Sci.** v. 34, n. 4, p. 153-200. 1989.

STALLINGS, J.R. Small mammal inventories in an Eastern Brazilian Park. **Bulletin Florida State Museum, Biological Scientific**, v. 34, n. 4, p. 153-200, 1989.

TAYLOR, P.D.; FAHRIG, L.; HENEIN, K.; MERRIAN, G.; Connectivity is a vital element of landscape structure. **Oikos**, v. 55, p. 121-129, 1993.

TEERINK, B. J. 1991. **Hair of west european mammals: atlas and identification**. Cambridge University Press. Cambridge. 224p.

TURNER, I.M. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. **Journal of Applied Ecology**, v. 33, p. 200-09, 1996.

VÁSQUEZ, D. E.; PEROVIC, P. G. e OLSEN, A. A. Patrones cuticulares y medulares de pelos de mamíferos del noroeste argentino (Carnivora y Artiodactyla). **Mastozoología Neotropical**, v. 7, n. 2, p. 131-147, 2000.

VIEIRA, C. O. C.. Lista remissiva dos mamíferos do Brasil. **Arq. Zool. S. P.** , v. 8, p. 341-474, 1955.

VOSS, R. S. Systematics and ecology of Ichthyomyne rodents (Muroidea): patterns of morfological evolution in a small adaptive radiation. *Amer. Mus. Nat. Hist*, v. 2, n. 188, p. 493,1988.

VOSS, R.S.; EMMONS, L.H. Mammalian diversity in neotropical lowland rainforest: a preliminary assessment. **Bulletin American Museum Natural History**, v. 230, p. 1-117, 1996.

WALLIS, R. L. A key for the identification of guard hairs of some Ontario mammals. **Canadian Journal of Zoology**, v. 71, p. 587-591, 1993.

- WEINGART, E. L. A simple technique for revealing hair scale patterns. **American Midland Naturalist**, v. 2, n. 90, p. 508-509, 1973.
- WEKSLER, M.; BONVIVINO, C.R. Taxonomy of Pigmy Rice Rats Genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian Cerrado, With the Description of Two New Species. **Arquivos do Museu Nacional**, v.63, n.1, p.113-130, 2005.
- WEKSLER, M.; PERCEQUILLO, A. S.; VOSS, R. S. Ten New Genera of Oryzomyine Rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). **American Museum Novitates**, v. 3537, p. 1-29, 2006
- WILLIAMS, C. S. Aids to the identification of mole and shrew hairs with general comments on hair structure and hair determination. **Journal of Wildlife Management**, v. 2, n. 4, p. 239-250, 1938.
- WILLIAMSON, V. H. H. Determination of hairs by impressions. **Journal of Mammalogy**, v. 32, n. 1, pp. 80-84, 1951.
- WOLFE, A. e LONG, A. M. Distinguishing between the hair fibres of the rabbit and the mountain hair in scats of the red fox. **Journal of Zoology**, London, v. 242, p. 370-375, 1997.
- WORLD RESOURCES INSTITUTE (WRI) **World resources 1990-1991**. New York/Oxford: Oxford University Press, 383 p., 1990.
- ZAR, S. H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey, Prentice Hall, 3rd edition, 662 + 256p. 1996.

7 – ANEXOS

7.1 – ANEXO I: Fotografias das lâminas preparadas pelas técnicas avaliadas

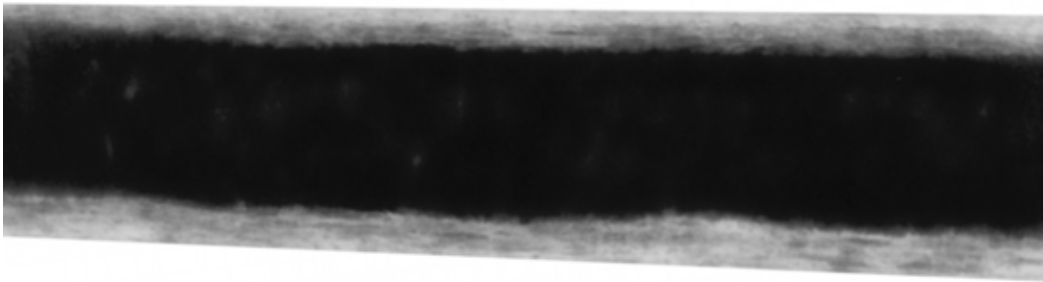


Figura 7 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* sem preparação da medula (aumento 400x).



Figura 8 – Região *shield* de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pela técnica de Mayer (1952) (aumento 400x).

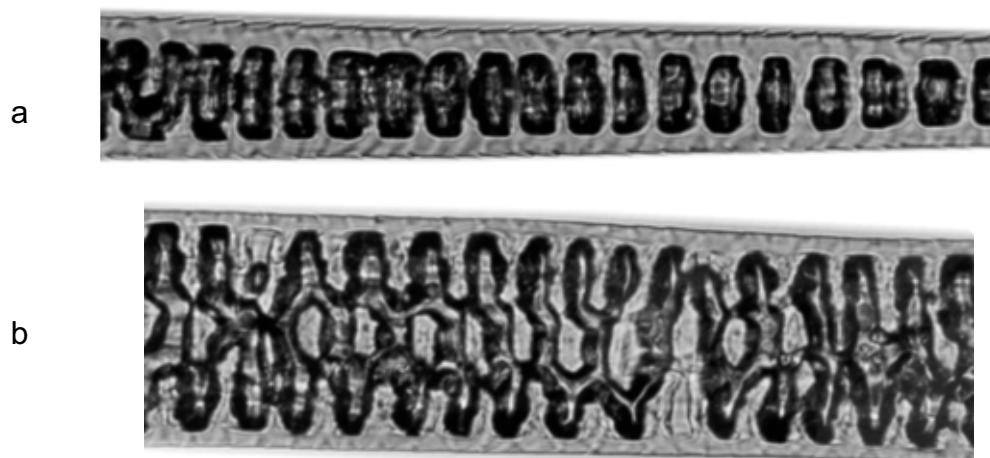


Figura 9 – Ponta (a) e região *shield* (b) de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pela técnica de Fernandez e Rossi (1998) (aumento 400x).



Figura 10– Região *shield* de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pela técnica de Fernandez e Rossi (1998) quando deixado por alguns dias em glicerina (aumento 400x).

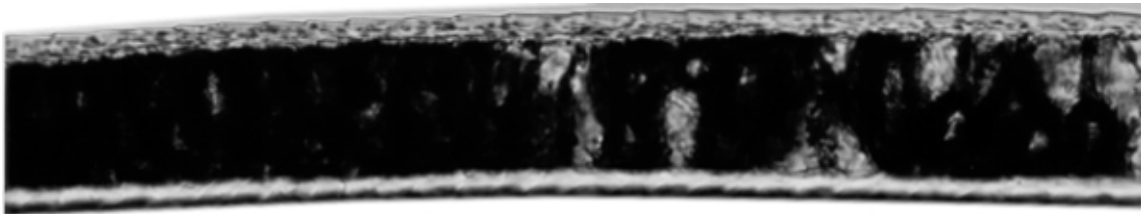


Figura 11 – Região mediana de um pêlo de *Sciurus sp* preparado pela técnica de Técnica de Quadros (2002) (aumento 400x).



Figura 12 – Região basal de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pela técnica de Técnica de Quadros (2002) (aumento 400x).



Figura 13 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pela técnica de Brunner e Coman (1974) (aumento 400x).



Figura 14 – Região *shield* de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pelo novo procedimento com pouca pigmentação na medula (aumento 400x).



Figura 15 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pelo novo procedimento com pigmentação moderada da medula (aumento 400x). Neste caso torna-se fácil a percepção do real padrão da medula.



Figura 16 – Região basal de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pelo novo procedimento com pouca pigmentação na medula (aumento 400x).



Figura 17 – Região basal de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pelo novo procedimento, ainda com intensa pigmentação na medula (aumento 400x).



Figura 18 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado pelo novo procedimento e totalmente despigmentado (aumento 400x).

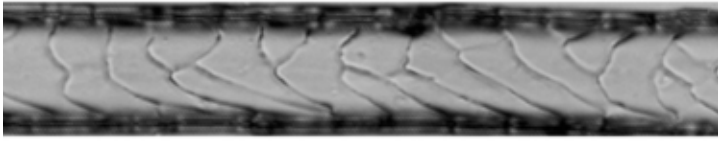


Figura 19 – Região basal de um pêlo de *Akodon sp* preparado com cola branca (aumento 400x).



Figura 20 – Ponta de um pêlo de *Akodon sp* preparado com esmalte (aumento 400x).

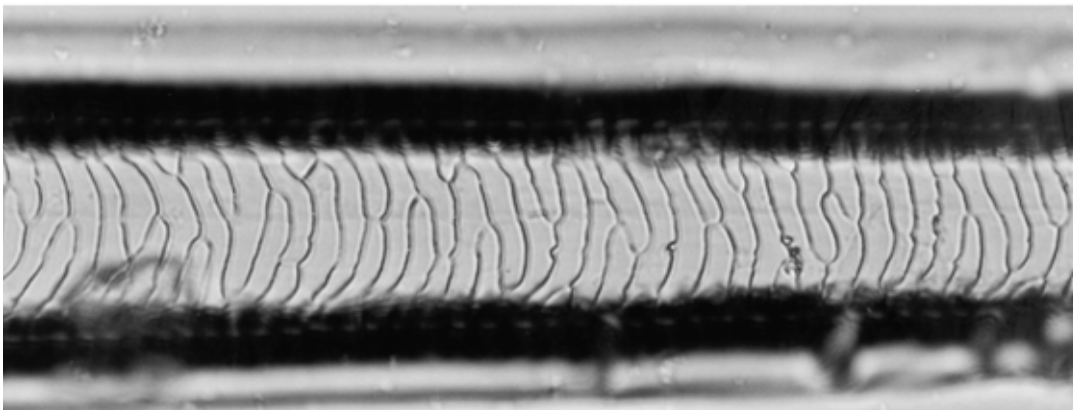


Figura 21 – Região basal de um pêlo de *Sciurus sp* preparado com esmalte (aumento 400x).

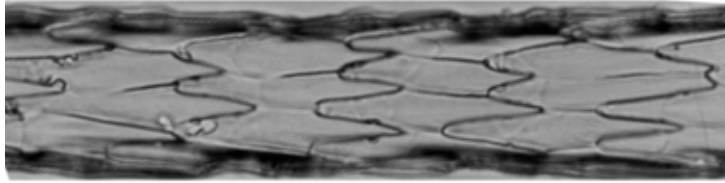


Figura 22 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado com cola de PVC (aumento 400x).

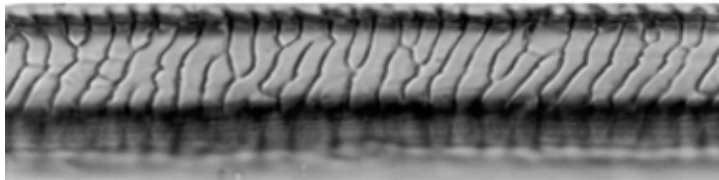


Figura 23 – Região basal de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado com cola de PVC (aumento 400x).

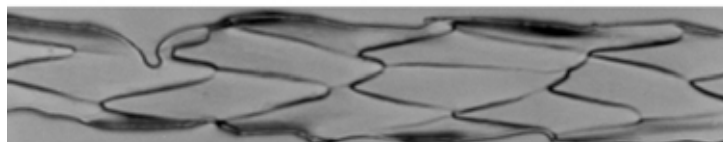


Figura 24 – Região mediana de um pêlo de *Oryzomys sp* preparado com cola de PVC (aumento 400x). Na parte direita da foto é possível perceber que a impressão não ficou uniforme.

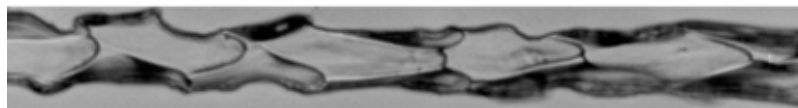


Figura 25 – Região basal de um pêlo de *Oryzomys sp* preparado com cola de PVC (aumento 400x). Na parte esquerda da foto a impressão ficou com borda e na direita é possível perceber algumas irregularidades.

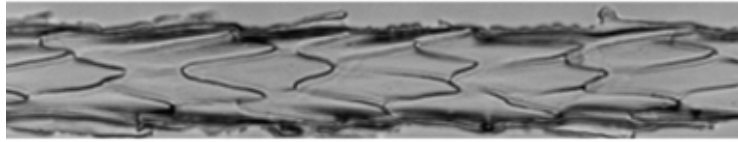


Figura 26 – Região mediana de um pêlo de *Oryzomys sp* preparado com cola de PVA (aumento 400x). Nota-se uma pequena borda no entorno da impressão.



Figura 27 – Região basal de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado com cola de PVA (aumento 400x). Nota-se uma pequena borda no entorno da impressão.



Figura 28 – Região mediana de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado com PEBD (Polietileno de Baixa Densidade) (aumento 400x). Nota-se uma pequena borda no entorno da impressão.

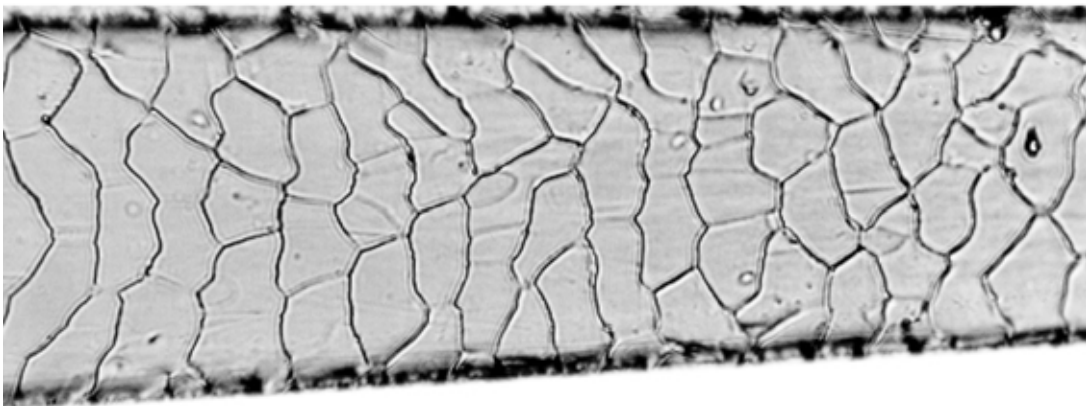


Figura 29 – Região *shield* de um pêlo de *Oryzomys sp* preparado com PEBD (Polietileno de Baixa Densidade) (aumento 400x). Nota-se uma pequena borda no entorno da impressão.

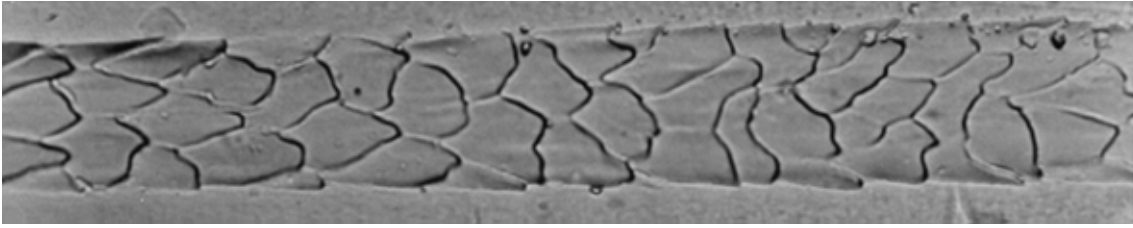


Figura 30 – Região mediana – *shield* de um pêlo de *Olygoryzomys sp* preparado com PEBD (Polietileno de Baixa Densidade) (aumento 400x). Nota-se a ausência de borda no entorno da impressão.

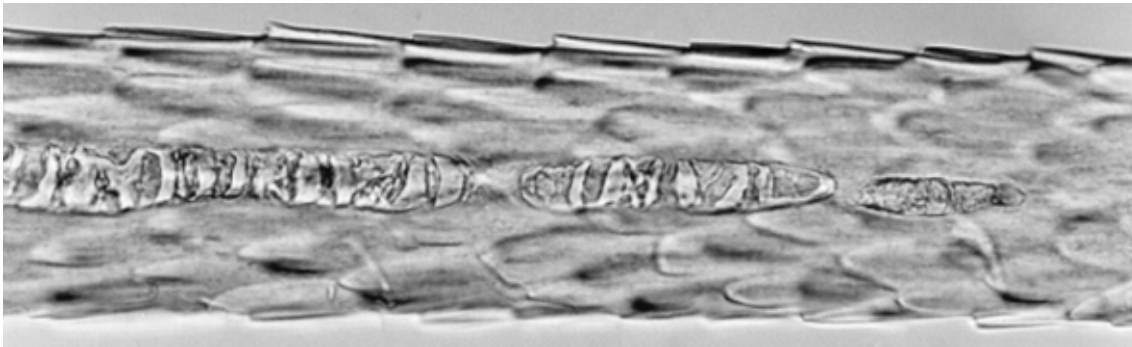


Figura 31 – Região *shield* de um pêlo de *Sciurus sp* preparado com a técnica para observação de padrão cuticular de pêlos antigos (aumento 400x).

7.2 – ANEXO II: Fotografias dos padrões medulares e cuticulares

Padrões Cuticulares

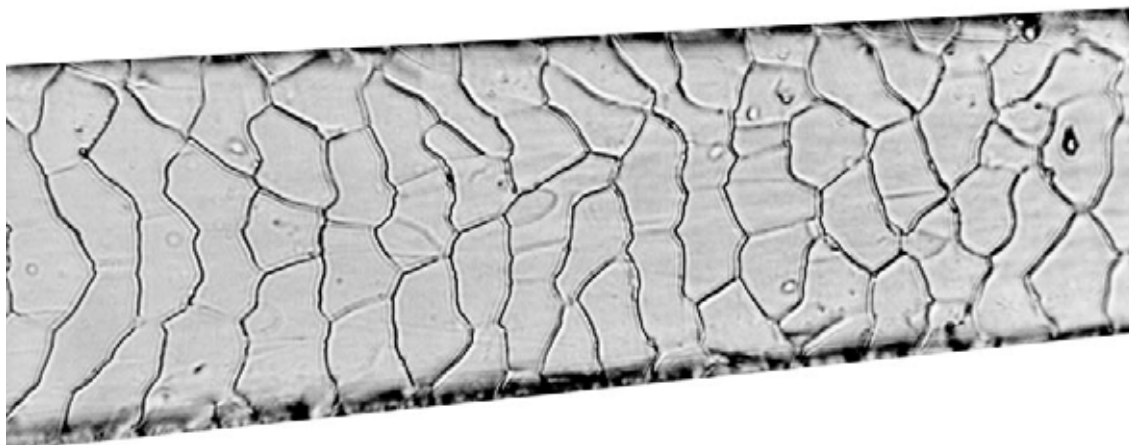


Figura 32 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo irregular mosaic (aumento 400x).



Figura 33 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Broad Petal (aumento 400x).

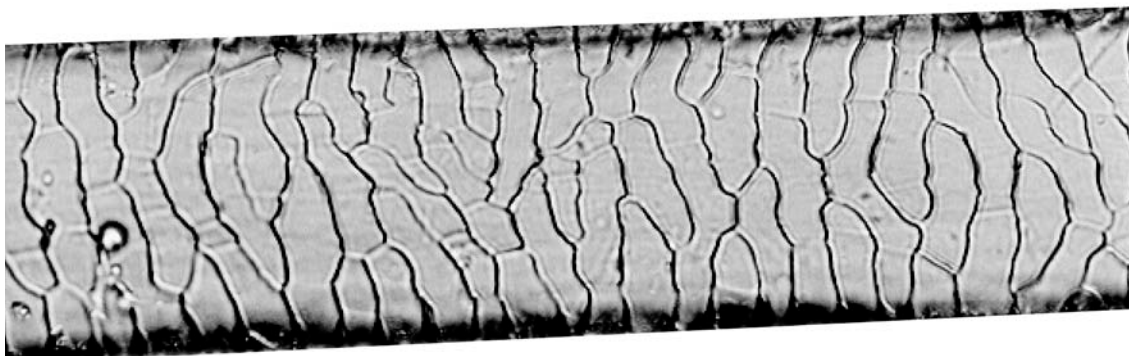


Figura 34 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Regular Wave Mosaic (aumento 400x).



Figura 35 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Flattened Irregular Mosaic (aumento 400x).

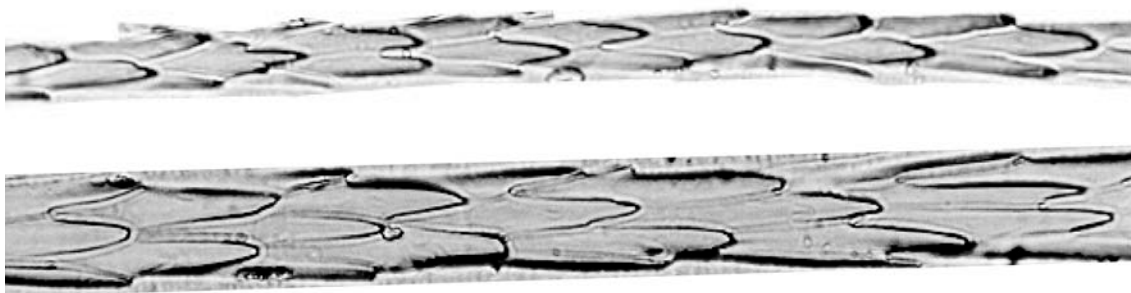


Figura 36 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Narrow Diamond Petal (aumento 100x).

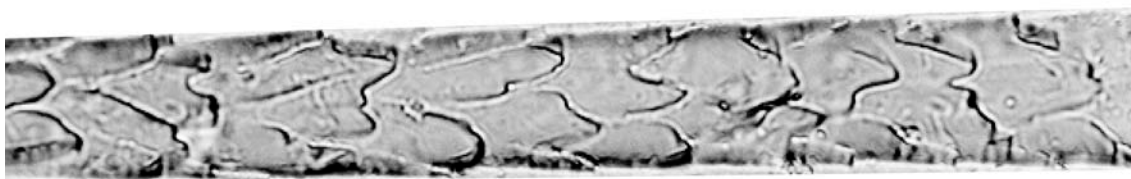


Figura 37 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Irregular Petal (aumento 400x).



Figura 38 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Transitional (aumento 400x).

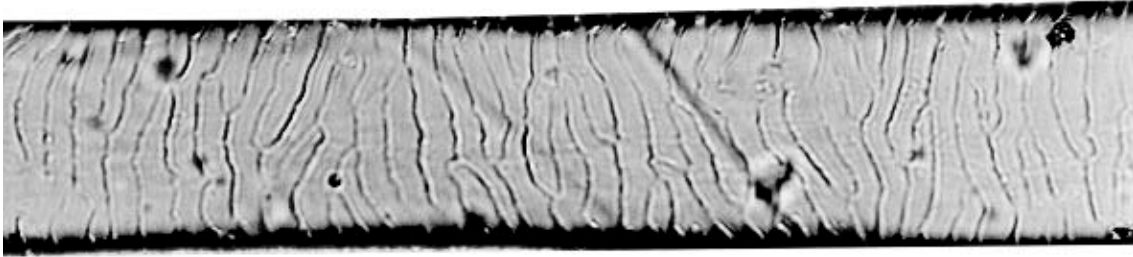


Figura 39 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Irregular Wave (aumento 400x).

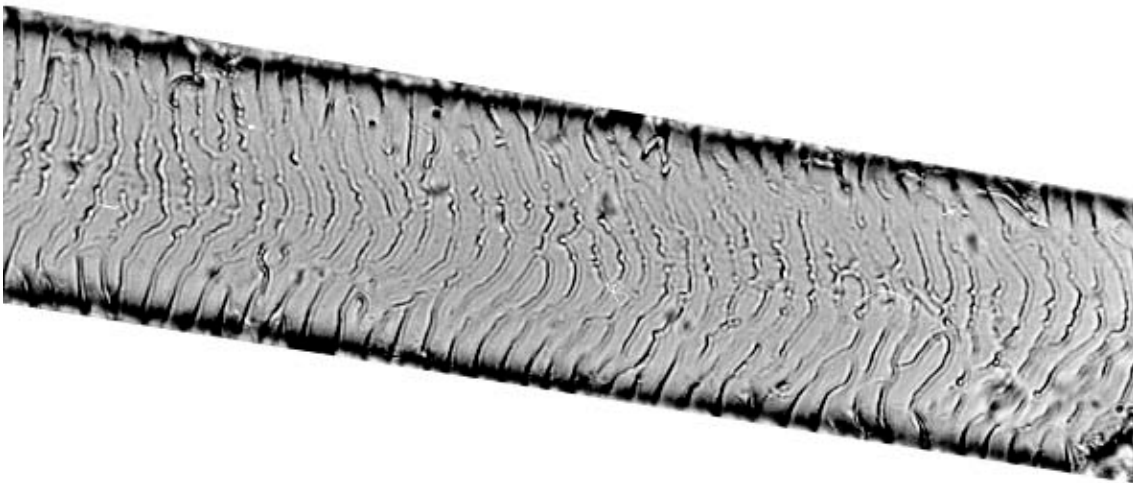


Figura 40 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Regular Wave (aumento 400x).

Padrões Medulares



Figura 40 – Fotografia de um padrão medular do tipo Uniserial ladder (aumento 400x).



Figura 41 – Fotografia de um padrão medular do tipo Narrow Aeriform Lattice (aumento 400x).

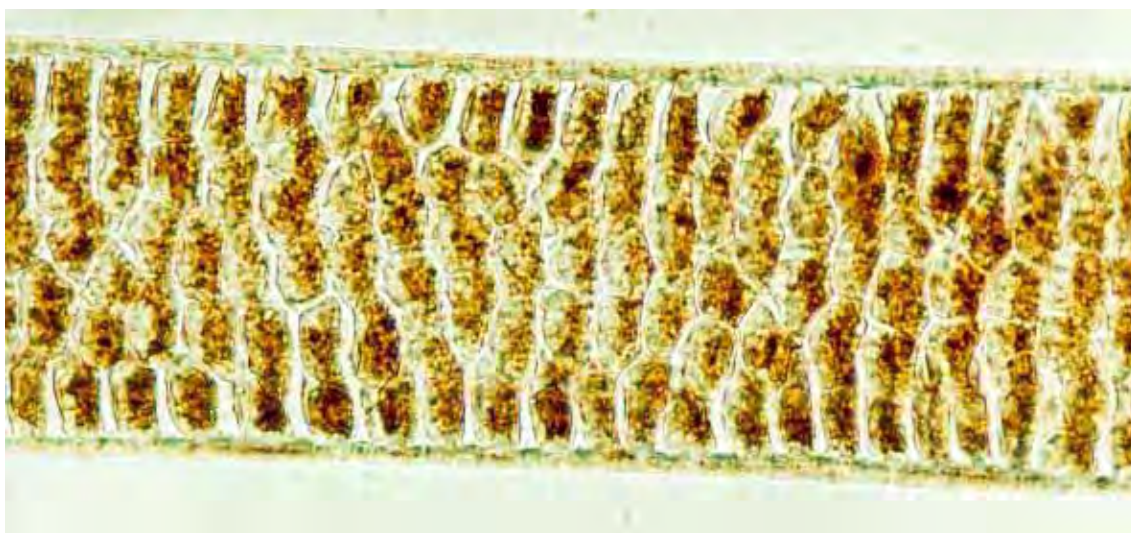


Figura 42 – Fotografia de um padrão medular do tipo Wide Aeriform Lattice (aumento 400x).



Figura 43 – Fotografia de um padrão medular do tipo Narrow Medulla Lattice (aumento 400x).

3 – ANEXO III: Fotografias dos padrões medulares e cuticulares de *Agouti paca* e *Trinomys iheringi*

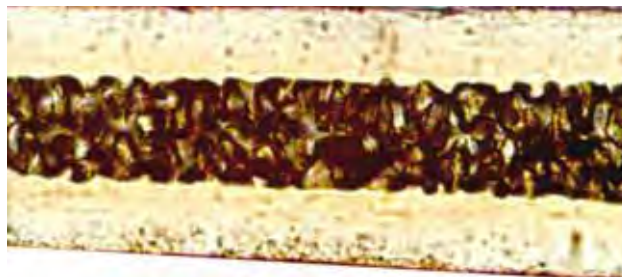


Figura 44 – Fotografia de um padrão medular do tipo Globular da região mediana de um pêlo de *Agouti paca* (aumento 400x).

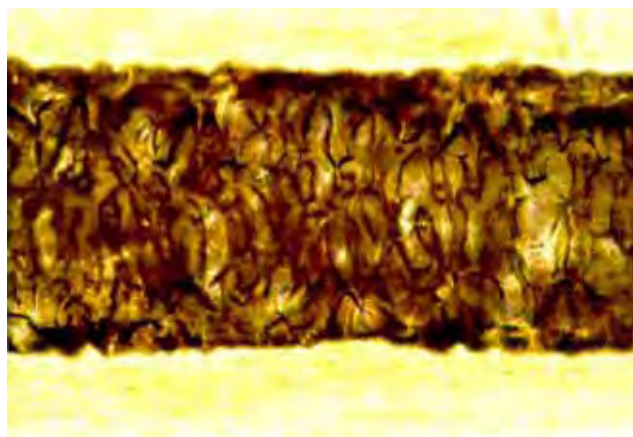


Figura 45 – Fotografia de um padrão medular do tipo Globular da região Shield de um pêlo de *Agouti paca* (aumento 400x).

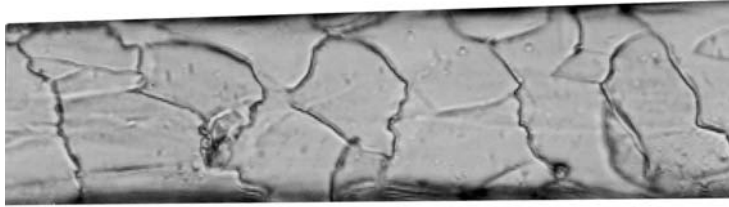


Figura 46 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Irregular Mosaic da região sub-basal de um pêlo de *Agouti paca* (aumento 400x).

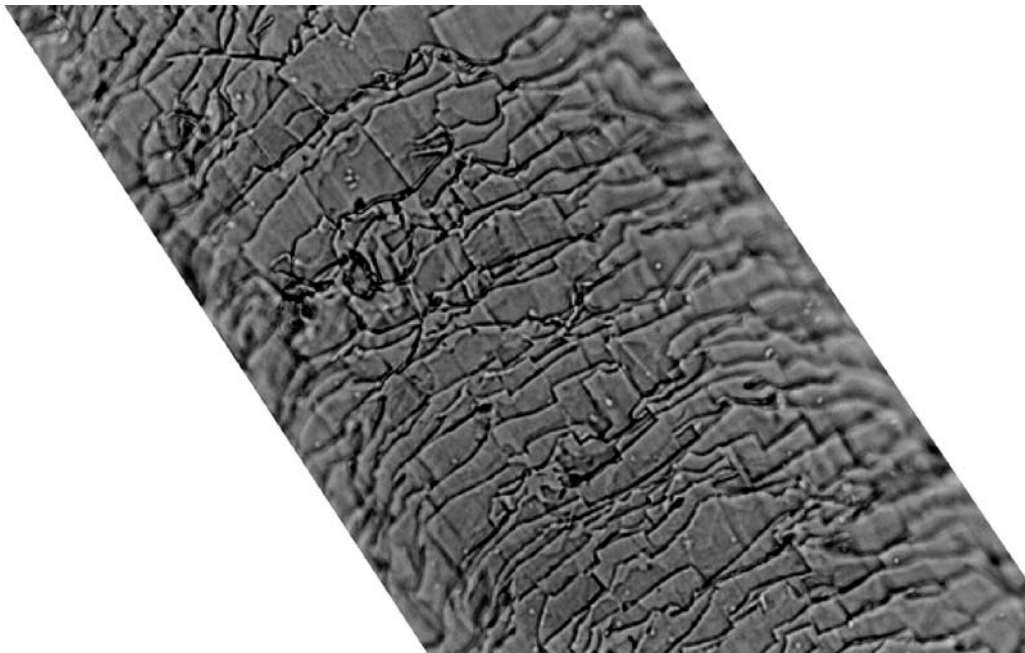


Figura 47 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Streaked da região Shield de um pêlo de *Agouti paca* (aumento 400x).



Figura 48 – Fotografia de um padrão Medular do tipo Wide Aeriform Lattice da região basal de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 40x).

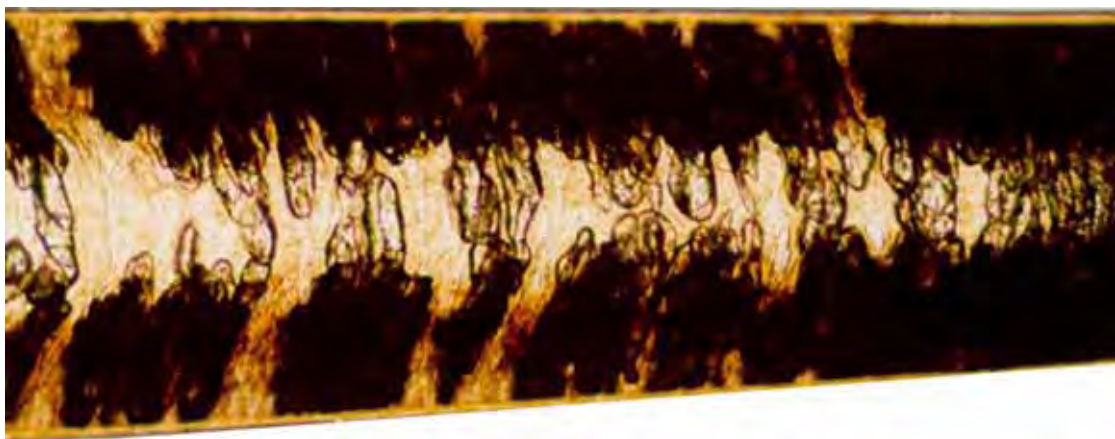


Figura 49 – Fotografia de um padrão Medular do tipo Wide Aeriform Lattice da região mediana de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 100x).

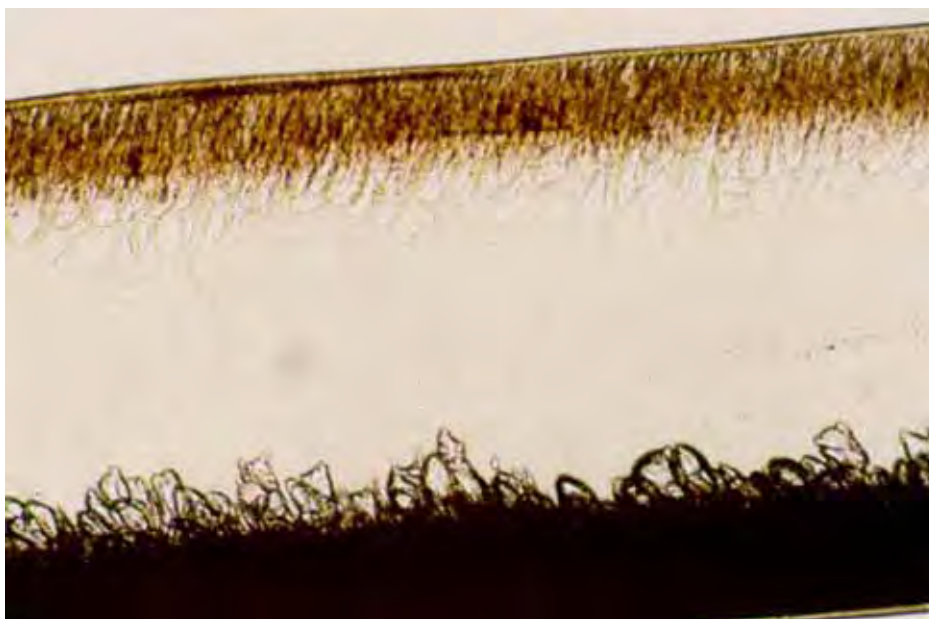


Figura 50 – Fotografia de um padrão Medular do tipo Wide Aeriform Lattice da região shield de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 40x).

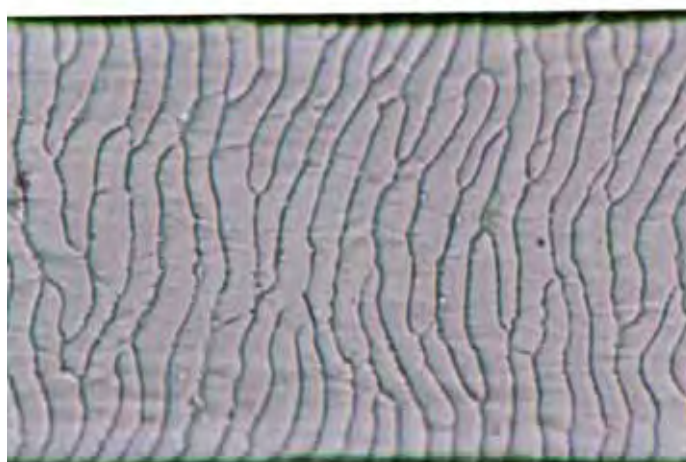


Figura 51 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Regular Wave da região sub basal de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 400x).

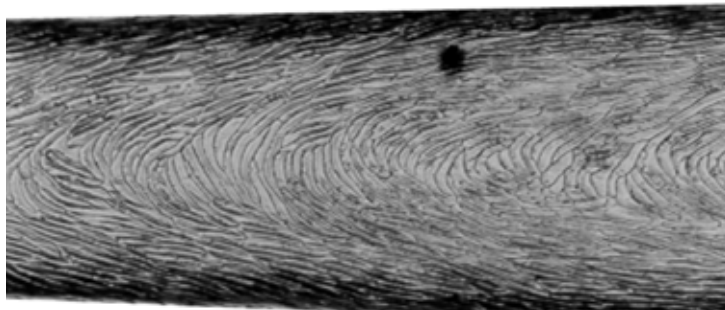


Figura 52 – Fotografia de um padrão cuticular do tipo Streaked Wave da região mediana de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 40x).

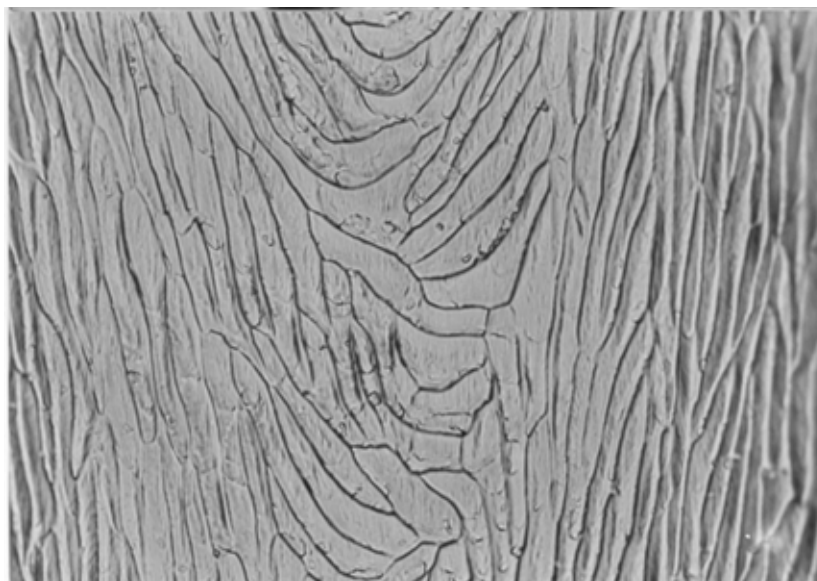


Figura 53 – Fotografia da parte central de um padrão cuticular do tipo Streaked Wave da região shield de um pêlo de *Trinomys iheringi* (aumento 100x).


**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)**

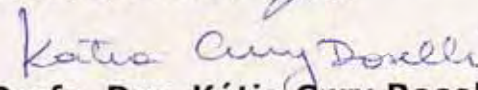
TESE DE DOUTORADO defendida em 27/05/2009

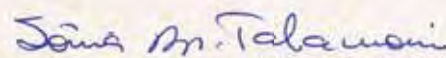
**"Avaliação de Características Morfológicas e Morfométricas
dos Pêlos de Roedores da Mata Atlântica do Estado de São
Paulo".**

MARCELO ANTONIO HARADA PENNA


Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Nivar Gobbi


Profa. Dra. Kátia Cury Roselli


Profa. Dra. Sonia Aparecida Talamoni


Profa. Dra. Eliana Ferraz Santos


Prof. Dr. Ricardo Tadeu Santori