

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E
MOLECULAR DE *Mazama gouazoubira* (ARTIODACTYLA,
CERVIDAE) A PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL**

**Carolina Heloisa de Souza Borges
Zootecnista**

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E
MOLECULAR DE *Mazama gouazoubira* (ARTIODACTYLA,
CERVIDAE) A PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL**

Carolina Heloisa de Souza Borges

Orientador: Prof. Dr. José Mauricio Barbanti Duarte

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Genética e Melhoramento Animal**

2017

Borges, Carolina Heloisa de Souza
B732c Caracterização morfológica, citogenética e molecular de *Mazama gouazoubira* (Artiodactyla, Cervidae) a partir de um topótipo atual / Carolina Heloisa de Souza Borges. – – Jaboticabal, 2017
v, 99 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: José Mauricio Barbanti Duarte
Banca examinadora: Fausto Foresti, Vitor Fernandes O. de Miranda
Bibliografia

1. Neótipo. 2. Veado-catingueiro. 3. Filogenia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:639.111.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE *Mazama gouazoubira* (ARTIODACTYLA, CERVIDAE) A PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL

AUTORA: CAROLINA HELOISA DE SOUZA BORGES

ORIENTADOR: JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE

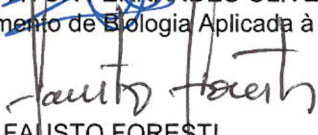
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. FAUSTO FORESTI
Departamento de Morfologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Jaboticabal, 28 de agosto de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAROLINA HELOISA DE SOUZA BORGES - Nascida em 17 de outubro de 1990, na cidade de Vinhedo, SP, Brasil, graduou-se em Zootecnia em 2014, pela Unesp, campus de Ilha Solteira. Em março de 2015, ingressou no mestrado no Programa de Genética e Melhoramento Animal da Unesp (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal) sob orientação do Prof. Dr. José Mauricio Barbanti Duarte. Durante o mestrado, a aluna recebeu financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

*Não gaste a riqueza do tempo com lamentações improfícuas,
nem destruas o valor das horas no fogo da agitação.
Cala-te e pensa.
Sofrestes talvez prejuízos enormes.
Provavelmente caíste em erro.
Padeces desenganos que jamais esperaste.
Encontraste problemas que te parecem insolúveis.
Fracassaste naquilo que entendias como sendo o melhor em teu favor.
Entretanto, queixas e aflições vazias não te amparam de modo algum.
Reflete em teu arsenal interior de recursos e bênçãos
e surpreenderás um tesouro de energias em ti mesmo,
cujo acesso descobrirás,
meditando simplesmente nestas duas palavras:
- Posso recomeçar!*

Emmanuel

**À minha vó Dirce (*in memorian*),
mulher guerreira, meu exemplo de bondade e força,
e quem me criou com o maior amor do mundo.
Dedico.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Ao **Prof. Dr. José Mauricio Barbanti Duarte**, pela oportunidade de realização deste trabalho, pela confiança, conselhos e pelas ótimas palestras sobre conservação e genética.

Ao técnico do laboratório **João Airton Boer**, pela amizade, conversas, causos e desabafos e também por toda ajuda no laboratório.

Ao **Prof. Dr. Vitor Miranda**, por toda ajuda com a molecular e pela abertura do seu laboratório para o processamento de algumas amostras.

À **Dra. Iara Maluf Tomazella**, pela amizade, por toda ajuda com a citogenética e pelo interesse contínuo no meu trabalho.

Ao **Dr. Elias Carnelossi**, pela disponibilidade e ajuda com as análises moleculares.

Ao **José Luis Cartes**, por todo auxílio nas coletas no Paraguai.

Aos integrantes e ex-integrantes do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), pela boa convivência, trabalho em equipe e confraternizações, especialmente ao pessoal da Genética, **Elu, Jorge, Lorena, Aline, Louise e Yuki**, e às IC's **Nadime, Gabi e Maraya**.

À toda minha família pelo apoio e amor incondicional, especialmente à minha princesa, **Valentina**, minha mãe, **Patrícia** e meu pai, **João**, minha madrinha **Durva** e minhas tias **Vera, Flávia e Rose**, meus tios **Ginho, Zé e Tedy** (*in memoriam*) e à todos os meus primos.

Ao **Dilier**, por toda força, carinho e incentivo na reta final deste trabalho.

Às minhas irmãzinhas **Isa**, **Valéria** e **Thais**, pela amizade sincera, conselhos e companheirismo.

Aos amigos de Ilha, **Maria Carol**, **Ningão** e **Di**, que mesmo distantes sempre estiveram presentes.

À todo pessoal de Jabuka, especialmente ao **Juvenal** e à **Lilly** e aos irmãos do Centro Espírita Universal, pela palavra amiga sempre nas horas de aperto.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, em especial ao departamento de Zootecnia e ao Setor de Animais Silvestres, e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal.

A todos que aqui não citei, mas de alguma forma contribuíram com essa conquista.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1. Gênero <i>Mazama</i> Rafinesque 1817	8
2.2. <i>Mazama gouazoubira</i> (Fischer, 1814).....	12
2.3. Citogenética de <i>Mazama gouazoubira</i>	20
2.4. Filogenia de <i>Mazama gouazoubira</i>	23
2.5. Neótipo.....	24
3. OBJETIVOS	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Permissão de coleta.....	26
4.2 Pesquisa da localização do holótipo	26
4.3 Obtenção do animal e amostras.....	27
4.4 Análise Morfológica	29
4.4.1 Biometria	29
4.4.2 Morfologia externa.....	30
4.4.3 Medidas cranianas e do pós-crânio	30
4.5 Análise Citogenética.....	36
4.5.1 Cultivo Celular	36
4.5.1.1 Semeadura	36
4.5.1.2 Repique	37
4.5.1.3 Congelamento de fibroblastos	37
4.5.1.4 Colheita de células	37
4.5.2 Preparação das lâminas.....	38

4.5.3 Coloração convencional Giemsa	38
4.5.4 Biometria Cromossômica	38
4.5.5 Bandas G	39
4.5.6 Bandas C.....	39
4.5.7 Coloração Ag-RON	40
4.6 Análise Filogenética	40
4.6.1 Extração de DNA.....	40
4.6.2 Quantificação do DNA.....	41
4.6.3 Amplificação, purificação e sequenciamento de genes mitocondriais	41
4.6.4 Análise dos eletroferogramas e alinhamento	43
4.6.5 Análises Filogenéticas.....	48
4.6.5.1 Seleção do melhor modelo evolutivo.....	48
4.6.5.2 Máxima Verossimilhança.....	48
4.6.5.3 Inferência Bayesiana	48
5. RESULTADOS.....	48
5.1 Pesquisa da localização do holótipo	48
5.2 Morfologia, biometria e craniometria	50
5.3 Citogenética.....	64
5.4 Análise filogenética	72
6. DISCUSSÃO	77
5.1 Morfologia	77
5.2 Citogenética	78
5.3 Análise filogenética baseada em DNA mitocondrial	81
5.4 Validade do neótipo	82
7.CONCLUSÃO	83
8. REFERÊNCIAS.....	85
APÊNDICE	94
Apêndice A	95
Permissão de coleta	95

Apêndice B	96
Tabela com dados dos espécimes utilizados na análises biométricas.....	96
Apêndice C	101
Sequências consenso do topótipo.....	101

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE
Mazama gouazoubira (ARTIODACTYLA, CERVIDAE) A PARTIR DE UM
TOPÓTIPO ATUAL**

RESUMO - O gênero *Mazama* é circundado de incertezas taxômicas devido à sua alta diversidade cariotípica inter e intra-específica, origem polifilética e convergência morfológica. O veado-catingueiro é a espécie com a maior distribuição geográfica do gênero, ocorre no Brasil (com exceção da Amazônia), Paraguai, Uruguai, Bolívia e norte da Argentina, e, por causa desta abrangência, aliada ao fato de que apresenta alta variabilidade genética, morfológica e alta frequência de polimorfismos cromossômicos, ainda restam dúvidas sobre sua taxonomia com respeito ao número de subespécies existentes e o possível desdobramento destas em espécies. Por isso, o objetivo deste trabalho foi propor um neótipo para a espécie, através da caracterização de um espécime coletado na localidade tipo (topótipo), e assim auxiliar no esclarecimento da taxonomia de *Mazama gouazoubira*. O topótipo foi caracterizado por técnicas de morfologia tradicional (medidas cranianas e do pós-crânio, coloração da pelagem, biometria corporal), por análises citogenéticas (banda C, banda G, coloração Ag-RON, coloração convencional Giemsa) e moleculares (análises filogenéticas de genes mitocondriais). Pesquisas feitas em museus internacionais confirmam que o holótipo da espécie não existe, cumprindo requisito necessário para a proposta de neotipificação. O topótipo corroborou com os padrões morfológicos, citogenéticos e moleculares já descritos para o veado-catingueiro e por meio das análises comparativas com outros indivíduos da espécie e outros táxons do gênero, ficou claro que pertence à *M. gouazoubira*, permitindo a proposta de um neótipo para o táxon.

Palavras-chave: neótipo, Mammalia, filogenia, veado-catingueiro

**MORFOLOGIC, CITOGENETICS AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF
Mazama gouazoubira (ARTIODACTYLA, CERVIDAE) FROM A CURRENT
TOPOTYPE**

ABSTRACT - The genus *Mazama* is surrounded by taxonomic uncertainties due to its polyphyletic origin, high inter and intra-specific karyotype diversity and morphological convergence. The brown brocket deer is the species with the highest geographic distribution of the group due to its high ecological plasticity and because of this range, ally to the fact that presents high morfological and genetic divergence and high frequency of chromosomal polymorphisms, there are still doubts about the number of subspecies existing and the unfolding of these in species. Therefore, the objective of this work was to propose a neotype for *M. gouazoubira* through a characterization of a specimen collected in the type locality (topotype), and in this way, help to clarify the taxonomy of *Mazama gouazoubira*. The topotype was characterized by traditional morphological techniques (cranial measurements, skin color and body biometry), as well as by cytogenetic (C band, G band, Ag-NOR staining, conventional Giemsa staining) and molecular analyzes (phylogenetic analyzes of mitochondrial genes). After an extensive research in scientific collections, the results confirm the holotype does not exists, filling a necessary prerequisite for neotypification. The topotype corroborates the morphological, cytogenetic and molecular patterns already described in the literature for the brown brocket deer and through comparative analysys with other specimens and other taxons of the genus it is clear that the topotype belongs to *M. gouazoubira*, allowing the proposal of a neotype for the taxon.

Keywords: neotype, Mammalia, phylogeny, brown brocket deer

1. INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Mazama* foram agrupadas neste táxon por apresentarem caracteres morfológicos semelhantes, como estatura pequena a média, chifres curtos, lisos e não ramificados. Entretanto, elas não são evolutivamente próximas, tratando-se de um caso de convergência morfológica entre grupos de cervídeos adaptados a viver em ambientes densamente vegetados (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008). Desta maneira, diversos autores já relataram sua origem polifiética (GILBERT; ROPIQUET; HASSANIN, 2006; DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008; HASSANIN et al., 2012) e tem-se sugerido a criação de mais dois gêneros para alocar as espécies *Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga* (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008; FIGUEIREDO, 2014). Na citogenética também mostra aspectos intrigantes, como grande variação intra e interespecífica do número diplóide de cromossomos, e, fragilidade cromossômica, que ocasiona quebras e rearranjos, e estes, quando fixados, podem acarretar isolamento reprodutivo, sendo o principal mecanismo de especiação nestes cervídeos (DUARTE; MERINO, 1997).

Em virtude das características singulares desse agrupamento, surgem questionamentos sobre a existência de táxons não identificados mascarados dentro de complexos de espécies, como ocorre, por exemplo, no caso de *Mazama americana*, em que há no mínimo duas espécies diferenciadas (ABRIL et al., 2010). Assim, reforça-se a urgência de uma grande revisão taxonômica do grupo, que deve ser iniciada pelos espécimes utilizados na descrição das espécies, os holótipos.



Figura 1. Exemplar macho da espécie *Mazama gouazoubira* (Foto: J. M. B. Duarte).

Mazama gouazoubira (Figura 1) é conhecida popularmente como veado-catingueiro e apresenta a maior distribuição geográfica do gênero em razão da sua alta plasticidade ecológica. Ocorre no Brasil, Paraguai, Uruguai, Bolívia e Argentina (Figura 2) e por causa desta abrangência, ainda existem dúvidas a respeito do número de subespécies existentes e o desdobramento destas em espécies. Além disso, exibe alta porcentagem de polimorfismos cromossômicos, como cromossomos B e translocações cromossômicas (DUARTE, 1992; DUARTE; JORGE, 1996; VALERI, 2014; TOMAZELLA, 2016), as quais dependendo do número e dos cromossomos envolvidos, podem gerar infertilidade em heterozigose e, quando em homozigose, se fixadas na população, especiação em curto espaço de tempo (PINDER; LEEUWENBERG, 1997). O holótipo do táxon não existe e por isso, sua caracterização fica inviabilizada e, mesmo que fosse possível analisá-lo, a análise citogenética, que necessita de células vivas, seria inexequível. Tal ferramenta é de importância vital para o grupo devido ao seu papel na diferenciação de algumas espécies (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008; ABRIL et al, 2010; RINCÓN, 2016).



Figura 2. Área de distribuição de *Mazama gouazoubira* na América do Sul (BLACK-DÉCIMA et al., 2010, com modificações).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi contribuir com a resolução das incertezas taxonômicas do gênero *Mazama*, revelando os padrões morfológicos, citogenéticos e moleculares de um indivíduo coletado na localidade tipo (topótipo) e propô-lo neste trabalho como o neótipo da espécie *Mazama gouazoubira*. Isso gerará a possibilidade de descrição de novas espécies no gênero, hoje praticamente impossível pela inexistência de material do holótipo para comparação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gênero *Mazama* Rafinesque, 1817

A família Cervidae surgiu na Eurásia no início do Mioceno (GILBERT; ROPIQUET; HASSANIN, 2006) e é constituída por 17 gêneros distribuídos no mundo, com exceção dos extremos polares (EISENBERG; REDFORD, 1999). Durante o limite entre o Mioceno e o Plioceno, com a formação do estreito de Bering, ancestrais da tribo

Odocoileini (*Blastoceros*, *Hippocamelus*, *Mazama*, *Odocoileus*, *Ozotoceros*, *Pudu*) adentraram o continente americano (HASSANIN et al., 2012). Mais tarde, há aproximadamente 2,5 milhões de anos, cerca de oito táxons, através do istmo do Panamá, entraram na América do Sul e passaram por uma rápida radiação adaptativa, originando as formas atualmente conhecidas de cervídeos do neotrópico (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008). Tais táxons se dividem em dois morfotipos distintos: espécies com estatura maior e chifres grandes e ramificados, pertencentes aos gêneros *Blastoceros*, *Hippocamelus*, *Ozotoceros* e *Odocoileus*; e espécies de estatura pequena a média, com chifres curtos, lisos e não ramificados, representadas pelos gêneros *Mazama* e *Pudu*. Estes, muito semelhantes externamente, diferenciam-se apenas por uma fusão entre os ossos cuneiforme e navicular-cuboide presente no último (EISENBERG; REDFORD, 1999).

Dentro do gênero *Mazama*, atualmente são reconhecidas dez espécies: *Mazama americana* (Erxleben 1777), *Mazama rufina* (Pucheran 1951), *Mazama gouazoubira* (Fischer 1814), *Mazama nemorivaga* (Cuvier 1817), *Mazama nana* (Hensel 1872), *Mazama bricenii* (Thomas 1908), *Mazama chunyi* (Herskovitz 1959) e *Mazama bororo* (Duarte 1996), espécies com ocorrência na América do Sul; *Mazama pandora* (Merriam 1901) e *Mazama temama* (Kerr 1792), espécies com ocorrência na América Central. O agrupamento destes pequenos cervídeos neste táxon por naturalistas dos séculos 19 e 20 (RAFINESQUE, 1817; LYDEKKER, 1898; THOMAS, 1913; ALLEN, 1915; MIRANDA-RIBEIRO, 1919) aparenta ser medida certa utilizando o critério morfológico, porém, em abordagens moleculares e citogenéticas, este grupo mostra muitas inconsistências devido à altos graus de convergência adaptativa (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008).

Mazama é artificial e sua origem polifilética já foi extensamente relatada na literatura: Gilbert, Ropiquet e Hassanin (2006) utilizando genes mitocondriais codificantes (cyt. *b*, COII) e íntros nucleares (α LacAlb, PRKC1); Hassanin et al. (2012) em análise com mitogenoma; Figueiredo (2014) através dos genes Cit *b*, COI, IL16 e MGF. Um estudo mais abrangente de cervídeos da América do Sul separou o grupo em dois clados com alto suporte estatístico, que divergiram há 5 milhões de anos: o clado dos veados cinzas, endêmico da América do Sul, que inclui *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga*, e representantes dos gêneros *Blastoceros*, *Hippocamelus* e *Ozotoceros*; e

o clado dos veados vermelhos, composto por *M. nana*, *M. bororo*, duas linhagens divergentes de *M. americana*, *M. temama* e espécies do gênero *Odocoileus* (Figura 3) (Duarte; González; Maldonado, 2008).

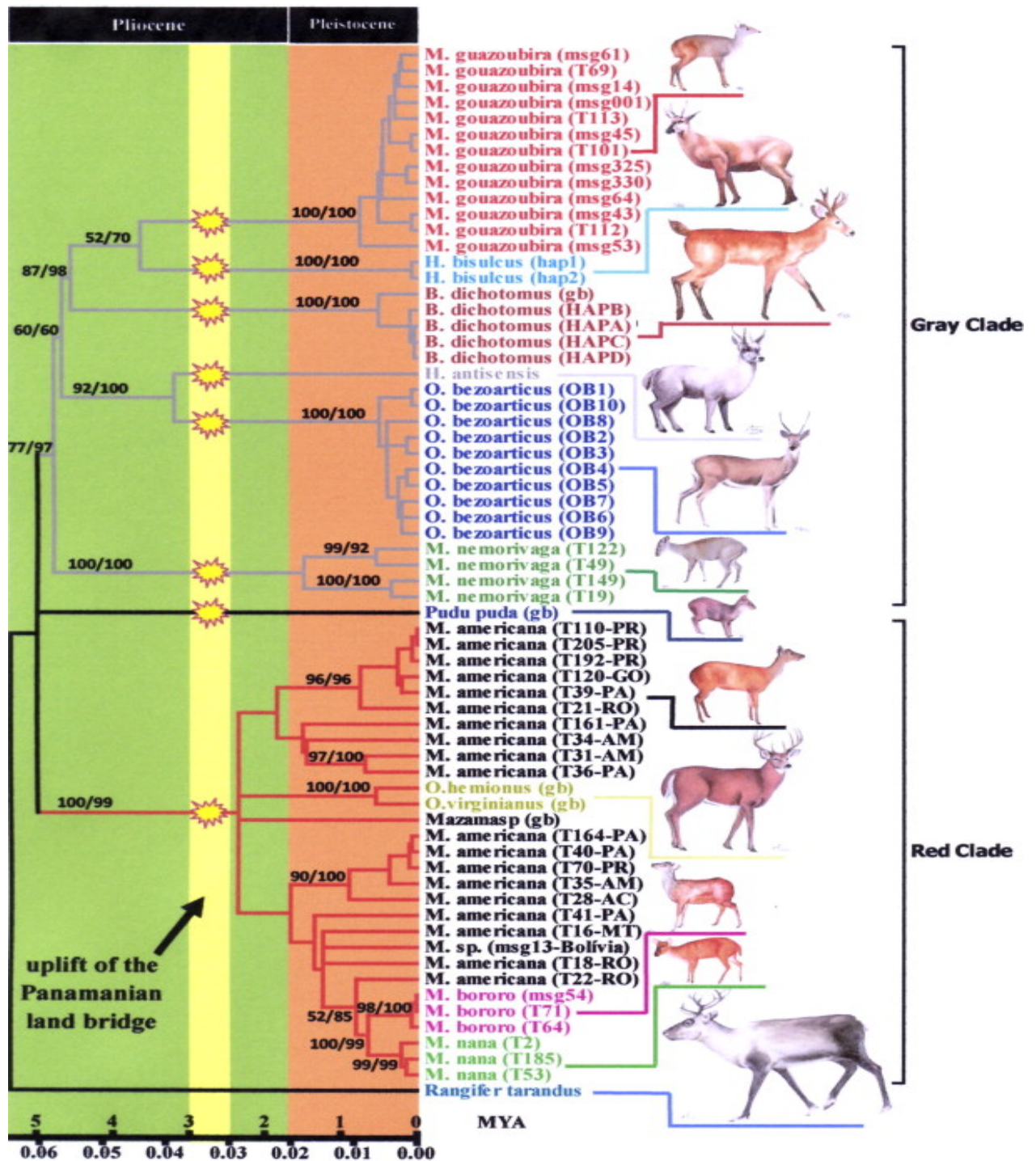


Figura 3. Filogenia das espécies de cervídeos da América do Sul utilizando um fragmento de 935 pb do gene do citocromo B (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008).

Dentro do clado dos cinzas, *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga* não possuem um ancestral comum exclusivo e, devido a isso e evidências citogenéticas, é reconhecido a separação destes táxons em diferentes gêneros (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008). *Mazama americana* é a espécie tipo do gênero *Mazama* (ALLEN, 1915), por isso, o clado dos vermelhos deve manter esta nomenclatura.

Com relação à citogenética, o grupo apresenta características surpreendentes, como alta variação cariotípica inter ($2N$ de 32 a 70) e intra-específica. Nesta situação, no caso mais notável, o número diploide de cromossomos varia de 42 a 53, em *M. americana*, compreendendo 7 variantes cariotípicas correlacionadas com a localização geográfica, denominadas citótipos (ABRIL et al., 2010). Entre os citótipos mais distantes cromossomicamente já provou-se haver isolamento reprodutivo (SALVIANO, 2011; CURSINO et al., 2014), indicando a existência de um complexo de espécies crípticas. Recentemente, em análise de um espécime coletado na localidade tipo (Guiana Francesa), Rincón (2016) encontrou que seu perfil é diferente de todos os citótipos já relatados e concluiu que, na realidade, no Brasil não existe *M. americana*, implicando grandes mudanças taxonômicas.

Em outro caso, *Mazama bororo* conseguiu ser diferenciada de *M. americana* devido a sua enorme diferença cromossômica numérica e estrutural e, através desta evidência foi validada como espécie (DUARTE; JORGE, 2003).

Algumas espécies, como *M. gouazoubira* e *M. nana*, apresentam alta frequência de rearranjos cromossômicos, como translocações Robertsonianas (DUARTE, 1992; DUARTE; JORGE, 1996; ABRIL; DUARTE, 2008; VALERI, 2014; TOMAZELLA, 2016). Tais rearranjos tendem a reduzir o número cromossômico e causam a infertilidade dos híbridos de pais com conjuntos cromossômicos diferentes devido ao desbalanço gamético na meiose, e, quando fixados na população, levam rapidamente ao isolamento reprodutivo e consequente especiação (DUARTE; MERINO, 1997).

Trabalhos recentes, incluindo táxons que não tinham sido analisados, têm trazido mais esclarecimentos sobre a complexa história evolutiva dos cervídeos do neotrópico e importantes descobertas, principalmente taxonômicas, estão acontecendo. Sarria-Perea (2012), em estudo dos *Mazama* da Colômbia, encontrou dois morfotipos que considerou como espécies novas, e que necessitam ser descritas. Também

confirmou a validade taxônomica de *Mazama zetta* (Thomas, 1913) e *Mazama cita sanctaemartae* (Allen, 1915), sendo que esta última apresenta padrão cariotípico nunca visto no grupo e deve ser colocada em um novo gênero. Figueiredo (2014) sugeriu a criação de mais dois novos gêneros para alocar as espécies *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga*. Guitiérrez et al. (2015), baseados em evidências morfológicas e moleculares, consideraram *M. bricenii* como sinônimo júnior de *M. rufina*. Escobedo-Morales (2016) descobriu que *M. pandora*, inesperadamente, é membro do clado dos veados vermelhos. Heckeberg et al. (2016) sequenciaram amostras do holótipo de *M. chunyi* e apontaram sua relação de espécie-irmã com *M. gouazoubira*. Também estabeleceram duas novas subtribos dentro da tribo Odocoileini: a subtribo Blastocerina, que consiste no clado dos cinzas mais a espécie *Pudu puda*; e a subtribo Odocoileina, que inclui o clado dos veados vermelhos. Mantellato (2016), em análise filogenética de tipos, sugeriu a validação da espécie *Mazama jucunda* Thomas 1913 e o rebaixamento de *M. bororo* como sendo sinônimo, e Rincón (2016), propôs um neótipo para a espécie *M. americana*.

2.2 *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814)

Mazama gouazoubira foi descrita pela primeira vez no Paraguai por Félix de Azara, um engenheiro espanhol, em 1801. Azara chegou ao Vice-Reino do Rio da Prata (atualmente compreende territórios do norte da Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e sul do Brasil) em 1780, a mando do vice-rei da Espanha, com a missão de demarcar a fronteira entre as colônias portuguesa e espanhola para barrar o avanço português. Por razões estratégicas, Portugal atrasou ao máximo a ida de seus representantes, fazendo com que Azara permanecesse inativo (PEREIRA, 2013). Deslumbrado com tanta diversidade, ele se interessou pelas belezas naturais da região e então, decidiu ocupar seu tempo descrevendo-a em seus diversos aspectos: relatou os problemas históricos e geográficos, confeccionou mapas, e, em seu mais notável trabalho, descreveu minuciosamente e, muitas vezes coletou, por volta de 400 espécies da fauna, utilizando como orientação apenas um livro do naturalista Buffon (AZARA, 1802).

Em 1801, publicou seu livro intitulado "Essais sur l'histoire naturelle des quadrupedes de la province du Paraguay" com uma compilação de seus achados faunísticos. Nesta publicação, o autor descreve quatro morfotipos de cervídeos que coincidem com as seguintes espécies: o cervo-do-pantanal (del Güzú-pucú, espécie nº IV), o veado-campeiro (del Güzú-tí, espécie nº V), *Mazama americana* (Güzú-pitá, espécie nº VI) e *Mazama gouazoubira* (Güzú-birá, espécie nº VII)(Figura 4).

NÚM. VII.

DEL GÜAZÚ-BIRÁ.

Así le llaman todos, y aprecian mucho su piel por excelente para antes. Al contrario la del precedente, por ser la mas gruesa, y de textura tan firme que no dá de sí. No sé que llegue al Rio de la Plata, y se parece en lo demas al precedente en el modo de cazarlo, en su habitación, costumbres, prevalecer el sexò femenino, y en la librea de los recién nacidos. Pare por enero en el Paragüay.

Longitud 46½ pulgadas, y cola 7, de las cuales las tres son pelos. Circunferencia delante 23, detras 27. Altura allí 26½, y aquí 34½. De la punta del hocico á la raiz de la oreja 7½. Esta es alta sobre la cabeza 3½, ancha 2½. La lagrimerera casi insensible, y su fisonomía mas acarnerada que en todos, porque el hocico es acaballeteado y estrecho. La punta de la oreja es algo mas redonda que en el anterior, y por consiguiente mucho mas que en el Güazú-tí.

Aunque solo tiene pelos en la borda y pliegues dentro de la oreja, son mas en número que en el Güazú-pitá, y blancos como la cola por debaxo. Lo inferior de la cabeza y los labios blanquizcos: el contorno del ojo, lo interior de los brazos hasta las uñas, y el pecho hasta las nalgas inclusivè por debaxo, blancos acanelados. El pelo largo de lo mas exterior de las asentaderas y el de sobre la cola, y desde las uñas á la primera coyuntura es acanelado, y el cuello íntegro con todo el resto pardo azulado; aunque mirado con mas cuidado se advierte que es una mezclilla, porque los pelos tienen una manchita clara cerca de la punta. Verdad es que el color en lo anterior de la cabeza, desde la rodilla al radio, y desde la corva al tarso son algo mas oscuros, y que en lo interior de la corva hay un lunar acanelado.

He visto un macho doméstico como el

PARA LA HISTORIA NATURAL. 59

descrito que conservó las cuernas mas de un año. Son rectas, agudas, lisas, mas inclinadas atras que en los precedentes, y demasiado fuertes, pues tenian 7½ líneas de diámetro en la raiz con 12 de longitud. Aseguran que algunos las tienen largas hasta 2 pulgadas; y en un macho idéntico estaban retovadas ó forradas en cuero el 24 de febrero.

En la critica del que antecede hice ver, que el *Cariacú pequeño de Guyana* indicado por mi Autor ¹, era un Güazú-birá: y en la del Güazú-tí, que lo era tambien el *Temamazamo de Recchi*.

Laborde ², despues de indicar los quatro Venados de Cayena, que no son sino tres, habla de otra especie llamándola *Cariacú*. Le da pelo gris pálido, cuernas rectas y agudas, y menor magnitud que á los demas. Todo esto, y habitar los bosques grandes, acreditan que es el Güazú-birá, y que hay en la Cayena las quatro especies que aquí. Pero se equivoca Buffon figurándose que todas son Corzos, porque solo el Güazú-tí se acerca al de Europa.

Al Güazú-birá aplicaría yo la frase de Barrere ¹: *Cervus minor palustris, corniculis brevissimis*, con tal que se borrara el *palustris*, que es incompatible con la pequeñez de cuernas y cuerpo.

Por conclusion advertiré, que Buffon ² copia las descripciones que dió Seba del *Mazamo* y *Temamazamo* de Nueva España, negando ser los de Recchi, porque estos no tienen cuernos retorcidos como los de Seba; pero yo creería mas bien, que este Autor forjó en su cabeza los cuernos retorcidos, que repugnan á todo Venado; y en lo demas trataría de ver si los Venados de Seba eran mis dos últimos, como lo presumo; pero juzgo mas prudente y útil no meterme á adivino, ni á copiante de Seba, como Klein y Brisón, y despreciar las noticias de Seba, Autor de poca exáctitud y reputacion.

¹ Tom. XXV. pág. 94. c. (a).

² Tom. id. pág. id. y siguientes.

Figura 4. Primeira descrição de *Mazama gouazoubira*, por Félix de Azara (1802).

A seguir, segue a tradução da descrição original feita por Azara:

"Assim o chamam todos e apreciam muito sua pele por ser excelente para confecção de luvas, ao contrário da pele do precedente (Güazú-pitá, espécie nº VI), por ser a mais grossa e de textura tão firme que não dá de si.

Não sei se chegou ao Rio da Prata, e se parece demais com o precedente no modo de ser caçado, no seu habitat, costumes, prevalecer o sexo feminino e nas listras dos recém-nascidos. Pari por janeiro no Paraguai. Comprimento 46 1/2 polegadas, e cauda 7, das quais três são pelos. Circunferência anterior 23, posterior 27. Altura ali 26 1/2, e aqui 34 1/2. Da ponta do nariz à raiz da orelha 7 3/4. Esta é alta sobre a cabeça 3 5/6, largura 2 1/4. O canal lacrimal quase imperceptível, e sua fisionomia mais acarnerada que nos outros, porque o nariz é acavalado e estreito. A ponta da orelha é algo mais redonda que na espécie anterior (Güazú-pitá, espécie nº VI), e por consequência, muito mais que no Güazú-tí (espécie nº V).

Ainda que só tenha pelos na borda e pregas dentro da orelha, são mais numerosos que no Güazú-pitá, e brancos como embaixo da cauda. Inferior da cabeça e lábios esbranquiçados: o contorno do olho, o interior dos braços até as unhas, e o peito até as nádegas inclusive por debaixo, brancos acanelados. O pelo comprido do mais exterior das nádegas e o pelo sobre a cauda, e desde as unhas até a primeira conjuntura é acanelado, e o pescoço inteiro com todo o resto, pardo azulado; ainda que olhado com mais cuidado se adverte que é uma mescla, porque os pelos tem uma manchinha clara próximo da ponta. Verdade é que a cor no anterior da cabeça desde o joelho ao rádio, e desde o jarrete ao tarso são algo mais escuros, e que no interior do jarrete tem uma pinta acanelada.

Vi um macho doméstico como o descrito que conservou os chifres por mais de um ano. São retos, agudos, lisos, mais inclinados atrás que nos precedentes, e demasiado fortes, pois tinham 7 1/2 linhas de diâmetro na raiz com 12 de comprimento. Asseguram que alguns os tem compridos até 2 polegadas; e em um macho idêntico estavam retovados ou forrados em couro em 24 de fevereiro."

Entretanto, Azara não seguiu o Princípio de Nomenclatura Binomial [Art. 5.1] do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, quarta edição) e por isso, sua descrição não foi levada em conta. Fischer, diretor do museu de Zoologia de Moscou,

em 1814, realizou a diagnose da espécie (*Cervus gouazoupira*, Figura 5) fundamentando-se nas observações de Azara e em material de coleção. Ambos não depositaram em nenhum museu o espécime utilizado na descrição, e portanto, o holótipo não existe.

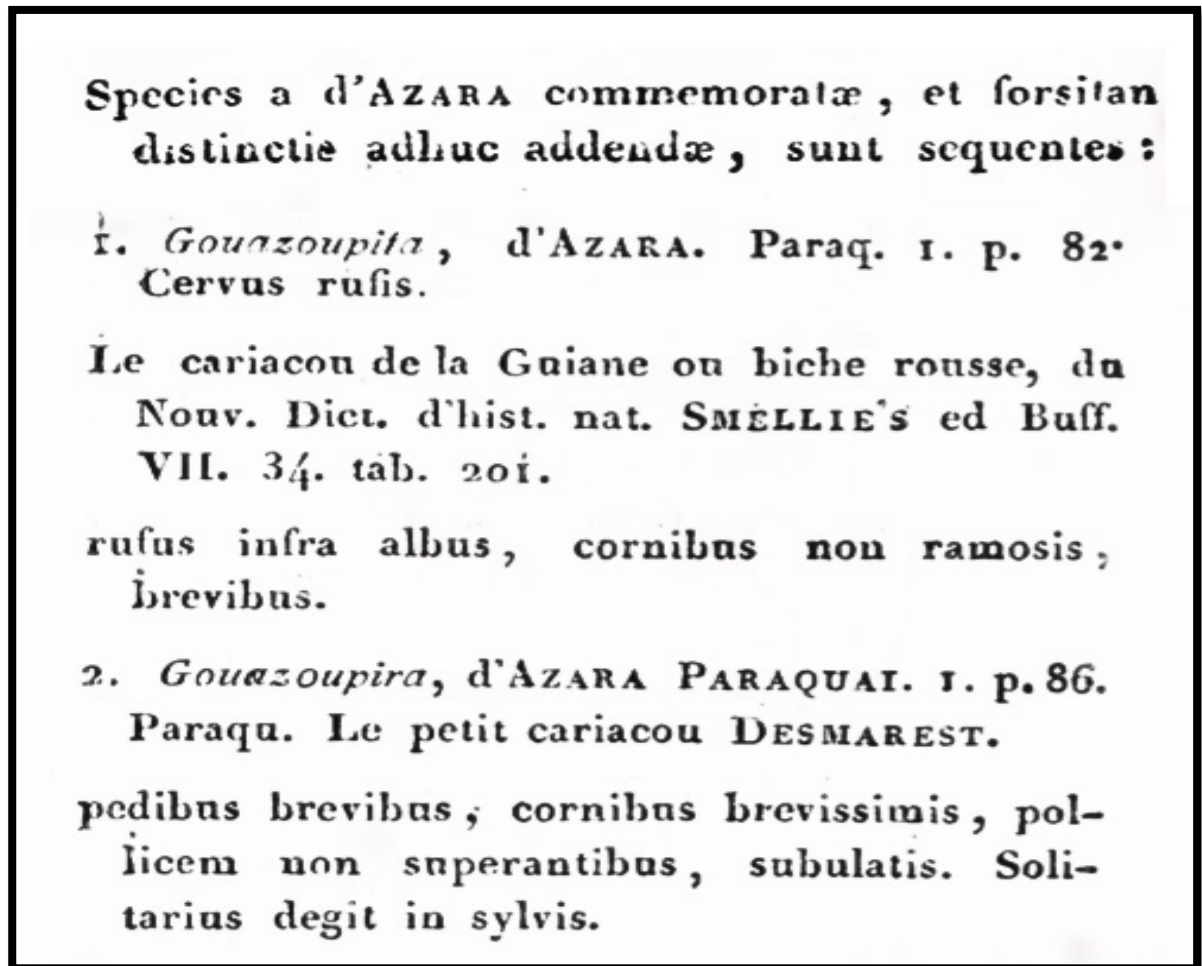


Figura 5. Diagnose de *Mazama gouazoubira* (*Cervus gouazoupira*) feita por Fischer (1814).

Assim descreveu Fischer:

"Espécies lembradas por Azara, e talvez distintas das reunidas até hoje são as seguintes:

2. *Gouazoupira*, d'Azara Paraquai. I. p.86.

com pés curtos, cornos muito curtos, polegar não sobreposto, subulado. Vive sozinho na floresta."

Illiger, em 1811, leu sua descrição de *Cervus simplicicornis*, a qual também foi embasada no relato de Güzü-birá de Azara, diante da Academia de Ciências de Berlim. Porém, o livro com esta descrição só foi impresso em 1815 e, de acordo com o ICZN (quarta edição), uma obra publicada depois de 1757 [Art. 11.1], para ser considerada válida, deve cumprir com os requisitos de proporcionar um registro científico público e permanente e ser de fácil obtenção, logo após a publicação [Art. 8.1]. Registros acústicos produzidos por qualquer método [Art. 9.7] e materiais emitidos primariamente a participantes de reuniões, congressos [Art. 9.10] não são considerados uma obra publicada. Mesmo que fosse publicada em 1811, isto não alteraria a autoria de Fischer (1814), pois de acordo com o ICZN (quarta edição), o princípio de prioridade, o qual infere que o autor que publicou primeiro tem prioridade sobre o nome, não visa alterar um nome já amplamente utilizado mediante a introdução de um novo que é seu sinônimo ou homônimo mais antigo [Art. 23.2].

Em 1817, Rafinesque insere o táxon em seu gênero *Mazama* (Figura 6). Gray (1827), aparentemente sem ter conhecimento do gênero de Rafinesque (1817), cunha o sub gênero *Subulo* para os cervídeos da América com chifres simples e em 1850, aloca estas espécies em seu gênero *Coassus* (GRAY, 1850). Em sua última obra (GRAY, 1872), reconheceu somente 2 formas que correspondem ao veado cinza: *Coassus simplicicornis*, baseado em Illiger (1815) e *Coassus superciliaris*, restrito ao Pará, Brasil.

25. *Mazama bira*. Raf. Gouazoubira
Az. quadr. Par. Petit cariacou Desm.
tabl. p. 32.—Bira Mazam. Def. Horns
subulated, short, smooth, body brown,
legs short.—Obs. A small animal, with
shorter legs than usual in other species of
the same family, horns only one inch
long; living solitary in the woods of
Paraguay.

26. *Mazama pita*. Raf. Gouazoupita
Az. quadr. Par. Cariacou de la Guyane
ou Biche rousse Desm. tabl. p. 33.—Pita
Mazam. Fallow above, whitish under-
neath, horns subulated and smooth.—
Obs. From Paraguay, Guyana, &c.
larger than the foregoing, and with longer
horns. Both species having simple un-
branched solid straight horns, must be-
long to my genus *Mazama* instead of the
genus *Cervus*, of which they had been
considered as a kind.

Figura 6. Trecho em que Rafinesque (1817) aloca *M. gouazoubira* ao gênero *Mazama*.

Nas décadas seguintes, vários nomes foram publicados na literatura fundamentados no morfotipo de Azara: *Cervus catínga* Liais 1872, *Cariacus (Coassus) simplicicornis* Brooke 1878, *Subulo simplicicornis* Pelzeln 1883, *Cervus (Coassus) simplicicornis* Ihering 1894, *Mazama simplicicornis* Miranda-Ribeiro 1919, *Azarina fusca* Larrañaga 1923 e *Mazama gouazoubira* Hershkovitz, 1951; bem como nomes descrevendo formas inéditas, de outras localidades: *Nanelaphus namby* Fitzinger 1879, Caiçara e Vila Maria, Brasil; *Mazama simplicicornis mexianae* Hagmann 1908, "Insel Mexiana"; *Mazama simplicicornis argentina* Loonberg 1919, Chaco Central, Rio de Oro, Argentina e *Mazama simplicicornis var. koseritz* Miranda-Ribeiro 1919, Rio Grande do Sul, Brasil

Allen (1915) publicou a primeira revisão taxonômica do grupo, e a mais sensata, baseando-se em espécimes depositados no American Museum of Natural History. O autor organizou as espécies do gênero em veados cinzas e vermelhos, com base na coloração da pelagem e reconheceu oito morfotipos dentro do grupo dos veados cinzas, destes, três já são atualmente táxons reconhecidos (*M. chunyi*, *M. nemorivaga* e *M. pandora*). As outras formas, potenciais espécies válidas, são detalhadas a seguir:

Mazama simplicicornis Illiger 1815

Refere-se ao Güazú-birá de Azara. Allen analisou um espécime proveniente de Rio Negro (perto de Assunção, Paraguai). Nota-se que o autor ainda não conhecia a publicação de Fischer de 1814, a qual é a considerada válida.

Mazama murelia Allen 1915

Espécime fortemente diferenciado do morfotipo do Paraguai, sua localidade tipo é La Murelia, Caquetá, Colômbia.

Mazama superciliaris Gray 1852

Proveniente do Pará, Brasil, Allen não teve acesso. Caracterizado particularmente por uma faixa branca sobre os olhos. Apesar desta característica ser muito variável e não ter caráter diagnóstico segundo Allen (1915), outros compiladores a consideram válida.

Mazama cita cita Osgood 1912

Sua localidade tipo é El Panorama, Venezuela. Coloração difere consideravelmente de *M. nemorivaga* das Guianas, forma mais próxima da região.

Mazama cita sanctaemartae Allen 1915

Subespécie nova, de Bonda, Santa Marta, Colômbia. Allen (1915) diz ser do grupo de *M. nemorivaga*, porém difere deste por ter maior tamanho e coloração mais vermelha.

Allen (1915) não analisou nenhum espécime do Brasil, o que pode subestimar sua avaliação com relação ao número de morfotipos existentes.

Revisores mais atuais tiveram a tendência de rebaixar as formas de veado cinza descritas na literatura à subespécies de *M. gouazoubira*. Àvila-Pires (1959) pressupôs onze subespécies. Cabrera (1960), analisando espécimes de museu, aceitou somente oito, inclusive *M. gouazoubira tschudii*, *M. gouazoubira nemorivaga* e *M. gouazoubira murelia*, consideradas espécies distintas por Allen (1915). Czernay (1987) reclassificou as diversas formas anteriormente descritas dentro de dez subespécies, porém de maneira diferente da utilizada por Àvila-Pires (1959). Pinder; Leeuwenberg (1997)

listaram catorze morfotipos: *M. gouazoubira argentina*, *M. gouazoubira cita*, *M. gouazoubira gouazoubira*, *M. gouazoubira medemi*, *M. gouazoubira mexianae*, *M. gouazoubira murelia*, *M. gouazoubira namby*, *M. gouazoubira nemorivaga*, *M. gouazoubira pandora*, *M. gouazoubira permira*, *M. gouazoubira rondoni*, *M. gouazoubira sanctaemartae*, *M. gouazoubira superciliaris* e *M. gouazoubira tshudii*. Rossi (2000), analisando espécimes do Brasil, interpretou as diferenças morfológicas que levaram à descrição das subespécies como variações individuais entre espécimes e não reconheceu nenhuma subespécie para o veado catingueiro.

2.3 Citogenética de *Mazama gouazoubira*

A primeira análise citogenética do veado-catingueiro foi feita por Neitzel (1979) a partir de uma fêmea que tinha $2n=70$ e $NF=70$ e todos os cromossomos acrocêntricos. Em 1987, a mesma pesquisadora analisou um macho da espécie e definiu o cromossomo X como sendo o maior do lote, e o Y, o menor, e também realizou o padrão de bandamento C e G.

A banda C permite localizar regiões muito condensadas, compostas por heterocromatina constitutiva nas quais o cromossomo apresenta DNA altamente repetitivo e, normalmente, está presente na região pericentromérica dos cromossomos. Já a banda G, proporciona um padrão de bandas escuras (que condensaram primeiro na prófase, ricas em CG e muitos genes ativos) e claras (que condensaram tardiamente, ricas em AT e poucos genes ativos) possibilitando parear os cromossomos e identificar os segmentos envolvidos em rearranjos (GUERRA, 1988).

Duarte (1992), em estudo dos cervídeos brasileiros, corroborou os achados de Neitzel (1979, 1987) e realizou bandamento Ag-RON (região organizadora do nucléolo), onde constatou marcações na região telomérica dos pares de cromossomos um e dois. Esta técnica possibilita detectar regiões transcricionais ativas durante a divisão celular e, assim como as outras bandas, permite a identificação dos cromossomos marcados (GUERRA, 1988).

Duarte (1992) também descobriu polimorfismos cromossômicos, como translocações Robertsonianas (20% dos indivíduos), definidas como a fusão de dois

cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos pelo centrômero, formando um metacêntrico ou submetacêntrico (GUERRA, 1988); e cromossomos B (31,5% dos indivíduos). Estes cromossomos se segregam independentemente do lote A e a hipótese mais aceita é que se originam de fragmentos restantes de reorganizações cromossômicas, como quebras e trocas (DUARTE; MERINO, 1997).

Em uma pesquisa posterior, Duarte; Jorge (1998) encontraram que de oitenta e um animais analisados, treze (16%) tinham uma translocação Robertsoniana, resultando em $2n=69$, e três (3,7%) tinham duas, resultando em $2n=68$. Na Argentina, Chamut et. al (2000) obtiveram resultados semelhantes às pesquisas brasileiras: de cinco espécimes analisados, quatro foram $2N=70$ e um $2N=69$.

Em estudo mais recente, Tomazella (2016) analisou citogeneticamente indivíduos da espécie do Brasil. Dos cento e trinta e cinco animais estudados, sessenta e oito (50,37%) apresentaram variação cromossômica: quarenta e sete animais (69,12%) foram portadores de cromossomos B; seis animais (8,82%) heterozigotos para uma translocação Robertsoniana; um indivíduo (1,47%) homozigoto para uma translocação Robertsoniana e catorze animais (20,59%) portadores de cromossomos B e heterozigotos para uma translocação Robertsoniana. Dos vinte e um animais portadores de translocações, foram identificados sete tipos distintos deste rearranjo (X;16, X;21, 7;21, 8;21, 4;16, 20;26, 14;16), envolvendo nove cromossomos diferentes que não seguiram um padrão específico de distribuição entre as diferentes regiões brasileiras (Figura 7).

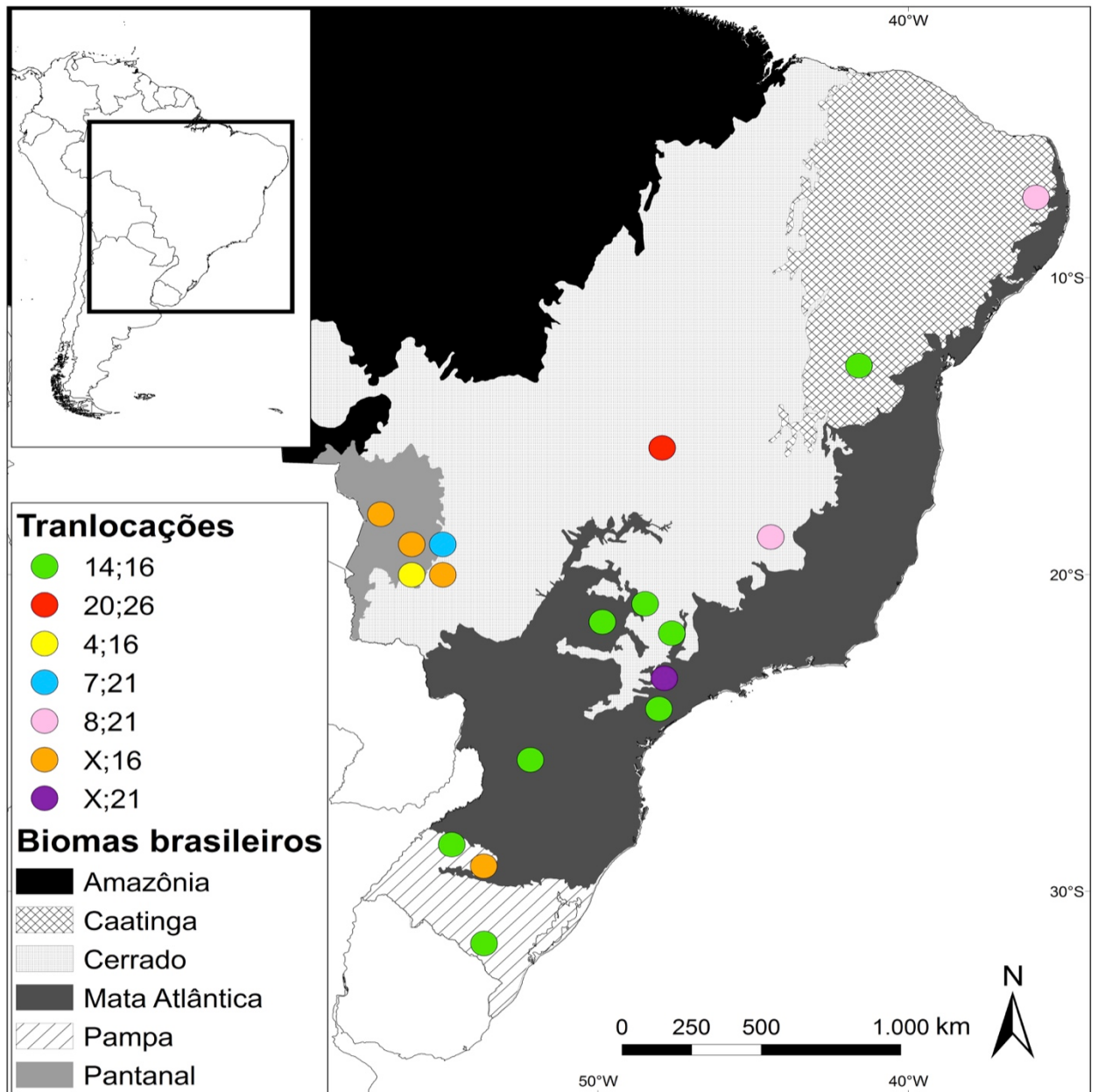


Figura 7. Mapa do Brasil com a distribuição dos sete diferentes tipos de translocações Robertsonianas (14;16, 20;26, 4;16, 7;21, 8;21, X;16, X;21) observadas nos indivíduos da espécie *Mazama gouazoubira* (Retirado de TOMAZELLA, 2016).

Os resultados dessas pesquisas comprovam a fragilidade do cariótipo de *M. gouazoubira*, indicando que o mesmo ainda está em processo de fixação (DUARTE; MERINO, 2010; BLACK-DÉCIMA et al., 2010). As translocações cromossômicas são naturais para a espécie (DUARTE; MERINO, 2010; BLACK-DÉCIMA et al., 2010) e seu

efeito em uma população depende do número de rearranjos e dos cromossomos envolvidos.

No caso de um indivíduo heterozigoto para o rearranjo, sua fertilidade pode ser reduzida pela segregação e emparelhamento incorreto dos cromossomos na meiose, produzindo gametas desbalanceados (NACHMAN; SEARLE, 1995). Nesta situação, ocorre a formação de trivalentes na meiose e isso implica em problemas mínimos na reprodução por não atrapalhar no balanceamento dos gametas (BAKER; BICKHAM, 1986). Porém, se duas populações isoladas com translocações diferentes entrarem em contato e se reproduzirem, poderão ser produzidos heterozigotos para duas translocações Robertsonianas e, como consequência, ocorrerá um isolamento reprodutivo por meio de graves problemas meióticos (BAKER; BICKHAM, 1986).

Com relação às translocações em homozigose, populações pequenas e altamente endogâmicas estão sujeitas a rapidamente fixarem estes rearranjos e em curto período de tempo pode ocorrer especiação.

2.4 Filogenia de *Mazama gouazoubira*

O veado-catingueiro foi estudado em análises moleculares pela primeira vez por Smith et al (1986) a partir de isoenzimas pelo método de distância genética. Os autores observaram que *M. gouazoubira* se mostrou muito divergente dos outros táxons analisados, enquanto *M. americana* e *O. virginianus* se mostraram muito próximos. O mesmo resultado foi obtido com o método de distância morfológica.

Gilbert, Ropiquet e Hassanin (2006) realizaram a primeira análise filogenética incluindo representantes do gênero (*M. gouazoubira* e *M. americana*) e relataram a existência de dois clados dentro do mesmo e, portanto, a polifilia de *Mazama*.

Duarte; González e Maldonado (2008) fizeram a amostragem mais abrangente de cervídeos da América do Sul (Figura 3) e, através de um fragmento de 935 pb do gene do citocromo b, encontraram que os representantes do clado cinza dos *Mazama* (*M. gouazoubira* e *M. nemorivaga*) não formam um clado monofilético e, por isso, devem ser alocados em gêneros diferentes. Já Figueiredo (2014), buscando estudar mais profundamente as relações filogenéticas dos veados cinzas do Brasil, utilizando além

de genes mitocondriais (Cytb e COI), marcadores nucleares (IL16 e MGF), seguiu Duarte; González e Maldonado (2008) e sugeriu a criação de mais dois gêneros para o grupo.

Dentro da espécie *Mazama gouazoubira*, Figueiredo (2014) constatou uma subdivisão em cinco clados com distribuição simpátrica em grande parte da sua ocorrência, em concordância com Duarte; González e Maldonado (2008), que acharam um grupo de haplótipos altamente divergentes com alto suporte (1,00 PP/100% bootstrap) para este táxon.

Estudos com foco mais populacional obtiveram achados semelhantes, Aristimuño (2013) analisando espécimes do Uruguai, Brasil, Paraguai, Argentina e Bolívia através de análise filogenética de máxima parcimônia, rede de haplótipos e AMOVA (análise de variância molecular) da região controle do DNA mitocondrial D-loop (159 pb), demonstrou altos níveis de variabilidade genética e baixos níveis de diferenciação geográfica. Bidegaray (2003) e Elizondo (2010) encontraram resultados parecidos com um fragmento do gene do citocromo b (423 pb e 480 pb, respectivamente). Duarte; González e Maldonado (2008) explicam que os altos níveis de variação genética e morfológica encontrados nesta espécie se devem, provavelmente, à um grande evento de expansão demográfica e geográfica ocorrido no passado recente, no início do Pleistoceno, há 1 milhão de anos atrás. O táxon, devido a sua alta plasticidade ecológica (PINDER; LEEUWENBERG, 1997), conseguiu mover-se pela paisagem durante os ciclos úmidos e secos deste período, o que resultou em baixo nível de diferenciação geográfica e especiação, ao contrário do que ocorreu com as espécies do clado vermelho.

2.5 Neótipo

De acordo com o ICZN, uma série tipo são os exemplares designados na publicação original sob os quais o autor se baseou para descrever um novo táxon nominal do tipo espécie [Art. 72.1.1]. Ao eleger um destes exemplares como portanome da espécie, este chama-se holótipo [Art 73.1] e os outros que não foram designados como tal, são parátipos [Art. 72.4.5]. Quando não se estabelece um holótipo, o conjunto

de espécimes da série tipo são chamados sítipos e constituem coletivamente o tipo portanome [Art. 73.2]. Um dos sítipos pode ser elevado posteriormente à holótipo e então tornar-se lectótipo e, a partir daí, os outros sítipos perdem seu status e passam a ser paralectótipos [Art. 74]. Topótipo é um termo utilizado para referenciar um exemplar originário da localidade tipo da espécie ou subespécie que se crê que o mesmo pertença, e não tem valor de tipo portanome (ICZN, glossário).

Quando tem-se razões para acreditar que nem o holótipo, lectótipo ou sítipos existam e há uma necessidade excepcional de esclarecer a posição taxônomica ou localidade tipo de um táxon nominal, um neótipo pode ser designado (se este ainda não existir) [Art. 75.1]. O neótipo deve ser estabelecido em publicação com os motivos que levaram o autor a crer que os exemplares portanomes não existam e os passos dados para localizá-los; dados e descrições que permitam sua correta identificação e distinção dos outros táxons do grupo; evidências de ser proveniente de local tão próximo quanto o possível da localidade tipo e também que o neótipo concorda com o que se sabe do portanome prévio; ser propriedade de uma instituição reconhecida, com infra-estrutura adequada para sua conservação, e que disponibilize o espécime para estudos da comunidade científica [Art 75.3].

Na literatura, há alguns registros recentes de designação de neótipos em mamíferos. Como por exemplo, no caso do holótipo de *Sousa chinensis* (Delphinidae), que foi destruído na Segunda Guerra Mundial, e por isso Porter (2002) estabeleceu um novo; *Neofelis nebulosa* (Felidae) foi desmembrada em duas espécies, sendo necessário a designação de um neótipo para *Neofelis diardi* (CHRISTIANSEN, 2009) e outro para *Neofelis nebulosa* (CHRISTIANSEN, 2011); Leite et al. (2011) designaram um para o Ouriço-cacheiro (*Coendou prehensilis*) em vista da possibilidade de descrição de novas espécies no gênero; Riddle (2014), para poder esclarecer a taxonomia de espécies morfológicamente crípticas de roedores (*Perognathus*), designou dois neótipos.

3. OBJETIVOS

- Caracterização de um topótipo de *Mazama gouazoubira* por meio de análises morfológicas (biometria corporal, padrões de coloração, craniometria, caracterização de pós-crânio), citogenéticas (cariótipo convencional, biometria cromossômica, bandamento C, bandamento G, coloração Ag-RON) e filogenéticas baseadas em DNA mitocondrial;
- Comparar os padrões obtidos com os já descritos na literatura para outros espécimes da mesma espécie, a fim de esclarecer o nível de diferença entre indivíduos já estudados, possibilitando revisar a taxonomia da espécie, incluindo suas sinonímias e subespécies;
- Propor um neótipo para a espécie.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Permissão de coleta

Para poder coletar em território paraguaio foi necessário tramitar uma permissão de coleta ou caça científica junto a Secretária do Ambiente do Paraguai (SEAM). A permissão, na íntegra, encontra-se no Apêndice A.

4.2. Pesquisa da localização do holótipo

Para poder confirmar a suspeita de o holótipo não estar depositado em nenhuma coleção científica, fez-se necessário realizar uma pesquisa em museus regionais, próximos ao Paraguai, e em instituições renomadas mundialmente no intuito de descartar a possibilidade de existência do mesmo.

4.3 Obtenção dos animais e amostras

A coleta do topótipo não pode ser realizada em Assunção, capital do Paraguai, por ser agora uma região urbanizada e por este motivo foram identificados os locais mais próximos da região com a presença da espécie, sendo a localidade mais próxima um sítio a 17 km da capital, onde foi coletado um macho jovem de *M. gouazoubira* (T377, Figura 8) em 15/12/2016. Também foram coletados amostras de músculo, pelo e pele de parátipos para análises comparativas (amostras P1, P2, T372 e E).

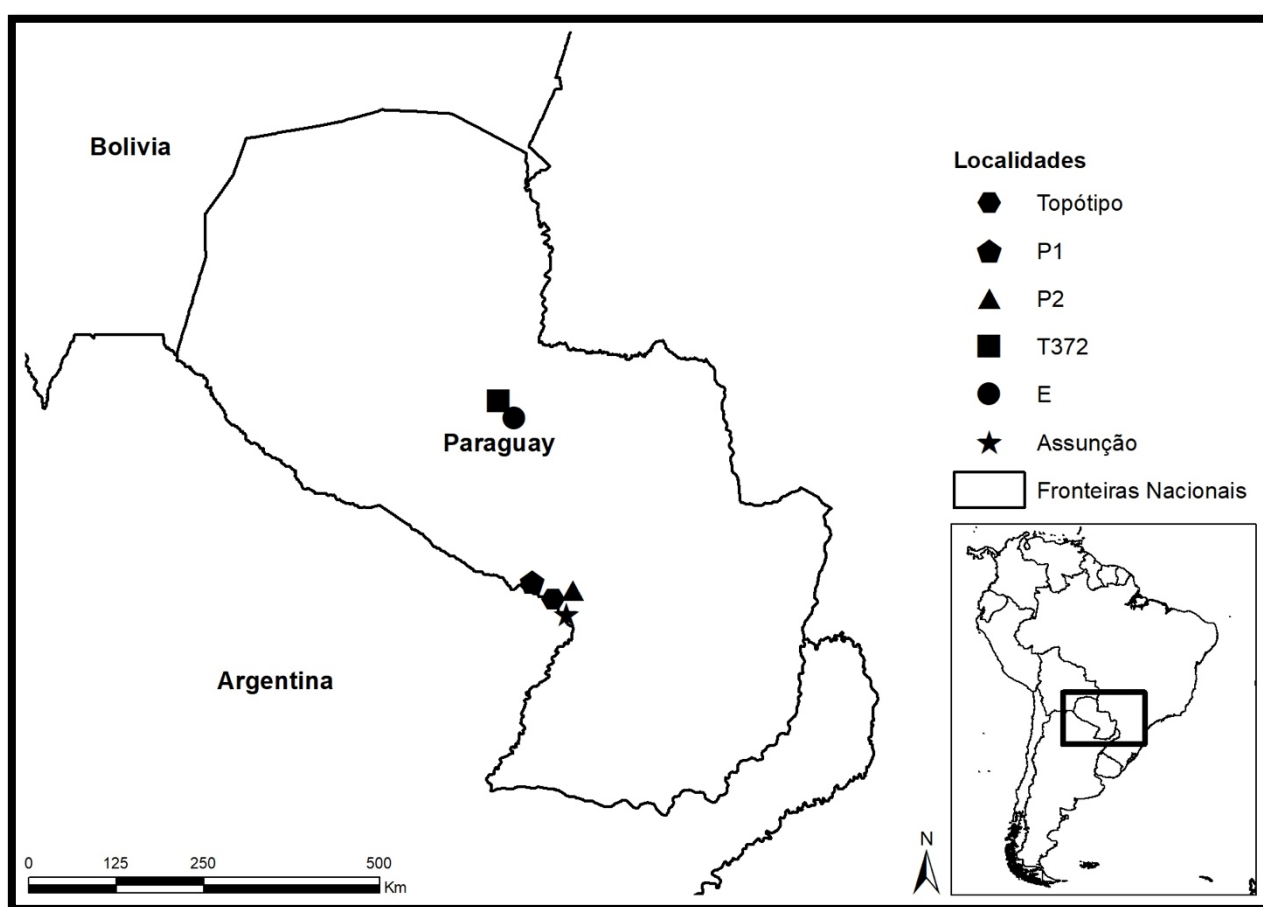


Figura 8. Mapa do Paraguai com os pontos de coleta do topótipo de *Mazama gouazoubira* e dos parátipos (P1, P2, T372 e E).

Após a coleta do indivíduo, foram realizadas tricotomia e antisepsia da região interna da coxa direita, onde foi excisado um fragmento de pele de 2x5 cm², que foi depositado em tubo contendo meio de transporte (Mc Coy's + 500mg/L de gentamicina

+ 20mg/L de anfotericina B), segundo Duarte et al. (1999). O fragmento de pele permaneceu em refrigeração até a chegada ao laboratório de campo, e posteriormente foi dividido em dez fragmentos pequenos que foram depositados em tubos criogênicos contendo meio de congelamento de pele (200 mL de Mc Coy's + 40 mL de soro equino + 12 mL de dimetil sulfóxido, DMSO + 24 g de polyvinil + 100 mg/L sulfato de gentamicina + 4 mg/L anfotericina) segundo o protocolo descrito por Duarte et al. (1999). Os fragmentos permaneceram por 3,5 horas sob refrigeração e 30 minutos no vapor do Nitrogênio Líquido, em seguida, foram submergidos e estocados em Nitrogênio Líquido (-196°C). As células, que permaneceram vivas nessas condições, foram utilizadas posteriormente para os cultivos de fibroblastos e análises citogenéticas.

Foram obtidos dados biométricos do espécime (Tabela 1) para possibilitar a comparação com dados coletados em projetos com animais anestesiados. Foram coletados também fragmentos de aproximadamente 1 cm² de músculo, fígado, rim, baço e coração, mergulhados em etanol 100% a temperatura ambiente para análises moleculares.

A pele na sua íntegra, foi retirada do animal sendo então mergulhada em uma solução de limpeza (25 mL de ácido acético glacial + 3L de água), onde permaneceu por 50 minutos e depois foi limpa com o uso de uma faca para retirar os resíduos musculares, gordura e fáscias. Posteriormente, a pele foi mergulhada em uma solução curtume (500 g de sulfato de alumínio comercial + 500 g de cloreto de sódio + 3 L de água) para sua desidratação, na qual permaneceu durante três dias. Depois do processo de curtume ela foi estendida na sombra e deixada para secar, massageada e esticado periodicamente para manter a flexibilidade. Depois de totalmente seca e amolecida, a superfície sem pelos da pele foi lixada para finalizar o processo.

O esqueleto completo (crânio e pós-crânio) foi extraído e limpo após cozimento em água, sendo então seco diretamente no sol e armazenado em caixas plásticas sob temperatura ambiente.

4.4 Análise morfológica

4.4.1 Biometria

Os dados biométricos foram obtidos logo após o abate do animal com ajuda de uma fita métrica, paquímetro (precisão 0,05 mm) e balança digital. No total, foram tomadas dezoito medidas (Tabela 1).

Tabela 1. Medidas corporais tomadas do topótipo da espécie *Mazama gouazoubira*.

Comprimento da cabeça	Comprimento do corpo
Largura da cabeça	Perímetro do abdômen
Comprimento da orelha	Comprimento do testículo direito
Distância entre olhos	Comprimento do testículo esquerdo
Largura da mandíbula	Diâmetro do testículo direito
Perímetro do pescoço	Diâmetro do testículo esquerdo
Perímetro do tórax	Comprimento do metatarso
Altura	Comprimento da cauda
Comprimento do metacarpo	
	Massa

Foi realizada uma análise estatística dos dados quantitativos das medidas corporais do topótipo e de cento e nove espécimes do banco de dados do NUPECCE (oitenta e seis *M. gouazoubira*, cinco *M. americana*, cinco *M. bororo*, dois *M. nana* e onze *M. nemorivaga*, machos e fêmeas adultos, com exceção do topótipo; informações detalhadas se encontram no Apêndice B). Algumas medidas foram excluídas, por estarem presentes só nos machos (distância entre chifres, diâmetro e comprimento do chifre esquerdo e direito e circunferência do testículo), serem influenciadas por hormônios sexuais masculinos (perímetro do pescoço), por não serem informativas (perímetro do abdômen) (DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008) ou por não estarem presentes em todos os indivíduos (largura da mandíbula).

4.4.2 Morfologia externa

A análise da morfologia externa do espécime foi realizada a partir de critérios utilizados por Rossi (2000), observando-se a pele inteira taxidermizada e as fotos tomadas logo após a coleta. Foram examinados os campos cromogênicos da cabeça (faixas orbitais superior e inferior, mancha superciliar anterior, regiões auriculares anterobasal e posterobasal, faixa rostral, região nasal, região mentoniana, mancha mandibular, região bucal e região gular), a coloração geral nas diferentes partes do corpo, ocorrência de faixa de pelos antevertidos e de tufo arredondado de pelos na região tarsal, segundo nomenclatura utilizada por Hershkovitz (1982).

4.4.3 Medidas cranianas e do pós-crânio

Foram tomadas trinta e cinco medidas do crânio e vinte e duas medidas do pós-crânio de acordo com DRIESCH, 1976 (Figura 9), utilizando um paquímetro digital de precisão de 0,01 mm.

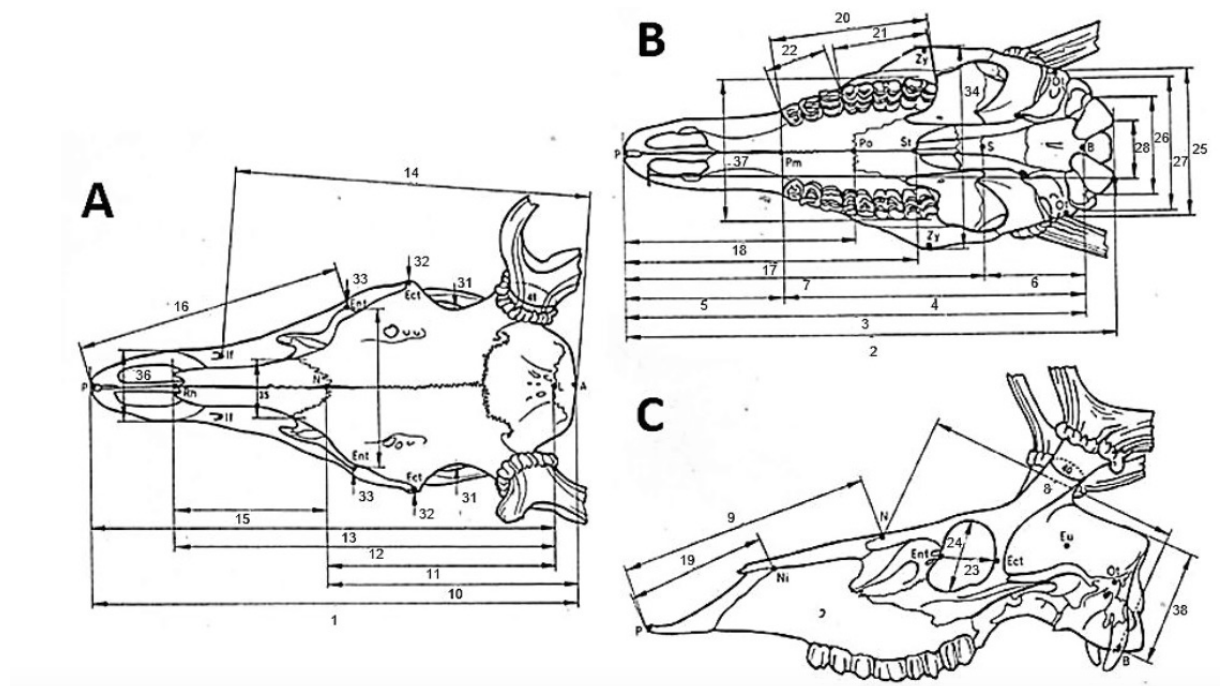


Figura 9. Padrão de medidas cranianas de cervídeos (retirado de DRIESCH, 1976). A: vista dorsal B: vista ventral C: vista lateral esquerda; P: prosthion R: rhiniom L: lambda B: basion A: akrocranium.

Na próxima página, segue a descrição das medidas (Tabela 2):

Tabela 2. Descrição das medidas tomadas do crânio e do pós-crânio do topótipo de *Mazama gouazoubira*.

Crânio
1) Comprimento total
2) Comprimento côndilo-basal
3) Comprimento basal
4) Comprimento curto do crânio
5) Pré-molar - prosthion
6) Eixo base-cranial
7) Eixo base-facial
9) Comprimento víscero-craniano
10) Comprimento frontal mediano
11) Lambda - nasal
12) Lambda - rhinion
13) Lambda - prosthion
14) Acrocrânio
15) Maior comprimento dos nasais
16) Comprimento facial - lateral curto
17) Comprimento palatal mediano
18) Comprimento palatal - oral
19) Comprimento lateral do pré-maxilar
20) Distância corrida de dentes
21) Comprimento da linha molar
22) Comprimento da linha pré-molar
23) Maior comprimento interno da órbita
24) Maior altura interna da órbita
25) Maior largura do mastóide
26) Maior largura dos côndilos occipitais
27) Maior largura das bases do processo para-occipital
28) Maior largura do forâmen magno

- | |
|---|
| 32) Maior largura entre as órbitas |
| 33) Menor largura entre as órbitas |
| 34) Largura do zigomático |
| 35) Maior largura entre os nasais |
| 36) Maior largura entre o pré-maxilar |
| 37) Maior largura palatal |
| 38) Basion - ponto mais alto da crista nugal superior |

Pós-crânio:

Atlas

- | |
|---|
| Comprimento maior (GL) |
| Maior largura entre as asas (GB) |
| Maior largura da face articulada cranial (BFcr) |
| Maior largura da face articulada caudal (BFcd) |
| <i>Axis</i> |
| Comprimento maior na região do corpo (LCDe) |
| Maior largura da face articulada cranial (BFcr) |
| Maior largura da face articulada caudal (BFacd) |

Sacro

- | |
|---|
| Comprimento maior, do lado ventral (GL) |
| Maior largura, entre as asas (GB) |

Escápula

- | |
|--|
| Altura ao longo da espinha (HS) |
| Comprimento maior do processo glenóide (GLP) |

Úmero

- | |
|--|
| Comprimento maior (GL) |
| Maior largura da epífise proximal (Bp) |

Rádio

- | |
|----------------------------------|
| Comprimento maior (GL) |
| Largura da epífise proximal (Bp) |
| Largura da epífise distal (Bd) |

Ulna

Comprimento maior (GL)
Comprimento do olécrano (LO)
<i>Pélvis</i>
Comprimento maior (GL)
<i>Fêmur</i>
Comprimento maior (GL)
Largura da epífise proximal (Bp)
Largura da epífise distal (Bd)
Largura menor da diáfise (SD)

*Os números e as abreviações das medidas correspondem às utilizadas por DRIESCH (1976).

Também foi realizada uma análise estatística de componentes principais e de *cluster* (distância absoluta, método UPGMA) dos dados quantitativos das medidas cranianas utilizando o programa MESQUITE (MADDISON; MADDISON, 2015). A matriz foi feita utilizando cinco medidas cranianas (comprimento total (1), comprimento do nasal (15), distância corrida de dentes (20), comprimento da linha molar (21) e largura do arco zigomático (34)) do topótipo, e de trinta indivíduos do gênero *Mazama* (machos e fêmeas adultos, Tabela 3), incluindo um parátipo (T372), depositados no Museu Cervidológico do NUPECCE e de táxons já considerados como subespécies de *Mazama gouazoubira*, que tem medições disponíveis na literatura (Tabela 4) (ALLEN, 1915; MIRANDA-RIBEIRO, 1919).

Tabela 3. Espécimes depositados no Museu Cervidológico do NUPECCE utilizados nas análises de componentes principais e de *cluster* por meio de cinco medidas cranianas padrão de cervídeos (DRIESCH, 1976).

ID	Nº tombo Museu	Espécie	Origem		Sexo
-	NPC01	<i>M. bororo</i>	-	-	-
-	NPC02	<i>M. bororo</i>	-	-	-
-	NPC03	<i>M. gouazoubira</i>	Franca, SP, Brasil	vida livre	F

-	NPC09	<i>M. gouazoubira</i>	Zoológico de Guaíra, SP, Brasil	cativeiro	F
-	NPC10	<i>M. nemorivaga</i>	-	-	-
T278	NPC11	<i>M. gouazoubira</i>	Araguaína, TO, Brasil	-	F
-	NPC12	<i>M. gouazoubira</i>	Maranguape, CE, Brasil	cativeiro	F
T319	NPC14	<i>M. gouazoubira</i>	Pantanal, MS, Brasil	vida livre	M
-	NPC20	<i>M. nana</i>	-	-	-
-	NPC22	<i>M. americana</i>	-	-	-
-	NPC24	<i>M. bororo</i>	Pq. Estadual Intervalos, SP, Brasil	vida livre	M
-	NPC25	<i>M. bororo</i>	-	-	-
-	NPC29	<i>M. americana</i>	-	-	-
-	NPC34	<i>M. americana</i>	-	-	-
-	NPC51	<i>M. gouazoubira</i>	Ibiúna, SP, Brasil	-	F
-	NPC52	<i>M. americana</i>	-	-	-
-	NPC53	<i>M. nemorivaga</i>	-	-	-
-	NPC61	<i>M. gouazoubira</i>	Guariba, SP, Brasil	vida livre	M
-	NPC62	<i>M. nemorivaga</i>	-	-	-
-	NPC64	<i>M. nemorivaga</i>	-	-	-
T277	NPC65	<i>M. gouazoubira</i>	Araguaína, TO, Brasil	-	M
-	NPC66	<i>M. gouazoubira</i>	Ilha Solteira, SP, Brasil	cativeiro	F
T358	NPC79	<i>M. americana*</i>	Regina, Guiana Francesa	vida livre	M
-	NPC82	<i>M. gouazoubira</i>	Sete Barras, SP, Brasil	vida livre	F
T295	NPC88	<i>M. nemorivaga</i>	Juína, MT, Brasil	-	M
-	NPC102	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	F
-	NPC104	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	F
T372	NPC106	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Puerto Pinasco, Paraguai	vida livre	F
T377	NPC113*	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Assunção, Paraguai	vida livre	M
-	NPC114	<i>M. nana</i>	-	-	-

*Topótipo.

Tabela 4. Espécimes com medidas cranianas disponíveis na literatura com sexo, número de identificação, localidade e fonte do registro.

Espécie	sexo	nº ID	Localidade	Fonte
<i>M. c. cita</i> Osgood 1912	F	18778** jovem	Empalado Savanna, Venezuela	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	M	14865	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	M	14640*	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	M	14645	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	M	14643	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	M	23478	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	14642	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	14646	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	14638	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	14864	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	23476	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	23479	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M c. sanctamartae</i> Allen 1915	F	23481	Bonda, Santa Marta, Colômbia	ALLEN, 1915
<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	M	-	Tapirapoan, Mato Grosso, Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919
<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	M	-	Pirapóra, Minas Gerais, Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919
<i>M. s. koseritz</i> Miranda- Ribeiro 1919	M	*	Rio Grande do Sul, Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919

<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	F	-	Castanha, Mato Grosso, Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919
<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	M	-	Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919
<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	F	-	Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919
<i>M. simplicicornis</i> Illiger 1815	F	-	Brasil	MIRANDA-RIBEIRO, 1919

*espécimes são holótipos.

**espécimes são parátipos.

4.5 Análise Citogenética

4.5.1 Cultivo Celular

4.5.1.1 Semeadura

Uma vez no laboratório de citogenética do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), as amostras de pele foram descongeladas em banho-maria (37°C) até que o meio de congelamento voltasse ao estado líquido. Em fluxo laminar, lavou-se o fragmento duas vezes com 2,0 mL de PBS (10g NaCl/L + 0,25g KCl/L + 1,44g Na₂HPO₄.12H₂O/L + 0,25g KH₂PO₄/L) em placas de Petri descartáveis. O material foi divulsionado mecanicamente com lâmina de bisturi em uma placa de Petri descartável contendo 1,0 mL de meio de cultivo DMEM (1 pacote de Meio Essencial Mínimo Modificado de Dulbecco Cultilab™/L + 3,7 g de bicarbonato/L + 1,0 mL de sulfato de gentamicina/L + 2,0 mL de anfotericina B/L, pH 6,8-7,1) em diversos fragmentos de 1 mm², que foram transferidos para uma garrafa de cultivo T25 (TPP™) contendo 1,0 mL de meio DMEM e 1,0 mL de soro fetal bovino (SFB) Cultilab™. A garrafa foi levada para estufa a 5% de CO₂ e 37°C por 48 horas sem qualquer movimento (Verma e Babu, 1995).

Após esse período, o meio de cultivo foi trocado e a cultura foi monitorada diariamente com trocas do meio a cada 48 horas até os fragmentos de pele aderissem ao fundo do frasco, quando mudou-se a quantidade do meio para 3,0 mL de DMEM com 30% de SFB. Na ocasião em que os fragmentos começaram a soltar células, e

estas ficaram aderidas, trocou-se novamente a quantidade do meio para 5,0 mL de DMEM com 10% de SFB.

4.5.1.2 Repique

Ao atingir um crescimento adequado da monocamada de células foi realizado o repique, que consistiu em desprezar o meio "velho" das garrafas, lavar 3 vezes com 2,0 mL de PBS e adicionar 1,0 mL de tripsina (8,0g NaCl/L + 0,4g KCl/L + 0,58 g NaHCO₃/L + 1 g glucose/L + 0,005 g vermelho fenol/L + 0,2 g EDTA/L + 0,5 g tripsina/L, pH 7,2-7,4) com incubação em estufa a 5% CO₂ e 37°C por no máximo 3 minutos. Depois, a cultura foi monitorada em microscópio invertido para verificar se as células soltaram do fundo do frasco e então, imediatamente, a tripsina foi inativada com 200 µL de SFB e 800 µL de DMEM. As células foram transpassadas para outras garrafas de cultivo dividindo-se o material da garrafa mãe entre as garrafas novas, as quais foram realimentadas da mesma maneira até obter um número suficiente de cultivos secundários.

4.5.1.3 Congelamento de fibroblastos

Das garrafas do repique, duas com maior crescimento celular foram selecionadas para congelamento de fibroblastos, conforme segue: lavou-se os cultivos 3 vezes com 2,0 mL com PBS, foi feita a tripsinização e inativação da tripsina e o conteúdo da garrafa foi transferido para um tubo de centrifuga cônico estéril. O tubo foi centrifugado por 5 minutos a 107,3g (800rpm) e o sobrenadante foi descartado. Adicionou-se 4,0 mL de meio de congelamento de células e o conteúdo do tubo foi dividido em 5 criotubos de 1,5 mL. Novamente adicionou-se 4,0 mL de meio de congelamento de células lavando o tubo e dividiu-se o conteúdo entre os 5 criotubos. Estes foram deixados 3,5 h na geladeira, 30 minutos no vapor de nitrogênio líquido e depois foram armazenados em botijão no banco criogênico do NUPECCE.

4.5.1.4 Colheita de células

Ao apresentarem confluência, as células das garrafas foram colhidas realizando-se a pré-tripsinização um dia antes da colheita. Trinta horas após a pré-tripsinização, sucedeu-se a colheita: uma hora antes, adicionou-se 60,0 µL de

colchicina (16 ug/mL) Cultlab™ em cada frasco com posterior incubação em estufa a 5% de CO₂ a 37°C por sessenta minutos, para impedir a formação do fuso acromático e bloquear a divisão celular na metáfase. Depois, realizou-se a tripsinização para que as células se dissociassem dos frascos. O conteúdo do frasco foi transferido para um tubo de centrifuga cônico, centrifugado por cinco minutos a 107,3 g (800 rpm) e o sobrenadante descartado. O sedimento foi ressuspenso em 10 mL de solução hipotônica (KCl 0,067M) e incubado em banho-maria por vinte minutos, com pipetagem constante. Após a incubação, foi feita a pré-fixação adicionando-se três gotas de fixador (solução de metanol e ácido acético 3:1), centrifugação a 241,4 g (1200rpm) por 5 minutos e descarte do sobrenadante. Em seguida, procedeu-se com a fixação adicionando-se 6,0 mL de fixador, pipetagem do material, centrifugação a 241,4 g (1200rpm) por 5 minutos e descarte do sobrenadante. O mesmo procedimento foi feito mais duas vezes, com 4,0 mL e 3,0 mL.

Finalmente, as preparações cromossômicas foram fixadas em 1,0 mL de fixador e armazenadas a -5°C para serem utilizadas na preparação de lâminas.

4.5.2 Preparação das lâminas

As lâminas foram preparadas pelo método vapor-hálito, dando uma baforada sobre a mesma e pingando 2 gotas da preparação cromossômica, deixando secar à temperatura ambiente.

4.5.3 Coloração convencional Giemsa

As lâminas foram coradas com 3,0 mL de tampão fosfato 0,01M (1,36 g KH₂PO₄/L + 1,42 g Na₂HPO₄/L) e 0,1 mL de corante Giemsa (2,0 g de Giemsa + 108,0 mL de glicerina + 168,0 mL de metanol)/lâmina por 5 minutos. Cinquenta metáfases foram analisadas para se verificar o número diplóide de cromossomos (2n) exato do espécime.

4.5.4 Biometria Cromossômica

Para a classificação cromossômica, foi selecionada a melhor metáfase do animal por coloração convencional e, posteriormente, realizou-se as medidas utilizando o pacote LEVAN (SAKAMOTO; ZACARO, 2009) do software ImageJ (RASBAND, 2016).

Os cromossomos foram medidos a partir do centrômero até o telômero, e com base nesses dados, foi estimada a razão entre braços ($r = \text{braço longo} / \text{braço curto}$). De acordo com o valor de r os mesmos foram classificados como metacêntricos ($1 \leq r < 1,7$), submetacêntricos ($1,7 \leq r \leq 3$) ou acrocêntricos ($r > 3$) (LEVAN; FREDGA; SANDBERG, 1964). O comprimento relativo (CR) dividiu os pares cromossômicos em grupos: grupo A (grandes cromossomos de dois braços, $CR \geq 6\%$), grupo C (pequenos cromossomos de dois braços, $CR < 6\%$), grupo D (grandes cromossomos de um braço, $CR \geq 5\%$), grupo E (pequenos cromossomos de um braço, $CR < 5\%$) e grupo B (cromossomos B, $CR < 1,5\%$).

4.5.5 Bandas G (SEABRIGHT, 1971, modificada)

No procedimento da Banda G, as lâminas foram previamente envelhecidas na estufa a 37°C durante uma semana. Após o envelhecimento, estas foram mergulhadas em solução de tripsina (0,5%) a 37°C no banho-maria durante 1, 2 ou 3 segundos, sendo, em seguida, lavadas 2 vezes com água destilada gelada. Finalmente, logo após as lâminas secarem, as mesmas foram coradas com solução corante Wright-Giemsa (2,5g de Wright + 0,85g de Giemsa + 500mL de glicerina) em tampão fosfato (0,06M pH 6,8) (2:1) durante 12 minutos.

4.5.6 Bandas C (SUMNER, 1972)

As lâminas, previamente coradas com coloração convencional Giemsa, foram mergulhadas em solução de ácido clorídrico HCL (0,02N) por vinte minutos a temperatura ambiente e, em seguida foram lavadas com água destilada. Depois, foram incubadas em solução de hidróxido de bário (0,07N) em banho-maria a 40°C durante 12 minutos e, lavadas novamente com água destilada. Em seguida, as mesmas foram incubadas em solução salina concentrada 2xSSC (17,53g de NaCl + 8,82g de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 500mL de água destilada) por 2 horas a 56°C . Finalmente, as lâminas foram enxaguadas com água destilada e coradas com Giemsa (2g de Giemsa + 108mL de glicerina + 168mL de metanol) a 2% em tampão fosfato (0,01M, pH6,8) por 25 minutos.

4.5.7 Coloração Ag-RON (HOWELL; BLACK, 1980)

Em uma lâmina foram pingadas duas gotas de nitrato de prata à 50% e uma gota de solução coloidal reveladora (1g de gelatina P.A. em 50 mL de água deionizada + 0,5 mL de ácido fórmico) e colocou-se uma lamínula sobre a preparação. A lâmina foi colocada em placa de Petri com papel absorvente embebido em água, sendo aquecida a 56°C em estufa, por 4 a 5 minutos até obter uma coloração dourada. Após isso, a mesma foi mergulhada em água destilada para retirada da lamínula, sendo depois lavada com água corrente e analisada ao microscópio.

As lâminas submetidas às técnicas de bandamento cromossômico foram analisadas e fotografadas em um microscópio Olympus CX31, em objetiva de 100x ou 60x, com uma câmera digital Olympus Camedia C5060. Todas as imagens foram editadas com o auxílio do programa Adobe Photoshop CS6.

4.6 Análise Filogenética

4.6.1 Extração de DNA

A extração de DNA genômico foi feita a partir de amostras músculo utilizando-se um protocolo modificado de extração de linfócitos, conforme segue: Lavar o tecido com 1 mL de solução salina para retirar o álcool, passar no vórtex, centrifugar a 6000 rpm e descartar. Adicionar 300 µL de Lise II (Tris/HCl 0,01M pH 8,5 + KCl 50 mM + MgCl₂ 2,5 mM + NP-40 0,45% + Tween 20 0,45%) e 10-15 µL de Proteinase K (20 mg/mL), agitar no vórtex e incubar a 65°C até digerir o tecido. Ir passando no vórtex frequentemente. Incubar a 37°C *overnight* para estabilizar o meio. Aliquotar 100 µL de cada amostra, adicionar 10 µL de acetato de sódio (0,3M) e agitar no vórtex. Adicionar 300 µL de etanol absoluto gelado, mexer por inversão. Deixar no mínimo 2 horas no freezer, agitar por inversão e centrifugar a 14000 rpm por 10 minutos. Desprezar o sobrenadante, lavar com 500 µL de álcool 70%, centrifugar por 5 minutos a 14000 rpm, descartar o sobrenadante e deixar secar o pellet. Depois que o pellet estiver seco, adicionar 100 µL de TE (Tris/HCl 10mM + EDTA 1mM, pH 8,0).

4.6.2 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA foi realizada pelo aparelho QuantiFluor® dsDNA (Promega™).

4.6.3 Amplificação, purificação e sequenciamento de genes mitocondriais e nucleares

Para as análises filogenéticas foram amplificados três fragmentos do DNA mitocondrial: citocromo B (*Cytb*), região controle (D-loop) e citocromo oxidase subunidade I (COI). As características dos marcadores são exibidas na Tabela 5.

Tabela 5. Genes utilizados, oligonucleotídeos iniciadores e suas sequências, tamanho do fragmento amplificado (pb), temperatura de anelamento e fonte dos iniciadores.

Gene	Oligonucleotídeo iniciador (<i>Forward/Reverse</i>)	Sequência (5' - 3')	Tamanho (pb)	T°C anelamento	Fonte
Cytb	FARH	TCCAATAGTAATAAAGGGGTGTTCA	660	54°C	DUARTE; GONZALEZ, MALDONADO; 2008
	FARL	CCATGAGGACAAATATCATTCTGTA			
	L14724 H15149	AAAAAGCTTCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA	480	54°C	KOCHER et al., 1989
D - loop	DL-H16340 Thr-L15926	CAATTCCCGGTCTTGTAACC CCTGAAGTAGGAACCAGATG	660	51°C	VILÀ et al., 1999
COI	LCO1490 HCO2198	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG TAACTTCAGGGTGACCAAAAAATA	658	54°C	FOLMER et. al, 1994

Os fragmentos de DNA foram amplificados em termociclador Biorad™ usando uma reação de PCR padrão, conforme segue: 300µM de dNTPs, 1,5mM de MgCl, Tampão 1x (200mM Tris-HCl pH 8,4; 500mM KCl), 1U de Taq DNA polimerase, 20 pmol do iniciador *forward*, 20 pmol do iniciador *reverse*, 6-10 ng de DNA, em um volume final de 30 µL. O programa de temperaturas da reação foi: ciclo inicial de 5 min a 94° para a desnaturação do DNA; 30 ciclos de: 94° por 1 min, temperatura de hibridização específica de cada par de iniciadores (Tabela 5) 45-75 seg, 72° por 1 min, com uma extensão final de 72° por 7 minutos. Em todas as reações foram incluídos controles negativos para verificar a possibilidade de contaminação.

Após a amplificação, os produtos da PCR foram corados com GelRed™ (Biotium), submetidos à eletroforese em gel de agarose 2% e, sob transiluminador de luz ultravioleta 302 nm (BioAgency), fotodocumentados e analisados. A purificação dos produtos da PCR foi feita com o kit Wizard SV gel and PCR Clean-Up System (Promega™) e em seguida foi feito o sequenciamento utilizando-se o Kit ABI BigDye Terminator (Applied Biosystems) em sequenciador automático ABI 3130xl (Applied Biosystems).

4.6.4 Análise dos eletroferogramas e alinhamento

Os eletroferogramas das sequências obtidas foram inspecionados utilizando o programa CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, www.codoncode.com). As sequências *forward* e *reverse* de cada amostra foram alinhadas junto com uma sequência referência e, levando-se em conta a qualidade do sequenciamento de cada posição, foi determinado o consenso. No caso do Cytb, em que dois iniciadores foram utilizados, as sequências dos dois fragmentos (660 e 480 pb) foram concatenadas. As sequências consenso do topótipo se encontram no Apêndice C.

No software MEGA 7 (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016) foram elaboradas quatro matrizes: Cytb, COI, D-loop e outra dos três fragmentos do DNA mitocondrial concatenados (COI, Cytb, D-loop), as quais eram compostas pelas sequências consenso e outras amostras obtidas em bases de dados mundiais (GenBank) e no banco de dados do NUPECCE. As matrizes foram alinhadas com o algoritmo MAFFT (KATO; STANDLEY, 2013). Os táxons *Capreolus capreolus* e *Rangifer tarandus*

foram utilizados como grupo externo nas análises filogenéticas. As amostras utilizadas encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Amostras utilizadas nas análises filogenéticas:

ID	Espécie	Origem	Cytb	COI	D-loop	Concatenada	Nº de acesso	Fonte
T377**	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Assunção, Paraguai	X	X	X	X	-	-
P1	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Assunção, Paraguai	X	X	X	X	-	-
P2	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Assunção, Paraguai	X	X	X	X	-	-
T372	<i>M. gouazoubira</i>	Próximo a Puerto Pinasco, Paraguai	X	X	-	-	-	-
T112	<i>M. gouazoubira</i>	São Paulo	X	-	-	-	DQ789202	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
T101	<i>M. gouazoubira</i>	Paraná	X	-	-	-	DQ789200	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
T69	<i>M. gouazoubira</i>	Paraná	X	-	-	-	DQ789229	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg001	<i>M. gouazoubira</i>	La Valleja, Uruguai	X	-	-	-	DQ789179	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg14	<i>M. gouazoubira</i>	Santa Cruz, Bolívia	X	-	-	-	DQ789181	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg40	<i>M. gouazoubira</i>	-	X	-	-	-	DQ789183	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008

Msg43	<i>M. gouazoubira</i>	Piedade, São Paulo, Brasil	X	-	-	-	DQ789184	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg45	<i>M. gouazoubira</i>	Salto de Pirapora, São Paulo, Brasil	X	-	-	-	DQ789185	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg53	<i>M. gouazoubira</i>	Paraná, Brasil	X	-	-	-	DQ789186	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg61	<i>M. gouazoubira</i>	Florianópolis, Santa Catarina, Brasil	X	-	-	-	DQ789188	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg64	<i>M. gouazoubira</i>	Tucumán, Argentina	X	-	-	-	DQ789189	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg325	<i>M. gouazoubira</i>	Maldonado, Uruguai	X	-	-	-	DQ789182	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg330	<i>M. gouazoubira</i>	Tacuarembó, Uruguai	X	-	-	-	DQ789183	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
Msg1730	<i>M. gouazoubira</i>	Maldonado, Uruguai	X	-	-	-	DQ789183	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
SP80-85	<i>M. gouazoubira</i>	SP, Brasil	X	-	-	-	KT626629- 34	CARNIELI et al., 2016
T314	<i>M. gouazoubira</i>	Pantanal, Brasil	X	X	X	X	KJZZ2514*	CAPARROZ et al, 2015
MRGMsp2†	<i>M. gouazoubira</i>	Colômbia	X	X	X	X	JN632658*	HASSANIN et al., 2012
T359	<i>M. nemorivaga</i>	Guiana Francesa	X	X	X	X	-	NUPECCE
T358	<i>M. americana</i>	Guiana Francesa	X	X	X	X	-	NUPECCE
T053	<i>M. nana</i>	Curitiba, PR	X	-	-	-	DQ789227	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008

T071	<i>M. bororo</i>	Barra do Turvo, PR	X	-	-	-	DQ789231	DUARTE; GONZÁLEZ; MALDONADO, 2008
AMNH 66741	<i>M. rufina</i>	Pichincha, Ecuador	X	-	-	-	KR107039	GUITIERREZ et al., 2015
FMNH20197	<i>M. bricenii</i>	Mérida, Venezuela	X	-	-	-	KR107036	GUITIERREZ et al., 2015
ANIMAYA06	<i>M. pandora</i>	México, Yucatan	X	-	-	-	KC146954	ESCOBEDO-MORALES et al. 2016
821, ECOSCM	<i>M. temama</i>	México, Chiapas	X	-	-	-	KC146956	ESCOBEDO-MORALES et al. 2016
BMNH 1967.1362	<i>M. chunyi</i>	Chiquis, Peru	X	-	-	-	LT546655	HECKEBERG et al., 2016
-	<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	-	X	X	X	X	JN632681*	HASSANIN et al., 2012
-	<i>Odoicoleus virginianus</i>	-	X	X	X	X	NC015247*	SEABURY et al. 2011
MRGBd8	<i>Blastocerus dichotomus</i>	Bolivia	X	X	X	X	JN632603*	HASSANIN et al., 2012
MRGHa9	<i>Hippocamelus antisensis</i>	Argentina	X	X	X	X	JN632646*	HASSANIN et al., 2012
-	<i>Capreolus capreolus</i>	-	X	X	X	X	KJ681491*	MATOSIUK et al., 2014
-	<i>Rangifer tarandus</i>	-	X	X	X	X	NC007703*	-

*mitogenoma

**topótipo

4.6.5 Análises Filogenéticas

4.6.5.2 Seleção do melhor modelo evolutivo

Através do programa jModelTest (POSADA; CRANDALL, 1998) no servidor online CIPRES (MILLER et al., 2010), foi selecionado o melhor modelo de evolução de nucleotídeos para a análise bayesiana utilizando-se o critério AIC (Akaike Information Criterion) (BURNHAM; ANDERSON, 2002).

4.6.5.3 Máxima Verossimilhança

A análise foi feita no programa PhyML (GUINDON; GASKUEL, 2003) com 5000 réplicas de bootstrap. O melhor modelo evolutivo para esta análise também foi selecionado no mesmo programa.

4.6.5.4 Inferência Bayesiana

A análise foi rodada no programa MR. BAYES 3 (HUELSENBECK; RONQUIST; 2001), no servidor online CIPRES (MILLER et al., 2010), com 10.000.000 gerações com 4 réplicas e uma temperatura de 0,05. A frequência de amostragem foi de 1 árvore a cada 1.000 passos, com burnin de 25%. Foi calculada a probabilidade posterior como medida de suporte.

5. RESULTADOS

5.1 Pesquisa da localização do holótipo

As espécies descritas por Azara (1801, 1802) não possuem holótipo porque no momento de coleta e observação das mesmas o autor se encontrava no Vice Reino do Rio da Prata, local sem infra-estrutura naquele período e que não possuía instituições que abrigassem coleções naturais. Sendo assim, o engenheiro enviava seus espécimes em navios para o então Real Gabinete, museu renomado da

metrópole, Espanha (AZARA, 1802). Como não tinha conhecimento de técnicas específicas para esta finalidade e devido às altas temperaturas e condições ambientais locais, Azara não conseguia preservar seus espécimes, especialmente os mamíferos, e somente há registros de um mamífero ("Muycure", terceira espécie) e de cerca de 400 pássaros enviados por ele, ambos preservados em potes de vidro com aguardente (AZARA, 1802). Atualmente, não se encontra nenhum animal enviado por Azara no Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid⁸ (antigo Real Gabinete).

A descrição válida para a espécie, de Fischer (1814), foi embasada no relato de Azara e por isso, não foi estabelecido um tipo.

Em vista disso, foi feita uma pesquisa visando confirmar que o holótipo de Azara realmente não existe e também descartar a possibilidade de existência de um neótipo.

As buscas foram feitas em instituições reconhecidas mundialmente, e que disponibilizam a base de dados de suas coleções *on-line*: Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris), Natural History Museum (Londres), National Museum of Natural History¹ (Smithsonian, Nova Iorque), American Museum of Natural History² (AMNH, Nova Iorque); em museus na região do Vice Reino do Rio da Prata: Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay³ (Paraguai), Fundación de Historia Natural Félix de Azara⁴ (Argentina), Museu Nacional de Historia Natural⁵ (Uruguai); no museu no qual Fischer (1814) era diretor (Zoological Museum of Moscow University⁶, Rússia) e no antigo Real Gabinete (Museo Nacional de Ciencias

¹*LUDWIG, C; GARDNER, A. L. (National Museum of Natural History Smithsonian, Nova Iorque, Estados Unidos). Comunicação Pessoal, 2015

²*WESTWIG, E. (American Museum of Natural History, Estados Unidos). Comunicação Pessoal, 2015.

³*RIOS, S. (Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, Paraguai). Comunicação Pessoal, 2015.

⁴*BOGAN, S. (Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Argentina). Comunicação Pessoal, 2015.

⁵*GONZALEZ, E. (Museu Nacional de Historia Natural, Uruguai). Comunicação Pessoal, 2015.

⁶* KRUSKOP, S. V. (Zoological Museum of Moscow University, Rússia). Comunicação Pessoal, 2015.

Naturales de Madrid^{7,8}, Espanha). Não foi encontrado nenhum registro do holótipo de Azara e nem de neótipos, permitindo assim, a designação de um neótipo para esta espécie.

5.2 Morfologia, biometria e craniometria

Descrição emendada de *Mazama gouazoubira* Fischer, 1814 (MAMMALIA, CERVIDAE) baseada em um macho jovem: Dorso da cabeça com coloração geral cinza salpicado de dourado e mais dourado lateralmente. Mancha mental e nasal presente (Figura 11C e 10B, respectivamente). Faixa rostral marrom escuro em direção posterior até o botão dos chifres (Figura 12C). Faixa orbital superior e inferior, presentes, amarelo claro salpicado de marrom (Figura 10B). Mancha superciliar presente (Figura 12C). Presença de tufo de pelos frontais (Figura 12C). Orelhas grandes, arredondas na ponta, sua borda interna branca, com pelagem amarela na borda lateral inferior e branca nas pregas e na borda medial inferior, onde o pelo é mais comprido. Borda lateral inferior externa das orelhas bege claro e marrom claro/cinza escuro em direção às extremidades. Coloração dorsal marrom escuro acinzentado no pescoço até a região anterior do corpo e posteriormente marrom escuro salpicado de dourado (Figura 12A) e mais clara nos flancos, onde a pelagem é mais comprida e alguns pelos são amarelo claro, quase brancos. Ausência de pelos antevertidos na nuca. Ancas com coloração igual do dorso, porém mais intensa. Região mais posterior das ancas e dorso da cauda de coloração homogênea marrom-alaranjada intensa e com pelos mais compridos (Figura 12B). Ventre da cabeça bege bem claro, da cor da borda lateral inferior externa das orelhas. O pescoço da mesma cor de seu dorso, mas, salpicado de dourado, com este padrão até o início do tórax. Parte final do tórax, marrom intenso; abdômen, amarelo claro opaco e região inguinal branca. Região perianal e ventre da cauda branco puro (Figura 11B). Área proximal externa dos membros da cor do

⁷ *RODRIGUEZ, A. L. G. (Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, Espanha). Comunicação Pessoal, 2015.

⁸ * RODRIGUEZ, J. B. (Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, Espanha). Comunicação Pessoal, 2015.

dorso do pescoço e na parte distal, dourado escuro. Nos membros anteriores, em cima da articulação úmero-rádio-ulnar, presença de mancha dourado escuro (Figura 10A). Parte interna dos membros de cor amarelo opaco, mais escuro que o ventre, e mais intensa distalmente. Presença de tufo de pelos curtos antevertidos na região tarsal (Figura 11B), alguns destes, de cor branca na região do jarrete.

Localização do registro: 17 km em linha reta de Assunção, Paraguai.

Coordenadas geográficas do ponto de coleta: 25°09'50.96"S e 57°45'4.50"O

Depositado em: Museu Cervidológico do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"- Campus de Jaboticabal/SP.

Nº de tombo: NPC 113

Sinonímias: Serão consideradas sinonímias somente nomes embasados na descrição de Azara, que são: *Cervus simplicicornis* Illiger 1815; *Cariacus (Coassus) simplicicornis* Brooke 1878; *Subulo simplicicornis* Pelzeln 1883; *Cervus (Coassus) simplicicornis* Ihering 1894; *Mazama simplicicornis* Miranda-Ribeiro 1919; *Azarina fusca* Larrañaga 1923 e *Mazama gouazoubira* Hershkovitz, 1951.

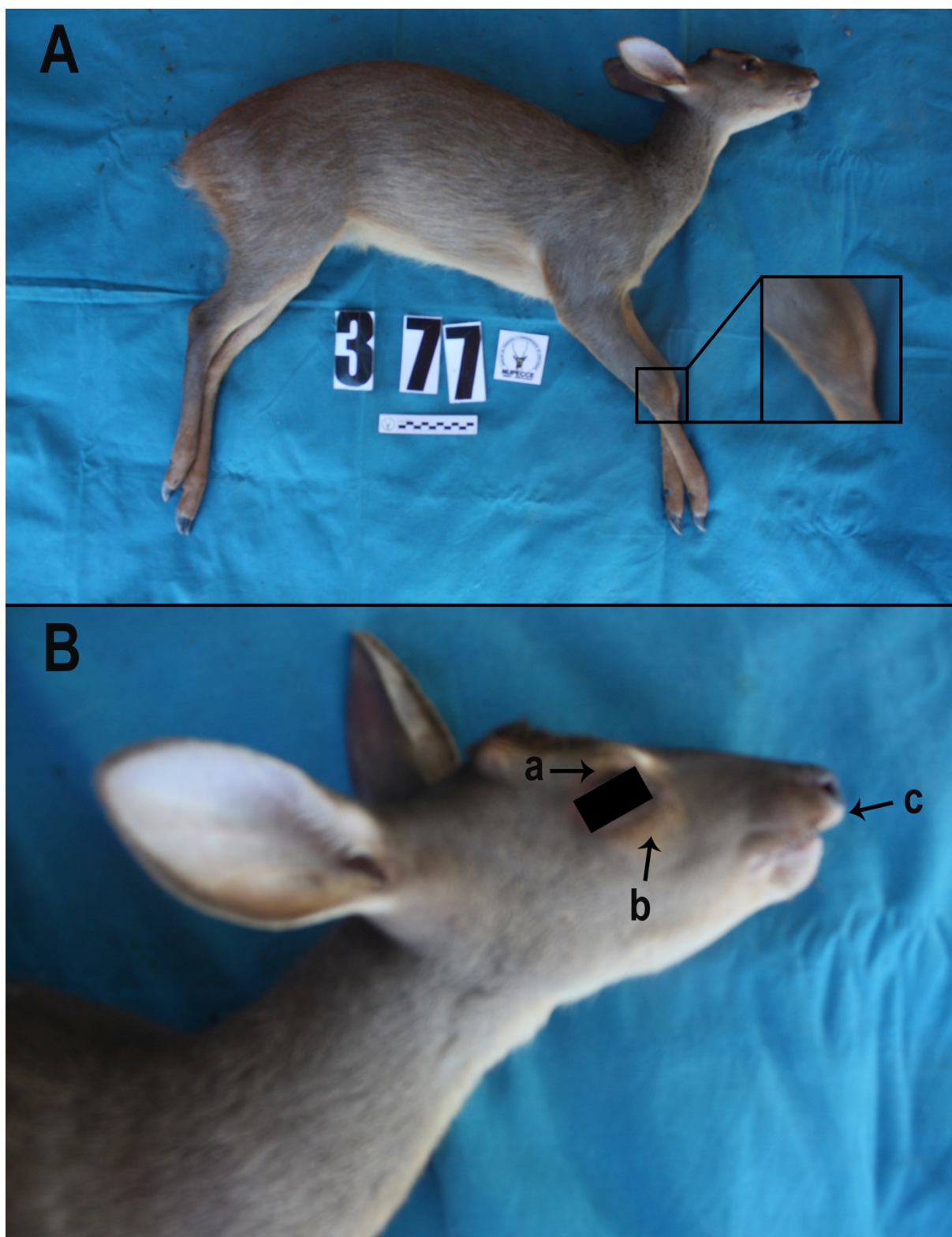


Figura 10. Vista lateral do topótipo de *Mazama gouazoubira*. (A) Em detalhe, mancha dourado escuro cobrindo articulação úmero-rádio-ulnar. (B) Faixa orbital superior (a) e inferior (b), mancha nasal (c) (Foto: J. M. B. Duarte).

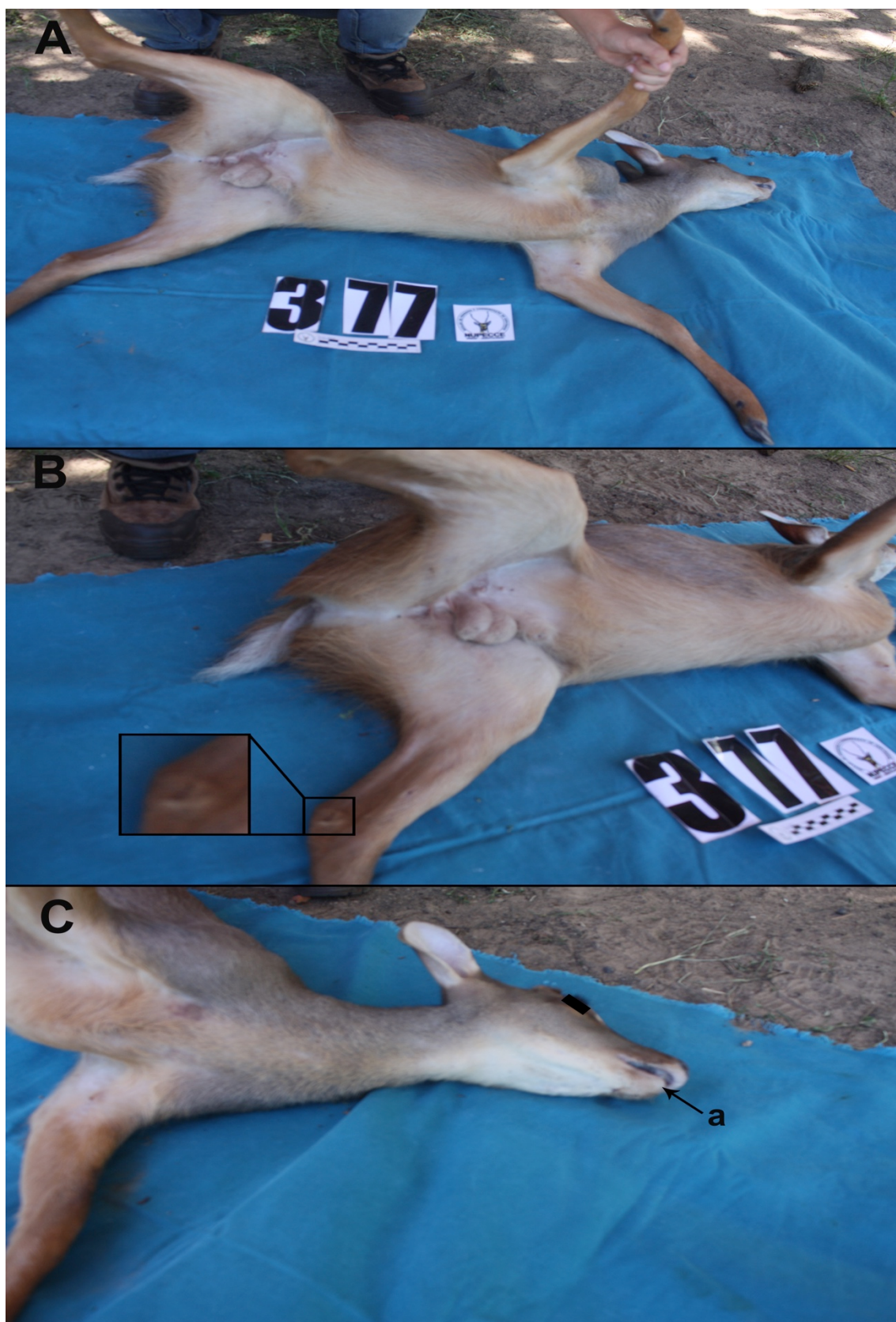


Figura 11. (A) Vista ventral do topótipo de *Mazama gouazoubira*. (B) Em detalhe, tufo de pelos antevertidos na região tarsal. (C) Mancha mentoniana (a) (Foto: J. M. B. Duarte).

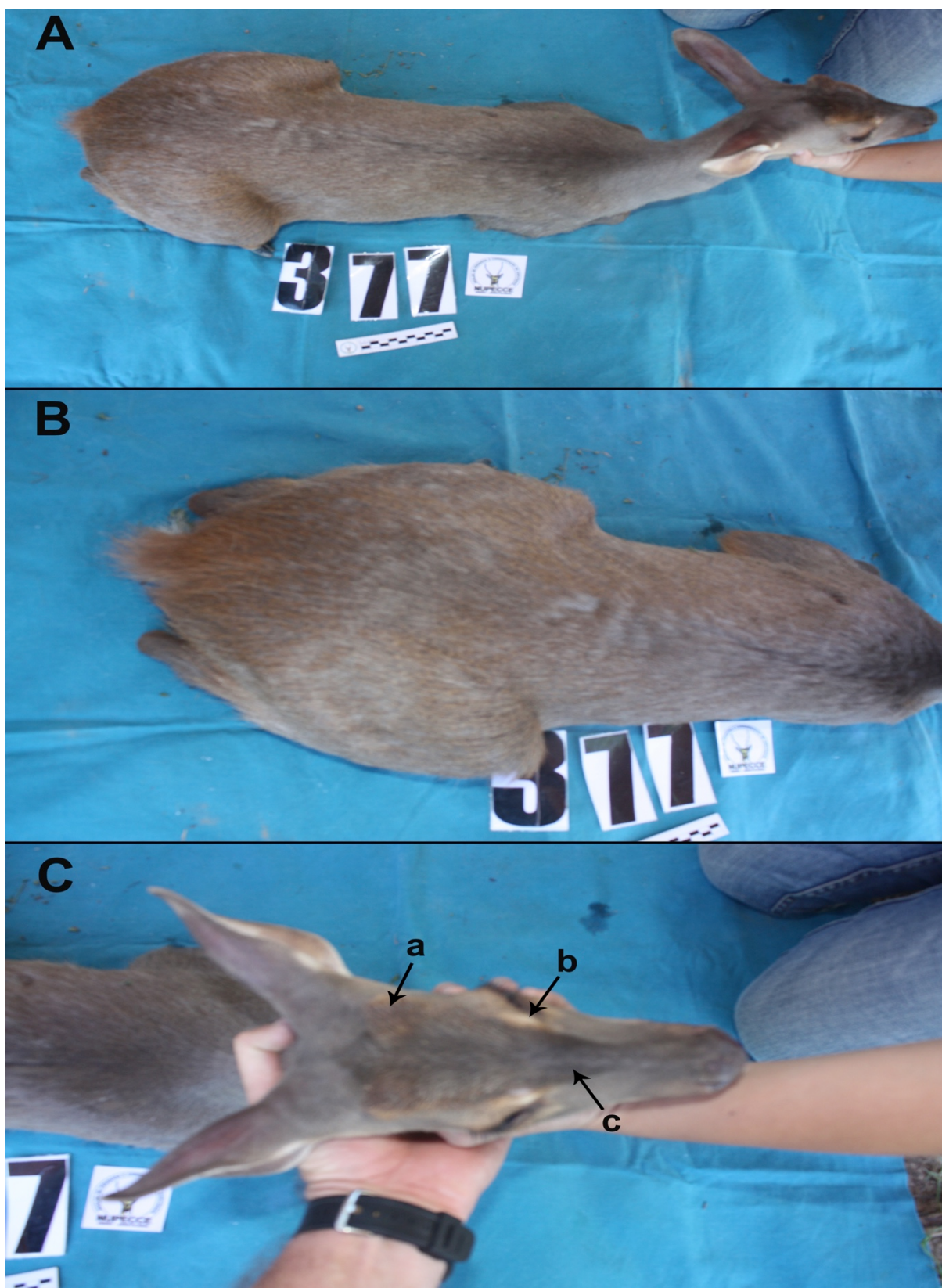


Figura 12. (A) Vista dorsal do topótipo de *Mazama gouazoubira*. (B) Ancas e dorso da cauda com coloração marrom-alaranjada intensa (C) Tufo de pelos frontais (a), mancha superciliar (b) e faixa rostral (c) (Foto: J. M. B. Duarte).

A seguir, é apresentada a pele taxidermizada do topótipo (Figura 13), também utilizada na descrição morfológica, e suas medidas biométricas (Tabela 7).



Figura 13. Pele taxidermizada do topótipo de *Mazama gouazoubira*, nº de tombo: NPC113.

Tabela 7. Medidas biométricas do topótipo de *Mazama gouazoubira* (em mm, massa em kg).

Comprimento da cabeça: 190	Comprimento do corpo: 700
Largura da cabeça: 78	Abdômen: 610
Comprimento da orelha: 103	Comprimento do testículo direito: 45
Distância entre olhos: 48	Comprimento do testículo esquerdo: 42
Mandíbula: 715	Diâmetro do testículo direito: 195
Perímetro do pescoço: 230	Diâmetro do testículo esquerdo: 200
Tórax: 540	Metatarso: 210
Altura: 520	Comprimento da cauda: 108
Metacarpo: 135	
	Massa: 15,5

A seguir é apresentado o crânio mascerado do topótipo de *M. gouazoubira* (Figura 14), suas medidas cranianas (Tabela 8) e do pós-crânio (Tabela 9).



Figura 14. Vista frontal, ventral e lateral esquerda, respectivamente, do crânio do topótipo de *Mazama gouazoubira*.

Tabela 8. Medidas cranianas (em mm) do topótipo de *Mazama gouazoubira*, de acordo com DRIESCH (1976).

1) Comprimento total: 165,91	20) Distância corrida de dentes: 53,33
2) Comprimento côndilo-basal: 157,14	21) Comprimento da linha molar: 30,86
3) Comprimento basal: 147,02	22) Comprimento da linha pré-molar: 29,02
4) Comprimento curto do crânio: 102,44	23) Maior comprimento interno da órbita: 28,46
5) Pré-molar - prosthion: 46,25	24) Maior altura interna da órbita: 26,55
6) Eixo base-cranial: 19,67	25) Maior largura do mastóide: 65,98
7) Eixo base-facial: 127,19	26) Maior largura dos côndilos occipitais: 33,15
9) Comprimento vicero-craniano: 75,68	27) Maior largura das bases do processo para-occipital: 37,99
10) Comprimento frontal mediano: 99,87	28) Maior largura do forâmen magno: 14,37
11) Lambda - nasal: 91,09	31) Menor largura frontal: 53,87
12) Lambda - rhinion: 130,70	32) Maior largura entre as órbitas: 54,29
13) Lambda - prosthion: 156,21	33) Menor largura entre as órbitas: 40,49
14) Acrocânio: 117,51	34) Largura do zigomático: 73,67
15) Maior comprimento dos nasais: 44,2	35) Maior largura entre os nasais: 15,90
16) Comprimento facial - lateral curto: 77,65	36) Maior largura entre o pré-maxilar: 20,83
17) Comprimento palatal mediano: 97,1	37) Maior largura palatal: 55,18
18) Comprimento palatal - oral: 66,62	38) Basion - ponto mais alto da crista nugal superior: 38,31
19) Comprimento lateral do pré-maxilar: 41,3	

*Os números das medidas correspondem aos adotados por DRIESCH (1976).

Tabela 9. Medidas do pós-crânio (em mm) do topótipo de *Mazama gouazoubira*, de acordo com DRIESCH (1976).

Atlas	
Comprimento maior (GL)	33,74
Maior largura entre as asas (GB)	40,91
Maior largura da face articulada cranial (BFcr)	34,64
Maior largura da face articulada caudal (BFcd)	30,89
Axis	
Comprimento maior na região do corpo (LCDe)	50,43
Maior largura da face articulada cranial (BFcr)	30,97
Maior largura da face articulada caudal (BFacd)	28,8
Sacro	
Comprimento maior, do lado ventral (GL)	55,62
Maior largura, entre as asas (GB)	29,53
Escápula	
Altura ao longo da espinha (HS)	105,14

Comprimento maior do processo glenóide (GLP)	20,02
Úmero	
Comprimento maior (GL)	119,26
Maior largura da epífise proximal (Bp)	19,08
Rádio	
Comprimento maior (GL)	119,22
Largura da epífise proximal (Bp)	21,52
Largura da epífise distal (Bd)	17,70
Ulna	
Comprimento maior (GL)	138,89
Comprimento do olécrano (LO)	22,10
Pélvis	
Comprimento maior (GL)	157,14
Fêmur	
Comprimento maior (GL)	148,24
Largura da epífise proximal (Bp)	31,20
Largura da epífise distal (Bd)	24,56

*As abreviaturas das medidas correspondem às adotadas por DRIESCH (1976).

Nas análises de componentes principais das medidas biométricas e cranianas, machos e fêmeas foram colocados na mesma matriz e também em matrizes separadas e, como não foi observado dimorfismo sexual, ambos os sexos foram incluídos na mesma matriz.

O escatograma dos dois primeiros componentes da PCA de onze medidas biométricas (Figura 15A) mostrou um aglomerado principal de pontos que contém as espécies *M. gouazoubira*, *M. nana* e *M. nemorivaga*, sobrepostas. As espécies *M. bororo* e *M. americana* tiveram posição externa desse aglomerado central de pontos e, portanto, conseguiram ser mais distinguíveis em relação às outras espécies, apesar de não totalmente.

Os dois primeiros componentes principais acumularam 87,38% da variância da matriz de dados (Tabela 10). Pelo fato das medidas perímetro do tórax e comprimento do corpo terem as maiores cargas no primeiro componente (PC1) e uma vez que a maior parte da variação entre indivíduos é devida ao tamanho, é possível interpretar a variação representada por este componente como relacionada a esse fator. As medições com maiores cargas no segundo componente (PC2) foram as mesmas que em PC1, e, pela diferença de sinal presente entre as cargas destas medidas neste componente, o mesmo pode ser chamado de contraste de perímetro do tórax com comprimento do corpo.

A árvore de distância (Figura 15B), construída pelo método UPGMA utilizando os caracteres morfológicos, assim como na PCA, mostrou sobreposição de amostras de diferentes espécies do gênero *Mazama*, não sendo capaz de diferenciá-las.

Nas análises biométricas, o topótipo, apesar de ser juvenil, e o parátipo (T372) tiveram posições dentro da variabilidade de *M. gouazoubira*.

Tabela 10. Cargas das medidas biométricas nos dois primeiros componentes principais da PCA:

Medidas	PC 1	PC 2
Massa	0.48819	-0.05689
Comprimento da cabeça	0.12421	0.039574
Largura da cabeça	0.04211	-0.017099
Comprimento da orelha	0.041624	0.061001
Distância entre olhos	0.015423	-0.0043444
Comprimento do metacarpo	0.075853	0.10227
Altura	0.35767	0.27482
Comprimento do corpo	0.52924	0.58363
Comprimento da cauda	0.062341	0.072491
Comprimento do metatarso	0.11949	0.11369
Perímetro do tórax	0.55728	-0.73917
% da variância	75,60%	11,78%

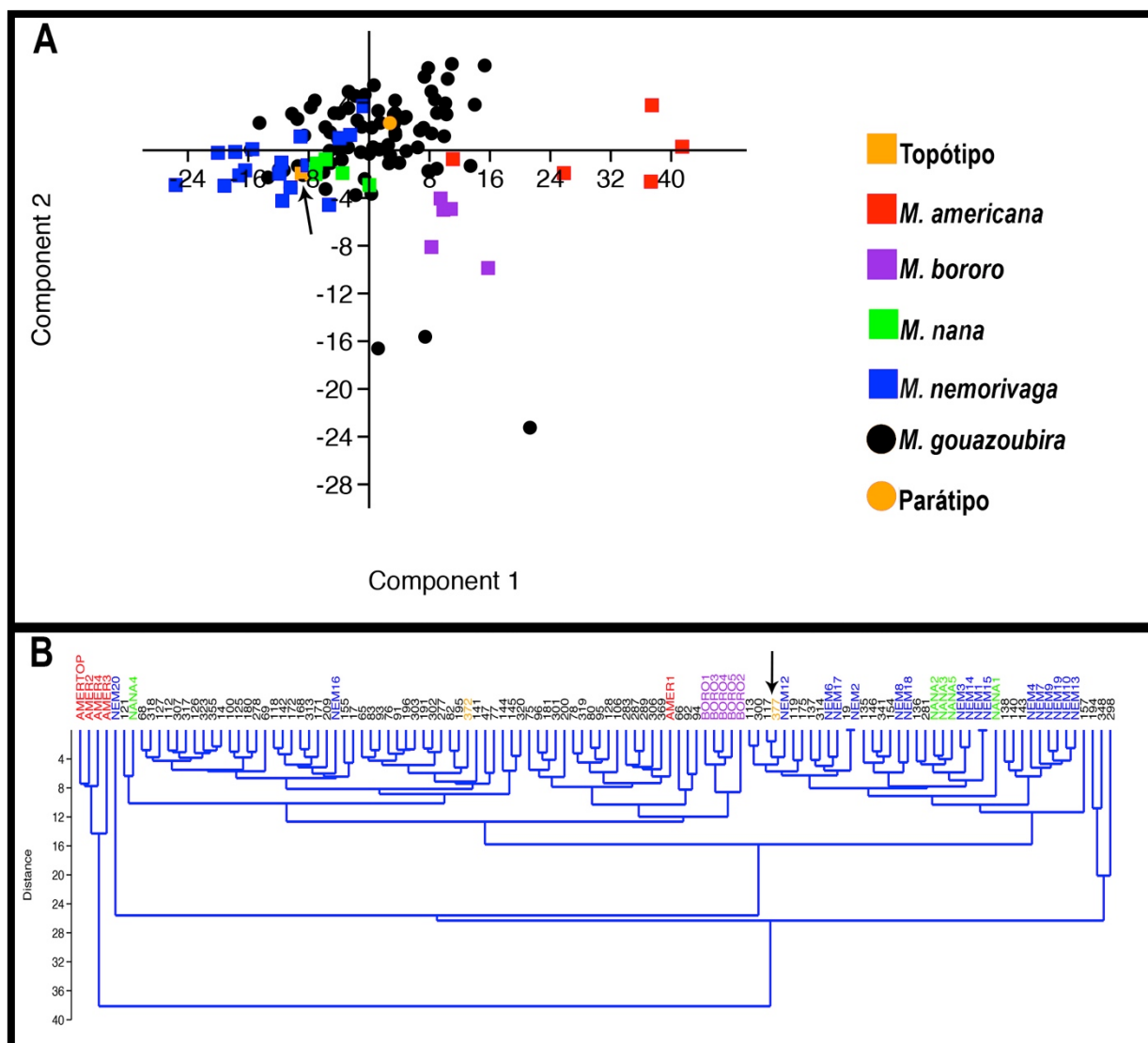


Figura 15. Escatograma dos dois primeiros componentes da PCA (A) e árvore de distância obtida pelo método UPGMA (B) de onze medidas biométricas tomadas de espécimes de *M. gouazoubira*, incluindo seu topótipo (posição indicada pela seta) e de outras espécies do gênero *Mazama* (*M. americana*, *M. bororo*, *M. nana* e *M. nemorivaga*).

O escatograma dos dois primeiros componentes da PCA de cinco medidas cranianas (comprimento total, comprimento do nasal, distância corrida de dentes, comprimento da linha molar e largura do arco zigomático) (Figura 16), não foi capaz de distinguir as espécies *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga*, *M. bororo*, *M. nana*, *M. cita* e *M. simplicicornis*. Somente *M. americana*, mostrou-se marcadamente distanciada dos demais pontos.

O primeiro e segundo componentes, juntos, mostraram 90,43% da variância encontrada nos dados (Tabela 11). O primeiro componente (PC1) foi interpretado como um eixo que representou o tamanho. As medidas comprimento total e comprimento do nasal tiveram as maiores carga em PC1. O segundo componente (PC2) teve as medições comprimento do nasal e distância corrida de dentes com as maiores cargas, sendo que a primeira medida apresentou carga negativa, e a outra, positiva, e, por isso, pode ser chamado de contraste entre comprimento do nasal e distância corrida de dentes.

A árvore de distância (Figura 16), construída pelo método UPGMA utilizando caracteres morfológicos cranianos, mostrou dois clados principais, um composto por *M. americana* e outro que contém o topótipo, *M. nemorivaga*, *M. bororo*, *M. cita*, *M. simplicicornis* e todos os outros espécimes de *M. gouazoubira* analisados.

Nas análises craniométricas, o topótipo, apesar de ser juvenil, e o parátipo (T372), tiveram posições dentro da variabilidade de *M. gouazoubira*.

Tabela 11. Cargas das medidas craniométricas nos dois primeiros componentes principais da PCA:

Medidas	PC 1	PC 2
Comprimento total	0.81616	0.16626
Comprimento do nasal	0.40859	-0.81855
Distância corrida de dentes	0.22179	0.396
Comprimento da linha molar	0.13461	0.31308
Largura do arco zigomático	0.31564	0.21793
% da variância	81,71%	8,72%

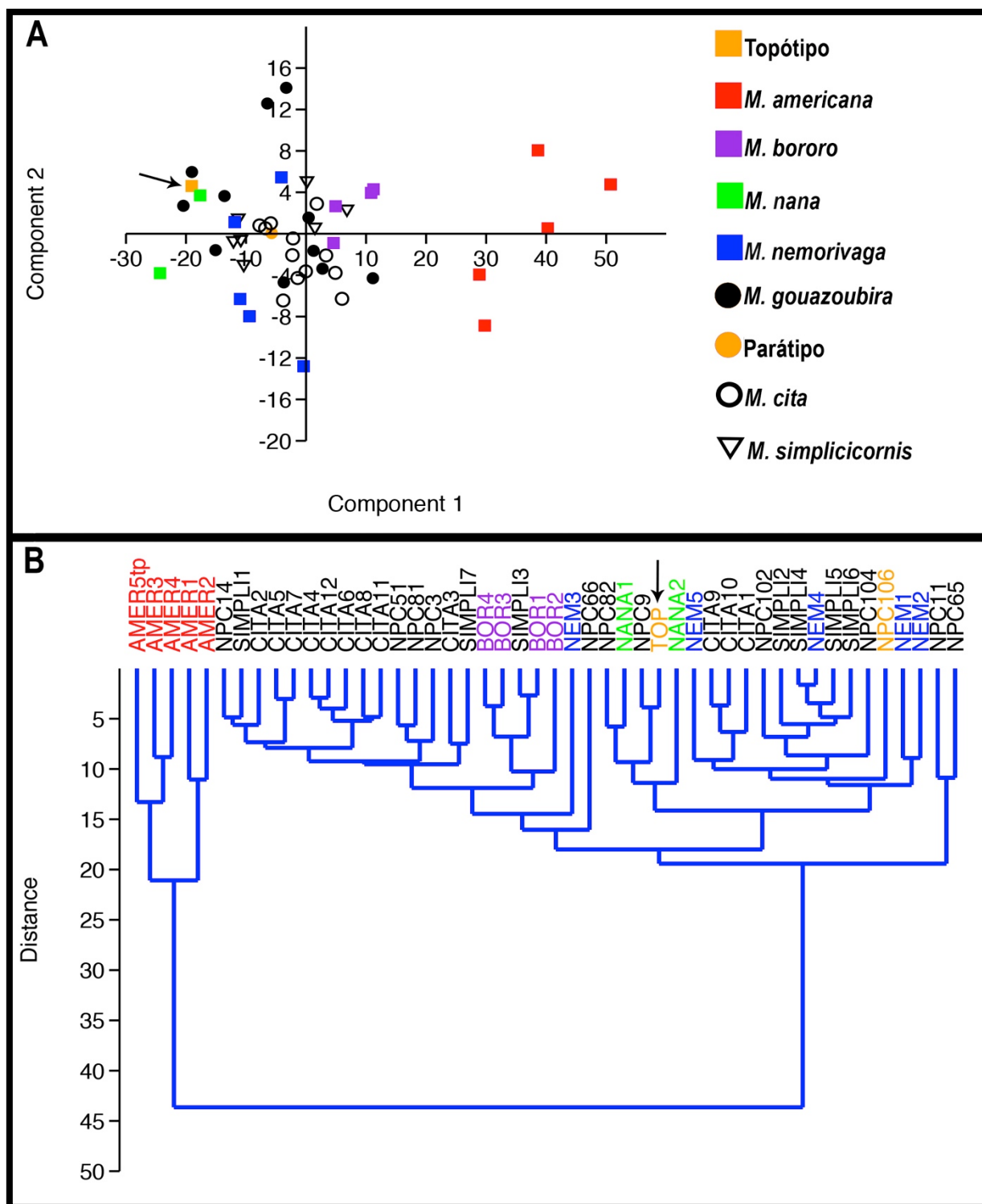


Figura 16. Escatograma dos dois primeiros componentes da PCA (A) e árvore de distância obtida pelo método UPGMA (B) de cinco medidas cranianas de trinta indivíduos do Museu Cervidológico do NUPECCE, incluindo o topótipo de *Mazama gouazoubira* (evidenciado pela seta), e de medidas disponíveis na literatura de *M. cita* e *M. simplicicornis*.

5.3 Citogenética

O topótipo coletado não apresentou o padrão esperado para *M. gouazoubira* ($2n=70$, $NF=70$) devido à presença de rearranjos cromossômicos. O animal apresentou síndrome de Klinefelter, uma monossomia do cromossomo 7 e fusão X;16, gerando o cariótipo $2n=69$ Rb(X;16)XY -7 e $NF=70$ (Figura 17).

Através da biometria, os cromossomos foram classificados de acordo com o seu comprimento relativo de braços (CR), sendo todos pertencentes ao grupo E (pequenos cromossomos de um braço).

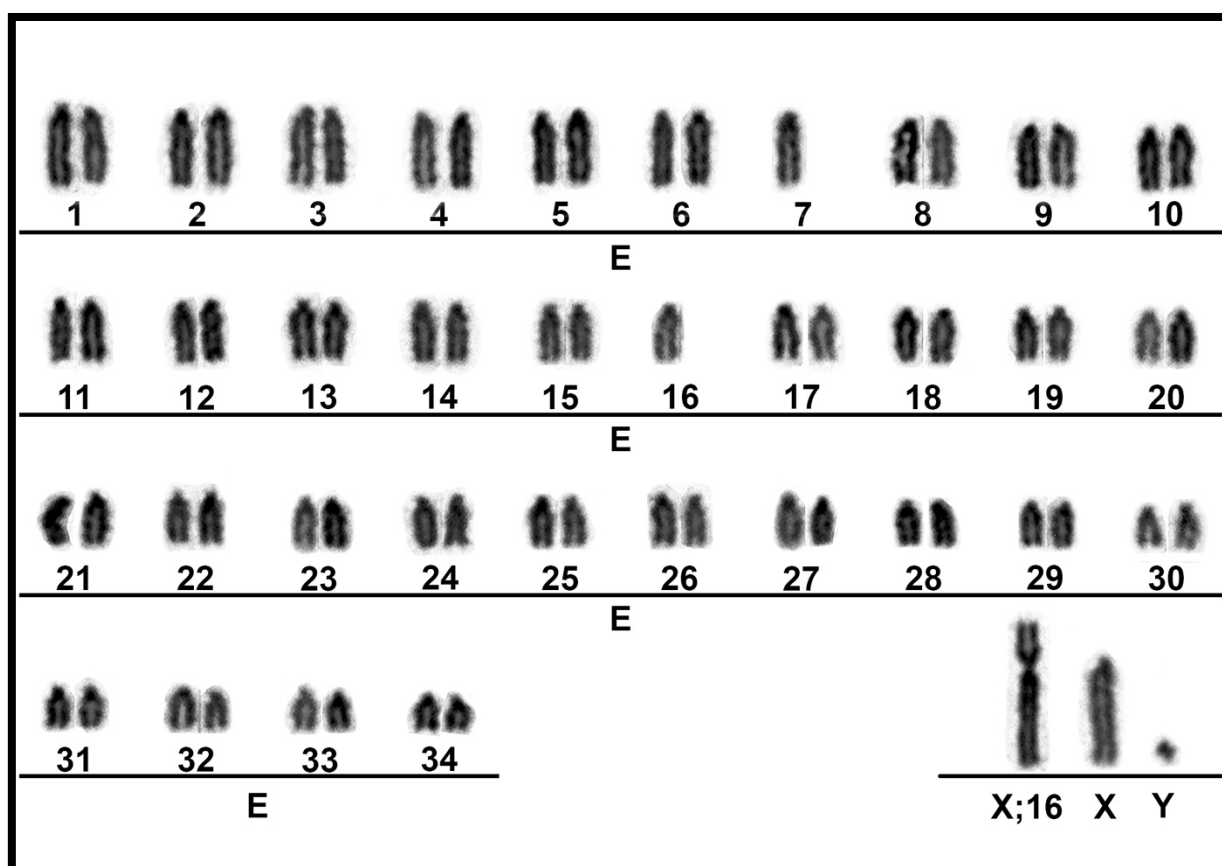


Figura 17. Cariótipo do topótipo de *M. gouazoubira* ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7, $NF=70$) sob coloração convencional Giemsa.

O bandamento C mostrou blocos de heterocromatina constitutiva na região pericentromérica de todos os cromossomos autossômicos (Figura 18). O X também apresentou este padrão (no X translocado este bloco é muito maior que no X

normal) e uma discreta marcação de heterocromatina intersticial (Figura 19, A e B). Tal característica é vestígio de um rearranjo ocorrido no ancestral e é exclusiva do cromossomo X nesta espécie, o que corrobora seu envolvimento na translocação Robertsoniana. O Y apresentou-se eucromático.

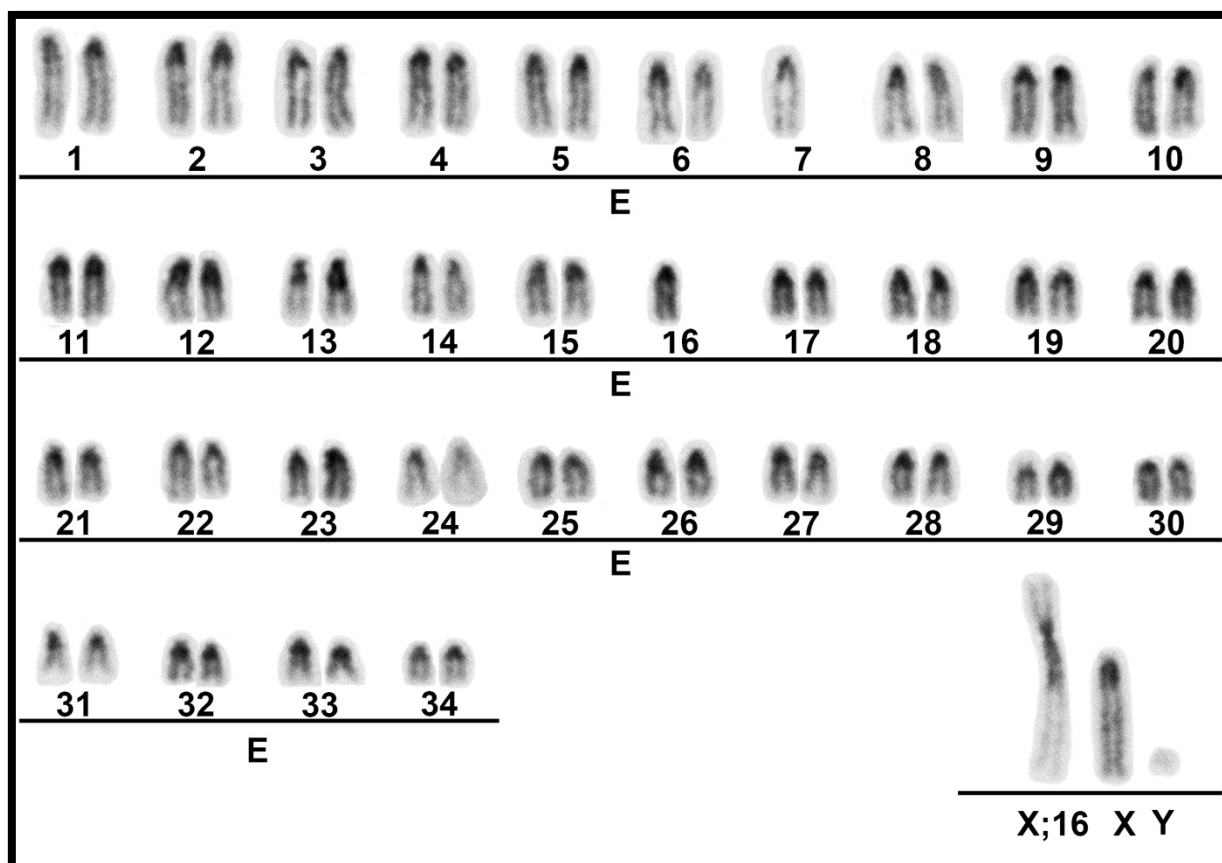


Figura 18. Cariótipo do topótipo de *M. gouazoubira* T377 ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7; NF=70) sob bandamento C.

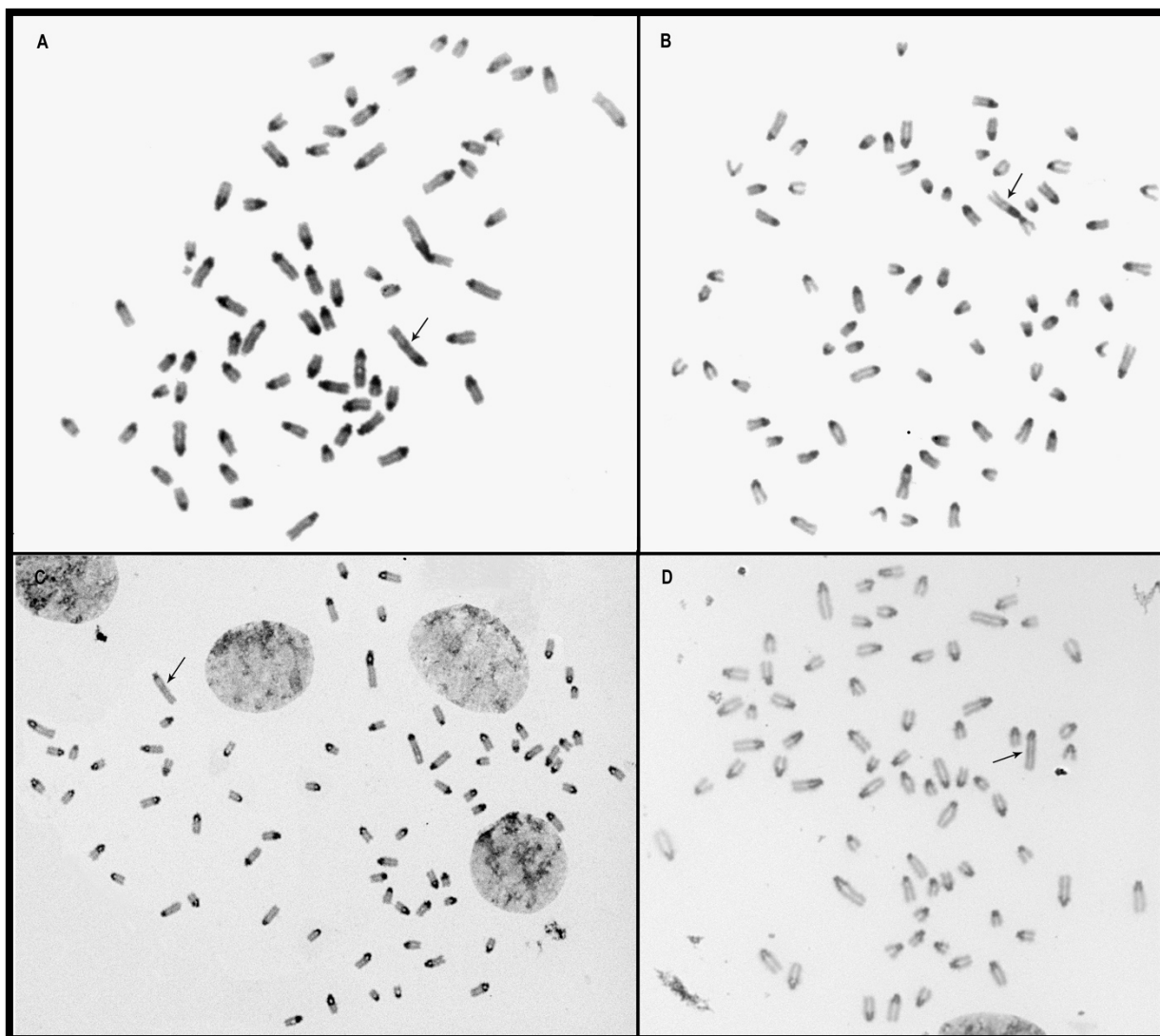


Figura 19. Metáfases sob bandamento C evidenciando discreta marcação heterocromática intersticial no cromossomo X. (A) e (B) Topótipo de *M. gouazoubira* ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7; NF=70). (C) e (D) Parátipos (E e T372, respectivamente, ambos $2n=70$ e NF=70).

Com a coloração Ag-NOR foi observado que a região organizadora do nucléolo está localizada na região telomérica de 3 cromossomos: no par 1 e em um cromossomo do par 2 (Figura 20). Com menor frequência, também foi encontrado metáfases com marcações em cinco e quatro cromossomos, respectivamente (Figura 21A). Pela ausência de regiões organizadoras do nucléolo no cromossomo translocado, foi possível concluir que este não se tratava de um cromossomo do par 1, os quais, com exceção dos sexuais, são os maiores do lote. Nos parátipos (E e

T372), a coloração seguiu o padrão mais frequentemente observado e marcou 4 cromossomos (Figura 21, B e C).

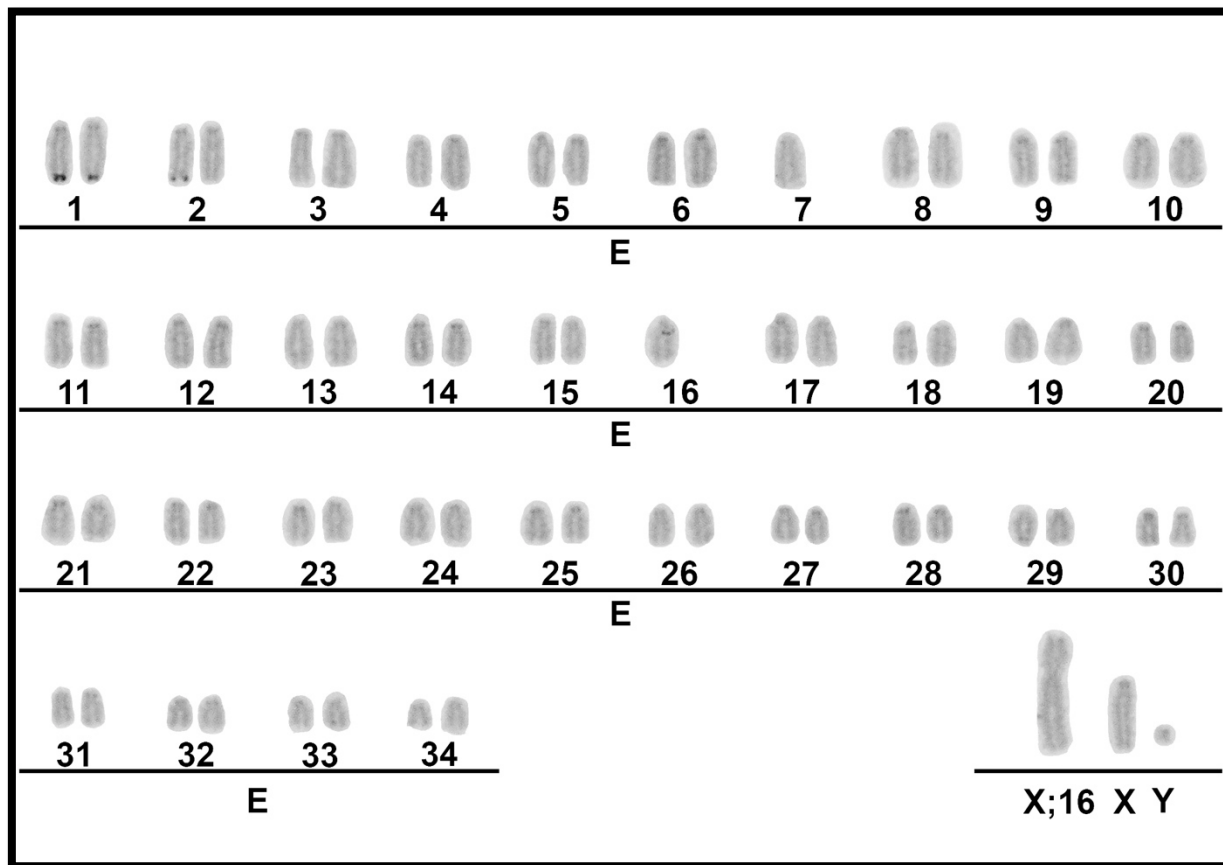


Figura 20. Cariótipo do topótipo de *M. gouazoubira* ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7; NF=70) sob coloração Ag-RON com três regiões organizadoras de nucléolo.

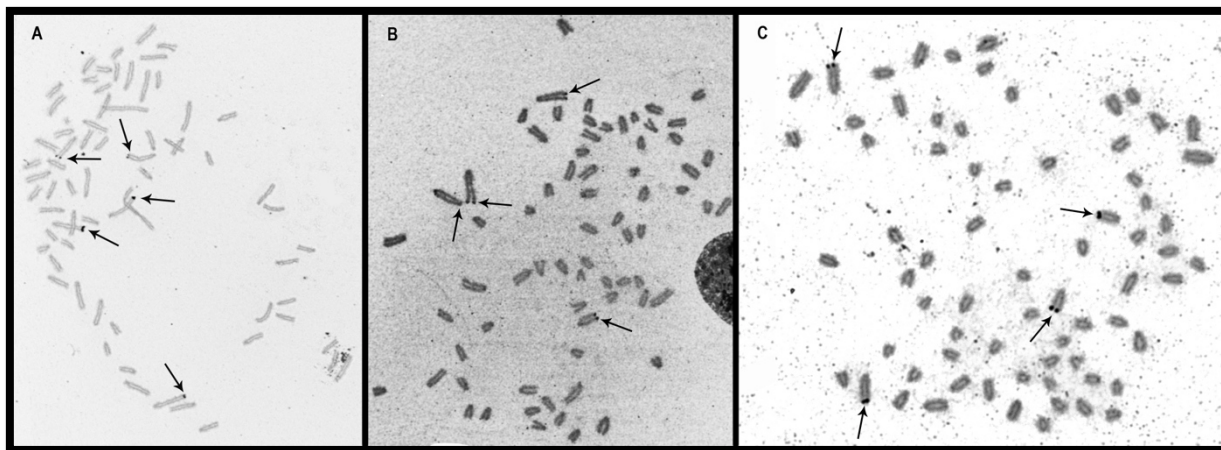


Figura 21. Metáfases sob coloração Ag-RON. (A) Topótipo de *M. gouazoubira* ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7; NF=70) com cinco regiões organizadoras de nucléolo. (B) e (C) Parátipos (E e T372, respectivamente, ambos $2n=70$ e NF=70) com quatro regiões organizadoras de nucléolo.

A técnica de bandamento G permitiu o pareamento correto dos cromossomos homólogos, a identificação de aberrações cromossômicas e dos cromossomos envolvidos nos rearranjos.

A comparação do padrão de bandas G do topótipo com o idiograma de bandamento G da espécie (NEITZEL, 1987) (Figura 22 e 23A) e com dois parátipos (E e T372, Figura 23B e 24), sugere o envolvimento do X e do autossomo 16 na translocação Robertsoniana. Por meio da comparação, também foi possível confirmar que o espécime tem dois cromossomos X e, portanto, é portador da síndrome de Klinefelter (Figura 23, B e D). Comparando-se o padrão de bandamento G do cromossomo monossômico com o idiograma da espécie, pode-se identificá-lo como sendo o 6, porém, no idiograma do topótipo, este cromossomo é o 7 (Figura 23 C e Figura 24).

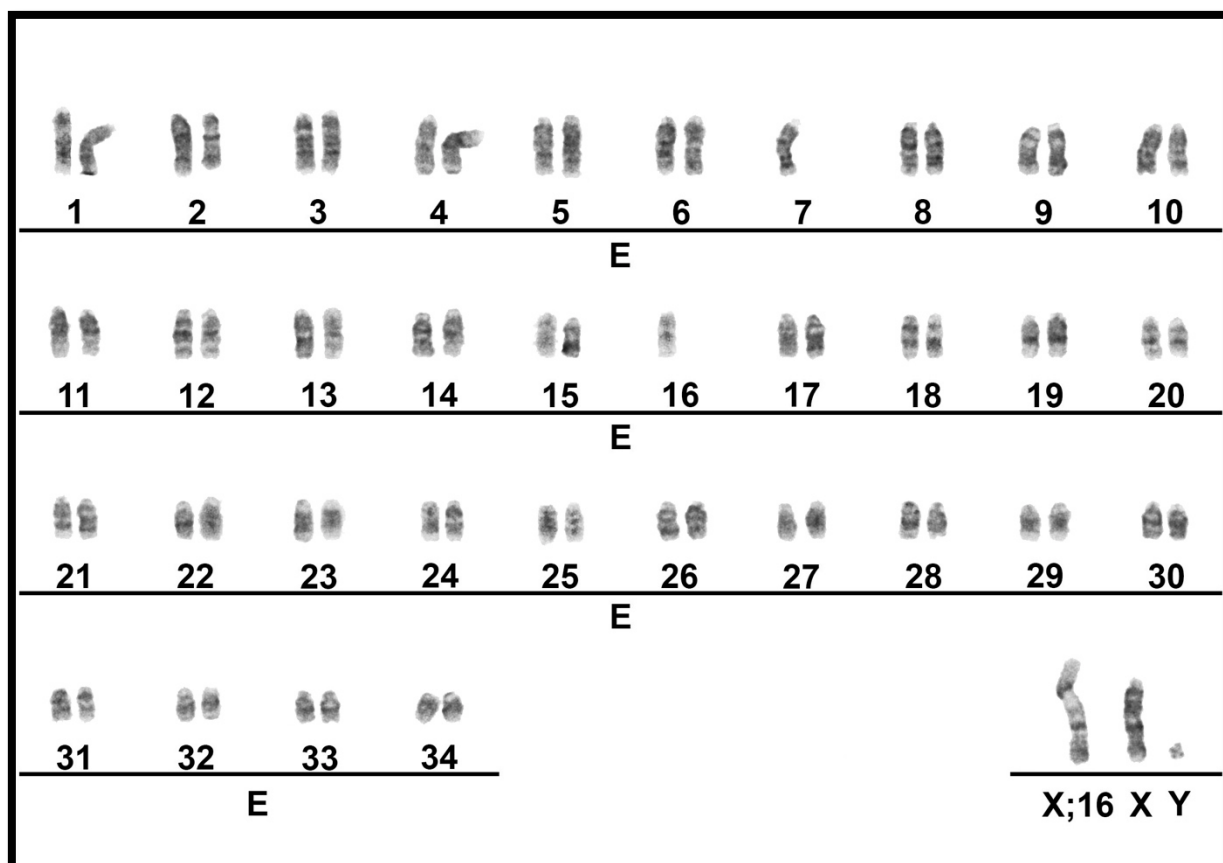


Figura 22. Cariótipo do topótipo de *M. gouazoubira* T377 ($2n=69$ Rb(X;16)XY -7, NF=70) sob bandamento G.

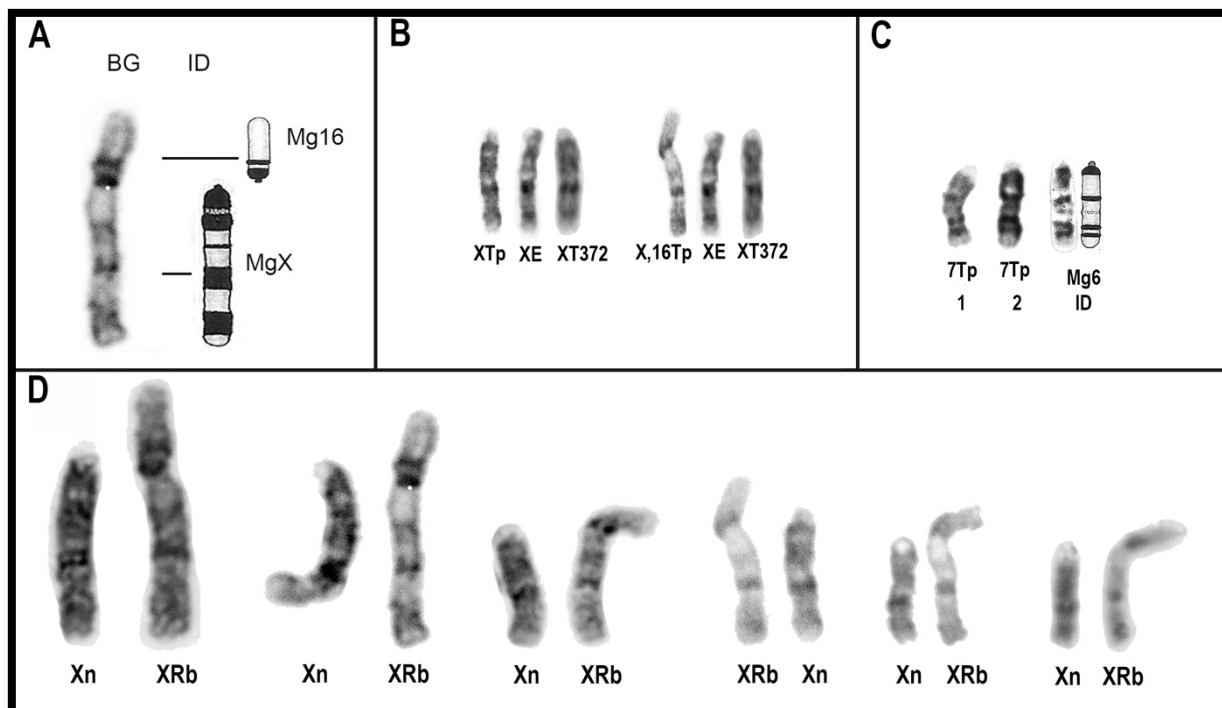


Figura 23. Comparação entre o padrão de bandas G dos cromossomos envolvidos na translocação Robertsoniana do topótipo de *Mazama gouazoubira* (BG) e o idiograma (ID) da espécie proposto por Neitzel (1987) (A). Comparação entre os cromossomos X do topótipo (XTp) e de dois parátipos (XE e XT372) sob bandamento G (B). Comparação do padrão de bandas do cromossomo 7 em duas metáfases do topótipo (7Tp1 e 7Tp2) e o idiograma da espécie (Mg6 ID) (C). Comparação do cromossomo X normal (Xn) com o X translocado (XRb) do topótipo sob bandamento G em seis diferentes metáfases (D).

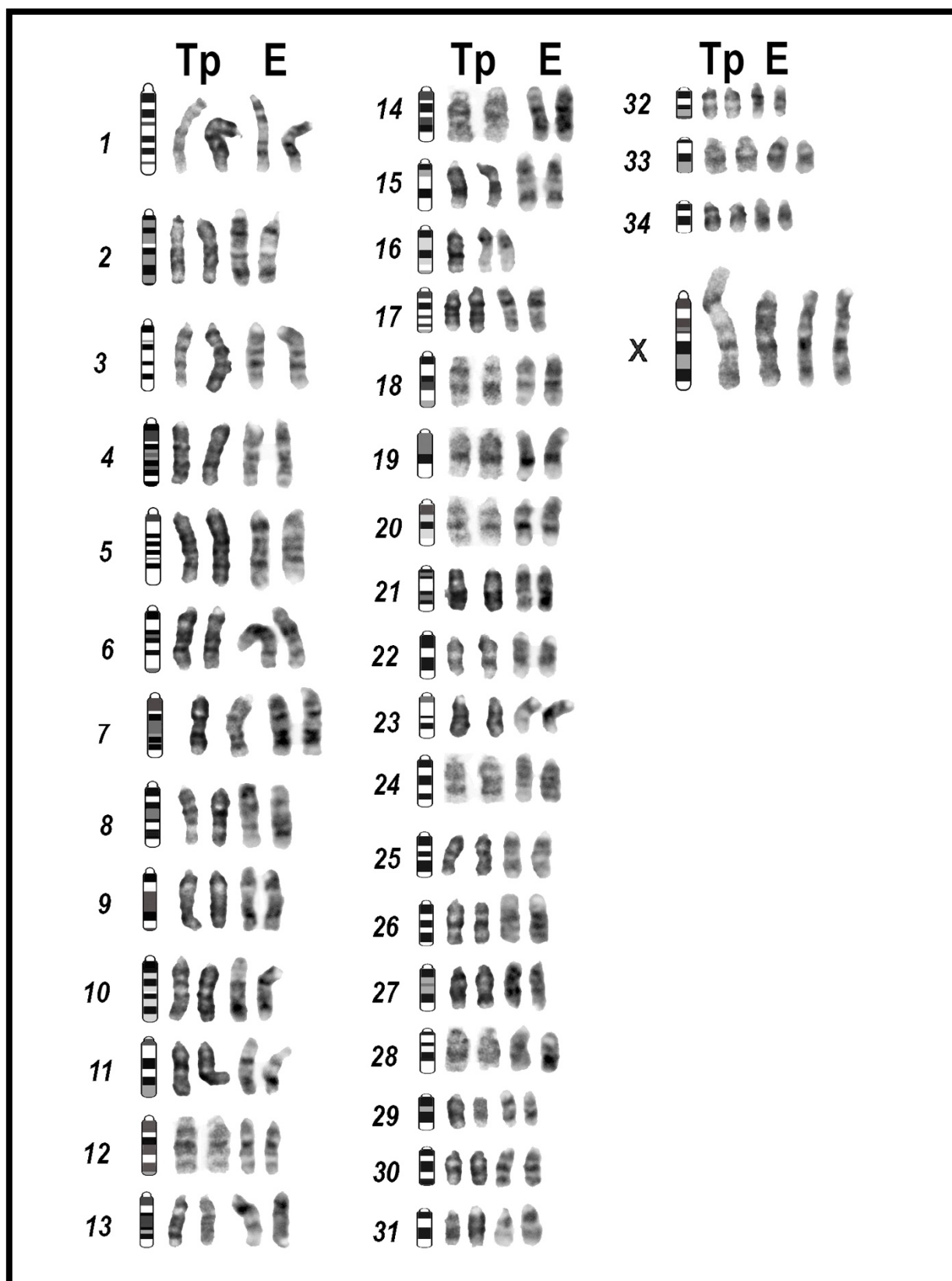


Figura 24. Representação gráfica do padrão de bandas do topótipo de *Mazama gouazoubira*, cromossomos do topótipo (T) e de um parátipo (E), respectivamente.

5.4 Análises filogenéticas

As matrizes resultaram em um alinhamento de 920 pb para o Cytb, 607 pb para o COI e 2.316 pb para os três fragmentos concatenados (COI+Cytb+D-loop). A representação filogenética do D-loop não foi apresentada por conta da topologia extremamente diferente que esta mostrou, que pode ser sido causada devido à alta variabilidade encontrada nesta região.

Os melhores modelos de substituição nucleotídica, selecionados pelo critério Akaike Information Criterion (AIC), através do programa JModeltest, e com base na *likelihood*, no programa PhyML, são detalhados na Tabela 12.

Tabela 12. Modelos de substituição nucleotídica selecionados para cada matriz pelos programas JModeltest e PhyML:

Alinhamento	JModeltest	PhyML
COI	TIM2+I+G	TN93+G+I
Cytb	GTR+G+I	GTR+G+I
COI+Cytb+D-loop	GTR+G+I	GTR+G+I

Observa-se que nas matrizes do citocromo B e dos fragmentos concatenados, o modelo selecionado foi o mesmo (GTR+G+I) pelos diferentes programas.

A topologia obtida nas análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana de todos os alinhamentos foi a mesma (Figura 25, 26 e 27).

A tribo Odocoileini de cervídeos neotropicais foi dividida em dois clados principais, denominados subtribo Blastocerina e subtribo Odocoileina, seguindo Heckeberg et al. (2016).

A subtribo Blastocerina foi composta pelas seguintes espécies do gênero *Mazama*: *M. gouazoubira*, *M. chunyi* e *M. nemorivaga*; e *H. antisensis*, *B. dichotomus*, *O. bezoarticus* e *P. puda* (espécie mais basal da subtribo) de outros gêneros. A subtribo Odocoileina compreendeu as espécies *M. americana*, *M. bororo*,

M. nana, *M. temama*, *M. pandora*, *M. bricenii* e *M. rufina*, do gênero *Mazama*; e *O. virginianus*, do gênero *Odocoileus*, grupo irmão de *M. pandora*. No geral, a separação das subtribos *Blastocerina* e *Odocoileina* foi bem suportada pela probabilidade posterior, mas não pelo *bootstrap* de Máxima Verossimilhança, com exceção do COI, no qual o suporte foi intermediário (Figura 26).

O clado *Mazama gouazoubira* foi monofilético, bem suportado em todas as análises, e *M. chunyi* seu grupo irmão. Dentro do clado *M. gouazoubira* observou-se a ocorrência de três clados bem suportados em todas as análises, denominados clado 1, o qual é mais basal em relação aos outros, com amostras provenientes do Paraguai e do Paraná; clado 2, composto por amostras de São Paulo, Pantanal e da Colômbia e clado 3, que inclui amostras da Bolívia, São Paulo, Paraná, Uruguai, Santa Catarina, Argentina e Paraguai (Figura 25). Apesar da tendência a estruturação, os clados não apresentaram correlação geográfica devido à presença de amostras da mesma localidade em clados diferentes.

O topótipo de *M. gouazoubira* manteve sua posição, em todas as análises e com alto suporte, dentro da variabilidade encontrada em *M. gouazoubira*, no clado 1.

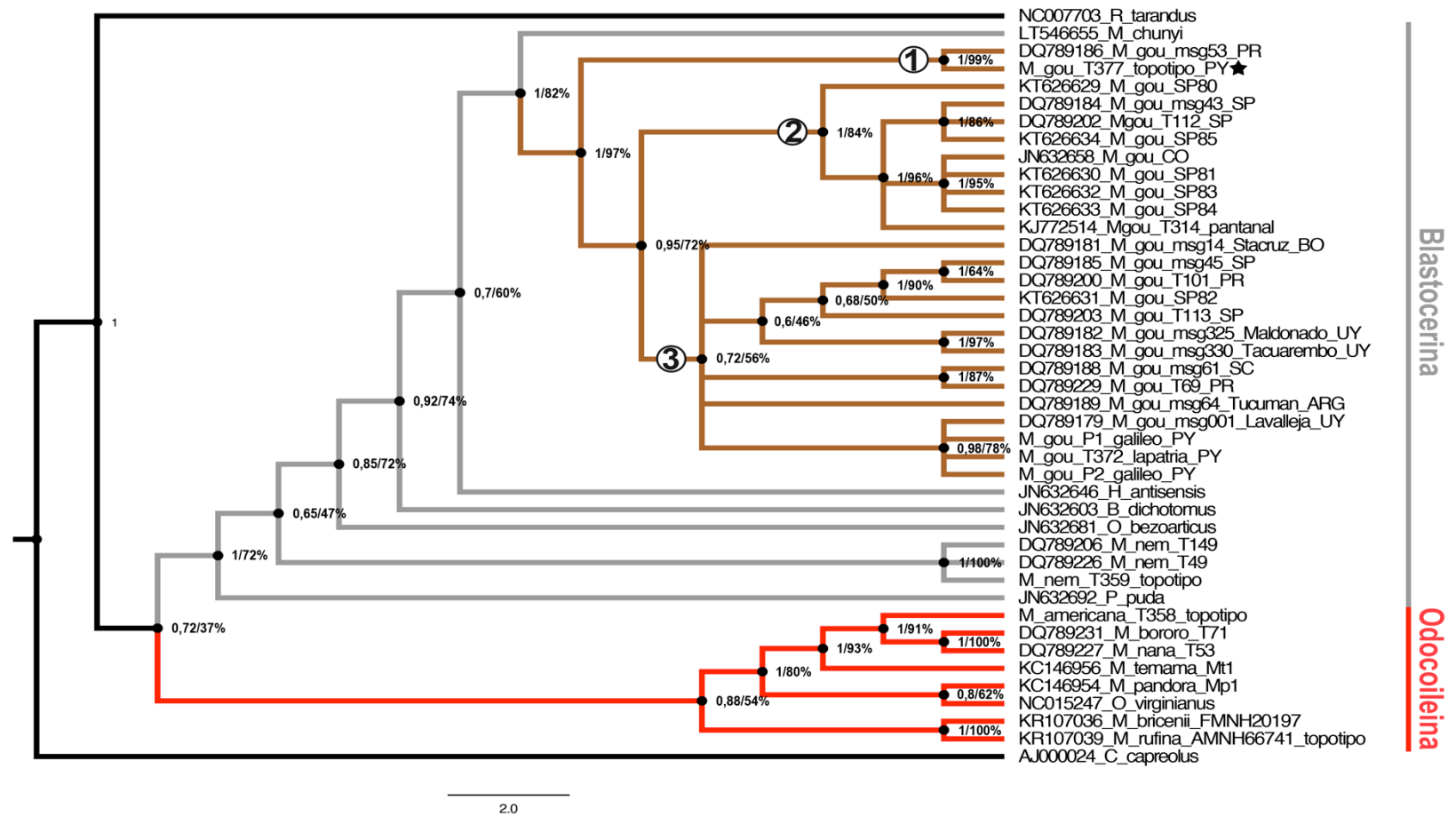


Figura 25. Reconstrução filogenética baseada em um fragmento do gene mitocondrial do citocromo B (Cytb, 920 pb). Topologia obtida através das análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Modelo utilizado: GTR+G+I. Valores de suporte estatístico nos nós (probabilidade posterior/ bootstrap, respectivamente). Em cinza, subtribo Blastocerina; vermelho, subtribo Odocoileina; marrom, clado *Mazama gouazoubira* e 1, 2, e 3 representam os três clados com alto suporte dentro de *Mazama gouazoubira*.

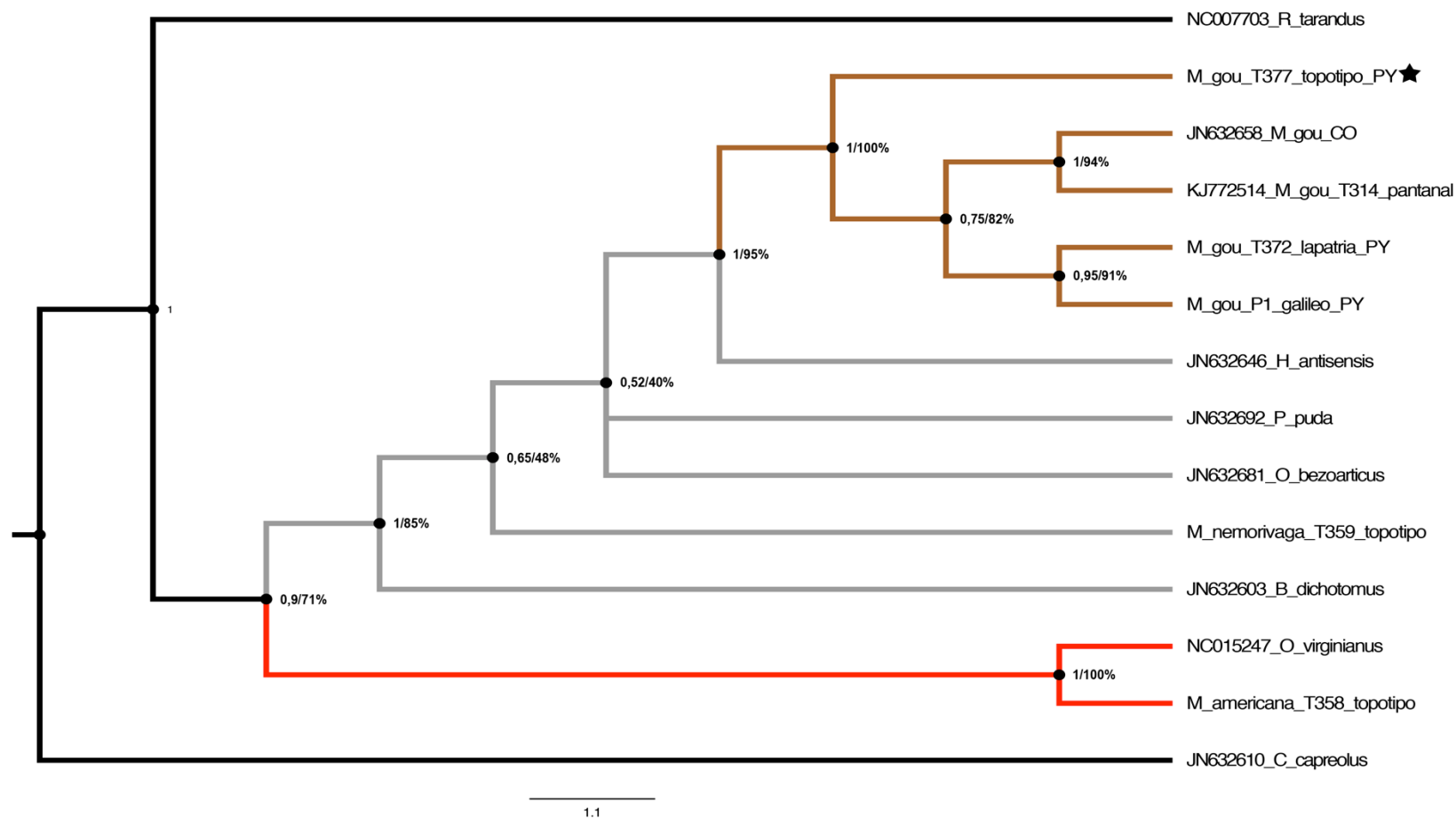


Figura 26. Reconstrução filogenética baseada em um fragmento do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI, 607 pb). Topologia obtida através das análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Modelo utilizado: TIM2+I+G. Valores de suporte estatístico nos nós (probabilidade posterior/ bootstrap, respectivamente). Em cinza, subtribo Blastocerina; vermelho, subtribo Odocoileina; marrom, clado *Mazama gouazoubira*.

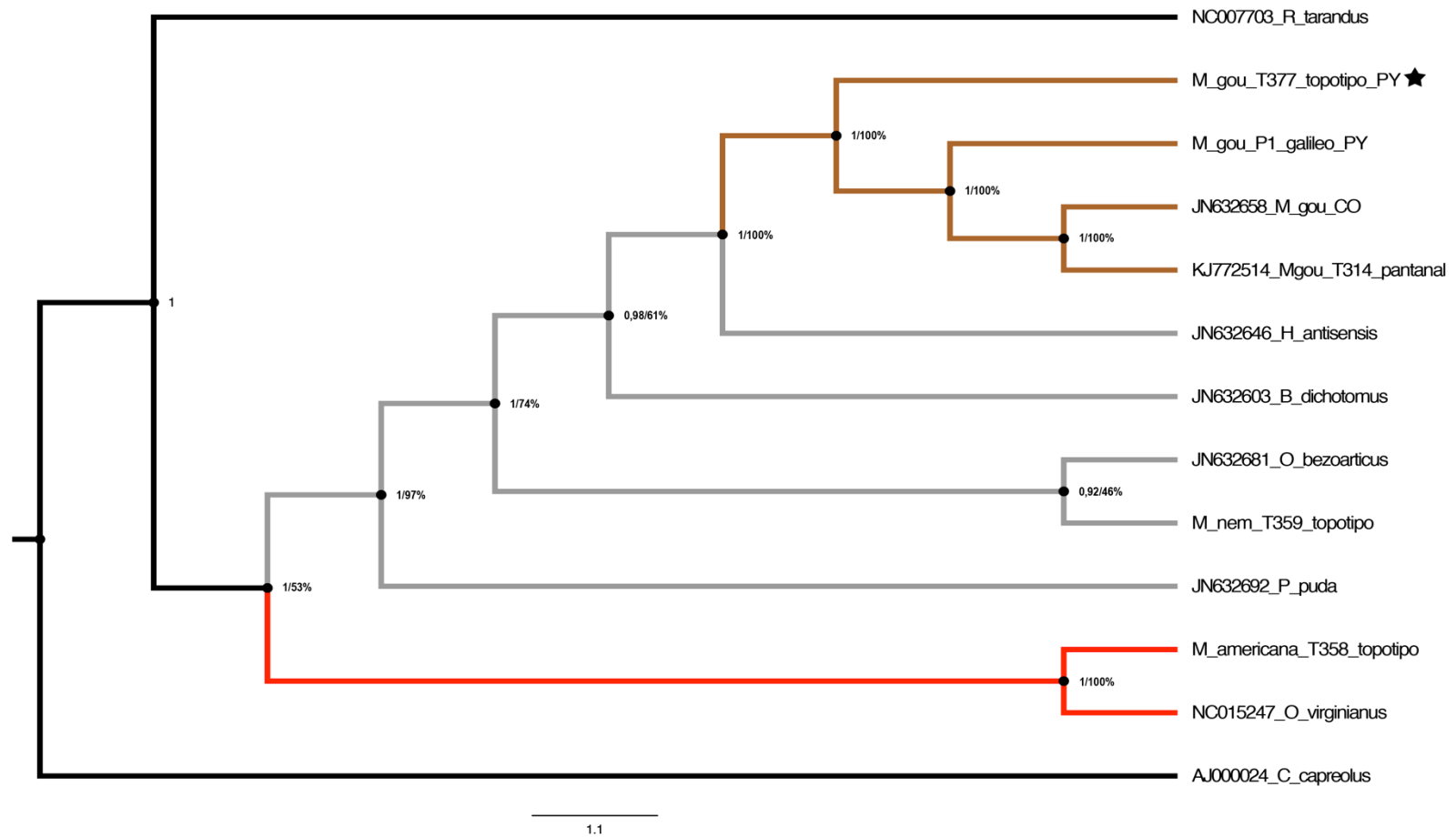


Figura 27. Reconstrução filogenética baseada em três fragmentos do DNA mitocondrial COI, Cytb e D-loop, concatenados (2316 pb). Topologia obtida através das análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Modelo utilizado: TIM2+I+G. Valores de suporte estatístico nos nós (probabilidade posterior/ bootstrap, respectivamente). Em cinza, subtribo Blastocerina; vermelho, subtribo Odocoileina; marrom, clado *Mazama gouazoubira*

6. DISCUSSÃO

6.1 Morfologia

O veado catingueiro apresenta ampla variação individual da coloração geral da pelagem (ALLEN, 1915; ROSSI, 2000), sendo esta usualmente mais clara para formas de savana e mais escura para formas florestais (PINDER; LEEWENBERG, 1997). O topótipo estudado neste trabalho tem seu padrão para este atributo dentro da variabilidade descrita para a espécie (AZARA, 1801; ALLEN, 1915; ROSSI, 2000). O espécime de *M. simplicicornis* de Allen (1915), proveniente do Paraguai, apresenta o mesmo padrão de coloração e de pelagem do topótipo, com a exceção de que não apresenta marcas faciais brancas (mancha nasal, mancha superciliar anterior, mancha mental). Porém, estas marcas faciais, apresentam variação dentro de amostras da mesma localidade, podendo estar presentes ou ausentes e, por isso, não tem caráter diagnóstico (ALLEN, 1915; ROSSI, 2000).

A espécie *M. gouazoubira* pode ser diferenciada das outras espécies do gênero pela presença de campo cromogenético dorsal posterior de coloração castanho-alaranjada uniforme (Figura 12), característica que está presente no topótipo.

Em todas as análises comparativas, *M. gouazoubira* mostrou grande variação das medidas biométricas e cranianas, assim como em estudos anteriores (ROSSI 2000; DUARTE). Rossi (2000), em sua diagnose da espécie, apresentou os seguintes valores para as medidas cranianas: comprimento total do crânio entre 160,2 a 197,5 mm, largura do zigomático entre 72,5 e 86,4 mm, órbita ocular relativamente pequena com 25,6 a 31,9 mm de diâmetro vertical; e para as medidas de morfologia externa: comprimento da cabeça e corpo entre 882 e 1060 mm, comprimento da cauda entre 83 e 190 mm, altura na região dos ombros ao redor de 500 mm e peso raramente excedendo 20 kg. Apesar de ser juvenil, o topótipo tem suas medidas dentro dos intervalos propostos.

Tanto a biometria quanto a craniometria não conseguiram separar *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga* e *M. nana*, corroborando Rossi (2000) e Duarte;

González; Maldonado (2008). *Mazama americana* e *Mazama bororo* foram melhor diferenciadas nas análises biométricas em relação às outras espécies, diferente do encontrado por Duarte; González; Maldonado (2008), que obtiveram sobreposição dos dois táxons em análise de *cluster*. Nas análises craniométricas, *M. americana* conseguiu ser absolutamente separada das outras espécies, ao contrário do estudo de Rossi (2000), que encontrou esta espécie misturada com *M. bororo*. As discrepâncias observadas neste trabalho em relação à outros prévios, provavelmente se deve ao pequeno número de amostras utilizadas das outras espécies do gênero, utilizadas como grupo externo. O topótipo teve sua posição dentro da variação encontrada em *M. gouazoubira* em todas as análises comparativas morfológicas e, somado às evidências anteriormente citadas, fica claro que pertence a espécie *M. gouazoubira*.

6.2. Citogenética

A síndrome de Klinefelter e as monossomias cromossômicas são condições atípicas e pouquíssimo frequentes, causadas por anomalias cromossômicas; no caso da primeira, os portadores possuem dois cromossomos X e um Y, e, no outro caso, observa-se a ausência de um cromossomo do par homólogo (GUERRA, 1988). Estas anomalias, são geralmente atribuídas como resultado da não disjunção, isto é, a não separação dos cromossomos homólogos, durante a meiose em um dos pais, e, nunca foram reportadas em cervídeos. A captura de um espécime portador de ambas as síndromes, condição extremamente rara, pode ter ocorrido devido a maior susceptibilidade à caça apresentada pelo animal em questão, em vista de seu baixo índice do quociente de inteligência, relacionado às anomalias.

As translocações Robertsonianas são consideradas normais para a espécie e ocorrem com alta frequência devido a sua fragilidade cromossômica, a qual é definida como a tendência dos cromossomos a se partirem, gerando assim extremidades cromossômicas pegajosas que aderem em outros cromossomos, provocando rearranjos (KASAHARA, 2009). Alguns estudos indicam que ao redor de 20% dos indivíduos da espécie apresentam este rearranjo (DUARTE, 1998, DUARTE; JORGE,

1998; CHAMUT et al., 2001), no entanto, Tomazella (2016), com uma amostragem maior, encontrou o valor de 30%. Portanto, devido a facilidade com que essas translocações são encontradas no veado-catingueiro, a ocorrência de uma translocação em heterozigose no cariótipo do topótipo, pode ser considerada comum.

O padrão de banda C do topótipo corrobora os já existentes para a espécie (NEITZEL, 1979, 1987; DUARTE, 1992, 1998; RESENDE, 2012; VALÉRI, 2014), e também foi o mesmo encontrado nos dois parátipos (Figura 20, C e D). O cromossomo X translocado apresentou bloco de heterocromatina pericentromérica muito maior que no X normal, porém este fato é comum em cromossomos translocados das espécies do gênero, e se deve à junção da heterocromatina pericentromérica presente nos dois acrocêntricos fusionados (RESENDE, 2012).

As regiões organizadoras do nucléolo, apesar de na maioria das vezes serem encontradas em 4 cromossomos, podem variar na espécie (DUARTE, 1992) e, portanto, as variações no número de cromossomos marcados observada no topótipo é normal.

O padrão de bandas G do topótipo apresenta homologia total com o dos parátipos (Figura 23, 24 e 25C) e parcial com o idiograma da espécie de Neitzel (Figura 29). Os pares 1, 2, 4, 7, 9, 12, 13, 17, 21, 33 não apresentaram homologia de bandas G com o idiograma proposto por Neitzel (1987), e isto pode ser devido a dificuldade de obtenção de banda G de boa qualidade para cervídeos, inclusive *M. gouazoubira*, o que não permite uma boa resolução e uniformidade do padrão de bandas para análises comparativas (DUARTE, 1998; VALERI, 2014; TOMAZELLA, 2016).

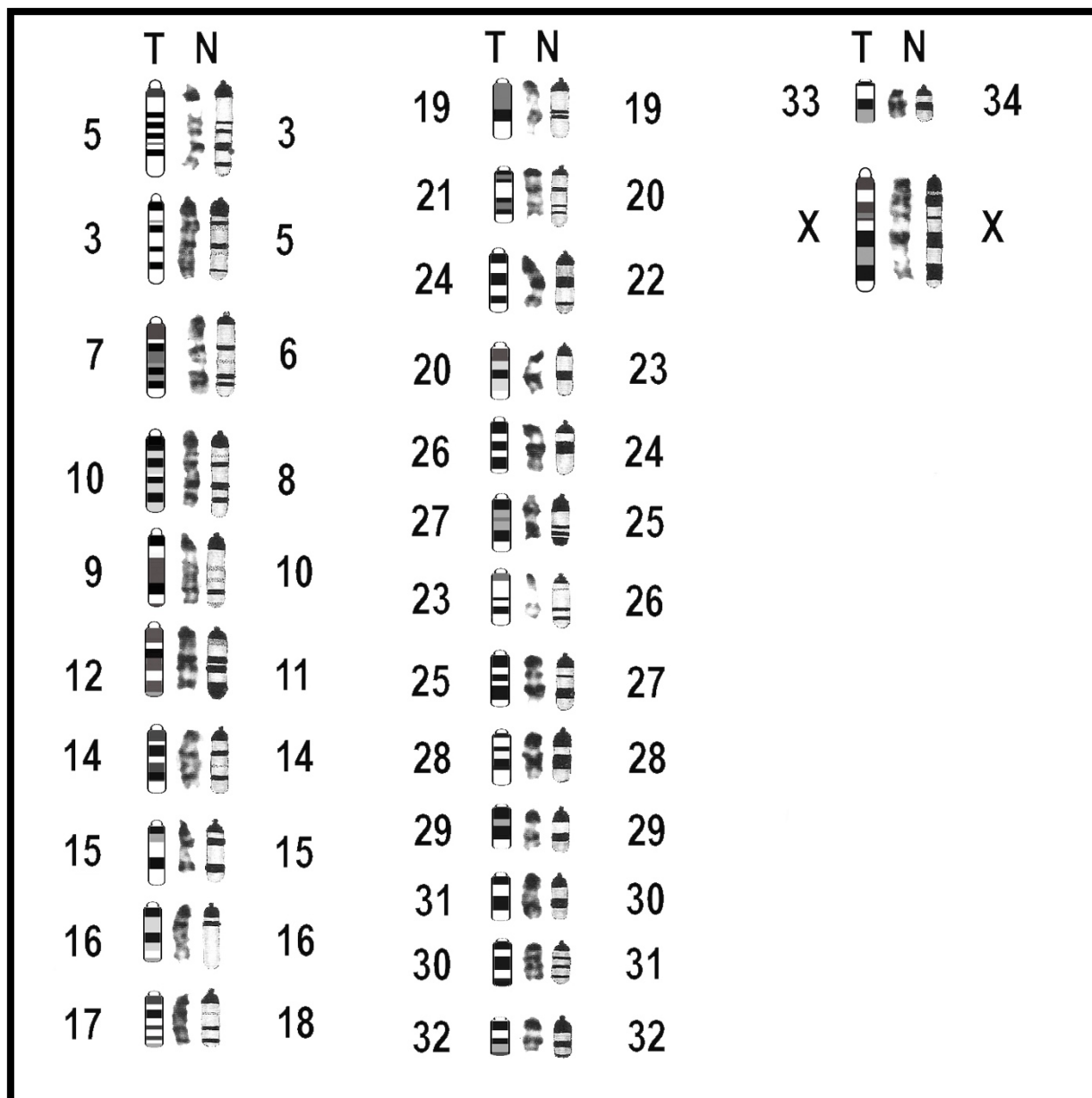


Figura 28. Comparação entre a representação gráfica do padrão de bandas do topótipo de *Mazama gouazoubira* (T) e o idiograma padrão da espécie (N) (NEITZEL, 1979).

Apesar de o topótipo ser uma aberração cromossômica, e por isso apresentar uma organização cromossômica diferente, seu padrão de bandas C, G, e coloração Ag-RON corrobora os já descritos para a espécie e permite sugeri-lo como padrão.

6.3. Análise filogenética baseada em DNA mitocondrial

O gênero *Mazama* foi polifilético e dentro da subtribo Blastocerina, as espécies do *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga* não compartilharam ancestral comum exclusivo, corroborando resultados anteriores (DUARTE; GONZALEZ; MALDONADO, 2008; HASSANIN et al., 2012; FIGUEIREDO, 2014; HECKEBERG et al., 2016) e reforçando mais uma vez a necessidade de mudança na taxonomia deste grupo através da criação de mais dois gêneros para as espécies de veado cinza.

A topologia do citocromo B (Figura 26) corrobora as obtidas anteriormente (DUARTE; GONZALEZ; MALDONADO, 2008; HECKEBERG et al., 2016). *Hippocamelus antisensis*, na literatura, apresenta posição variável como grupo irmão de *O. bezoarticus* (DUARTE; GONZALEZ; MALDONADO, 2008; HECKEBERG et al., 2016) ou, como no caso deste trabalho, grupo irmão do clado composto por *M. gouazoubira* e *M. chunyi* (HECKEBERG et al., 2016). De acordo com Heckeberg et al. (2016), isto se deve à um erro de identificação das sequências deste táxon depositadas no GenBank e, portanto, sua resolução está fora do escopo deste trabalho.

As demais topologias foram diferentes em alguns aspectos em comparação às descritas na literatura. Na representação filogenética do citocromo oxidase subunidade I (Figura 27), *P. puda* aparece em uma politomia com *O. bezoarticus*, e ambos, grupos irmãos do clado composto por *M. gouazoubira* e *H. antisensis*. *Blastoceros dichotomus* encontra-se como espécie mais basal da subtribo Blastocerina. Na topologia dos três fragmentos mitocondriais concatenados (Figura 28), *O. bezoarticus* aparece como espécie irmã de *M. nemorivaga*. Estes resultados podem ter sido obtidos pelo menor número de sequências nestes alinhamentos e pela inclusão de alinhamento da região D-loop na matriz dos três fragmentos mitocondriais concatenados, adicionando ruído à análise.

O clado *Mazama gouazoubira* foi monofilético em todas as análises, seguindo Duarte; González; Maldonado (2008) e Figueiredo (2014). A subdivisão da espécie em clados bem suportados e sem separação biogeográfica corrobora Duarte; González; Maldonado (2008) e Figueiredo (2014), que explica que o táxon teve uma

diversificação rápida, recente (iniciada há cerca de 1,65 Myr) e com simpatria em diversas áreas de distribuição.

O topótipo manteve sua posição, em todas as análises e com alto suporte, em um clado junto com amostras do Paraná, dentro da variabilidade encontrada em *M. gouazoubira*, e portanto, fica claro que pertence à espécie.

6.4 Validade do neótipo

A proposta de um neótipo da espécie *M. gouazoubira* a partir da descrição detalhada de um topótipo atual, abre grandes possibilidades para descrição de novas espécies dentro do gênero *Mazama*. O exemplar de *M. gouazoubira* analisado neste estudo cumpre com todas as condições exigidas pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica vigente para a criação de um neótipo [Art. 75.3], detalhadas a seguir:

- "Declaração de que se designa com o propósito expreso de esclarecer a posição taxonômica" [Art. 75.3.1]. Neste caso a designação do neótipo, torna-se imprescindível para realizar comparações e tomar decisões sobre quais das espécies incluídas no gênero podem ser consideradas válidas e quais não.
- "Declaração dos caracteres que o autor considere distintivos ou uma referência bibliográfica a essa declaração" [Art. 75.3.2]. Esses caracteres são definidos na discussão (6.1).
- "Dados e descrição para assegurar o reconhecimento do exemplar designado" [Art. 75.3.3]. As informações e a descrição detalhada são definidas nos resultados (5.2, 5.3 e 5.4).
- "Razões do autor para considerar o material tipo perdido o destruído" [Art. 75.3.4]. São mencionadas na revisão bibliográfica (2.2) e nos resultados (5.1).
- "Evidência de que o neótipo concorda com o que se sabe do material tipo original" [Art. 75.3.5]. Neste caso, o topótipo se ajusta com o relato de Azara (1801), no qual a descrição válida da espécie de Fischer (1814) foi embasada.
- "Evidência de que o neótipo tenha procedência tão perto quanto possível da localidade tipo original [Art. 75.3.6]". O exemplar foi coletado a 17 Km de Assunção,

capital do Paraguai, localidade tipo de *Mazama gouazoubira* descrita na publicação de Azara, e restrita a região de Assunção por Cabrera (1960).

- "Declaração de que o neótipo é propriedade de uma instituição científica reconhecida e que tenha uma coleção com a infraestrutura adequada para conservar o neótipo" [Art. 75.3.7]. Desde sua coleta (dezembro de 2016) o topótipo encontra-se depositado no museu do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, NUPECCE, (FCAV, Universidade Estadual Paulista —Júlio de Mesquita Filho, câmpus de Jaboticabal). O NUPECCE possui atualmente uma grande coleção de cervídeos neotropicais, em especial do gênero *Mazama*, sendo hoje um dos museus com maior acervo de exemplares deste gênero no mundo (aproximadamente 115 exemplares).

O espécime analisado será considerado, por enquanto, como topótipo e não neótipo, até que seja aceito pela Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica, após a publicação do artigo.

Esta é a primeira referência disponível na literatura com respeito ao estabelecimento de um neótipo para *M. gouazoubira*, sendo o ponto de partida para a descrição de novas espécies e possível mudança completa do sistema classificatório do gênero *Mazama*.

7. CONCLUSÕES

Nas análises morfológicas houve uma grande variação das medidas biométricas e craniométricas dos espécimes de *Mazama gouazoubira*. O topótipo teve sua posição dentro dessa variação.

O topótipo é portador da síndrome de Klinefelter, de uma monossomia do cromossomo 7 e de uma translocação Robertsoniana X;16. Seu número cromossômico é 69 e NF=70. Apesar de ser portador de uma aberração cromossômica, seu padrão de bandas C, G e coloração Ag-RON corrobora os já descritos para a espécie.

A espécie *Mazama gouazoubira* é monofilética e apresentou-se subdividida em clados com alto suporte, porém, sem separação biogeográfica. O topótipo manteve sua posição em todas as análises dentro da variabilidade deste táxon, em um clado junto com amostras do Paraná.

É proposto um neótipo para a espécie *Mazama gouazoubira*.

8. REFERÊNCIAS

ABRIL, V. V.; CARNELOSSI, E. A.; GONZÁLEZ, S.; DUARTE, J. M. B. Elucidating the evolution of the red brocket deer *Mazama americana* complex (Artiodactyla; Cervidae). **Cytogenetics and Genome Research**, Würzburg, v. 128, p. 177-187, 2010.

ABRIL, V. V.; DUARTE, J. M. B. Chromosome polymorphism in the Brazilian dwarf brocket deer, *Mazama nana* (Mammalia, Cervidae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 1, p. 53-57, 2008.

ALLEN, J. A. **Notes on American deer of the genus *Mazama***. Bulletin American Museum of Natural History, v. 34, p. 521–553, 1915.

AZARA, F. **Essais sur l'histoire naturelle des quadrupedes de la province du Paraguay**. Paris: Traduits sur le manuscrit inédit de l'auteur par M. L. E. Moreau-Saint-Méry, 1801. p. 1-36.

AZARA, F. **Apuntamientos para la historia natural de los cuadrúpedos del Paraguay y Río de la Plata**. Tomo I. Madrid. p. 29-60, 1802.

AZARA, F. **Apuntamientos para la historia natural de los paxáros del Paraguay y Río de la Plata**. Tomo I. Madrid. p. 03-08, 1802.

BAKER, R. J.; BICKHAM, J. W. Speciation by monobrachial centric fusions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 83, p. 8245-8248, 1986.

BLACK-DÉCIMA, P.; ROSSI, R. V.; VOGLIOTTI, A.; CARTES, J. L.; MAFFEL, L.; DUARTE, J. M. B.; GONZÁLEZ, S.; JULIÁ, J. P. Brown brocket deer *Mazama gouazoubira* (Fischer 1814) – Em: DUARTE, J. M. B., GONZALEZ, S. **Neotropical Cervidology: Biology and medicine of Latin American deer**. Jaboticabal, Funep – IUCN, p. 190-201, 2010.

BIDEGARAY, L.; MALDONADO, J.; DUARTE, J. M. B.; GONZÁLEZ, S. Variabilidad genética en *Mazama gouazoubira* (MAMMALIA; CERVIDAE). In: **IV Taller de Cervídeos del Uruguay – VII Jornadas de Zoología del Uruguay**, 2003,

Montevideo. Anais do IV Taller de Cervídeos del Uruguay – VII Jornadas de Zoología del Uruguay. Montevideo: Sociedad Zoológica del Uruguay, 2003, 173p.

CABRERA A. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. **Revista Museo Argentino Bernardino Rivadavia**, Argentina, v. 4, p. 309–732, 1960.

CHRISTIANSEN, P. Neotype of *Neofelis diardi* (Mammalia: Carnivora: Felidae). **Zootaxa**, 2110, p. 58-68, 2009.

CHRISTIANSEN, P; KITCHENER, A. C. A neotype of the clouded leopard (*Neofelis nebulosa* Griffith 1821). **Mammalian Biology**, v. 76, n. 3, p. 325-331, 2011.

CURSINO, M. S.; SALVIANO, M. B.; ABRIL, V. V.; ZANETTI, E. S; DUARTE, J. M. B. The role of chromosome variation in the speciation of the red brocket deer complex: the study of reproductive isolation in females. **BMC Evolutionary Biology**, v. 40, n. 14, p. x-y, 2014.

CZERNAY, S. Die Spiesshirsche und Pudus: die Gattungen Mazama und Pudu A. Ziemsen, Wittenberg Lutherstadt. **Die Neue Brehm-Bucherei Heft**. v. 581, 84pp, 1987.

DUARTE, J. M. B. Análise taxonômica dos *Mazama* cinzas do Brasil. In: **Análise citogenética e taxonômica do gênero Mazama (Cervidae; Artiodactyla) no Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1998.

DUARTE, J. M. B. **Aspectos taxonômicos e citogenéticos de algumas espécies de cervídeos brasileiros**. 1992. 153 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1992.

DUARTE, J. M. B.; GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J. E. The surprising evolutionary history of South American deer. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Detroit, v. 49, n. 1, p. 17-22, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.009>>.

DUARTE, J. M. B.; JORGE, W. Chromosomal polymorphism in several populations of deer (genus *Mazama*) from Brazil. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 45, p. 281-287, 1996.

DUARTE, J. M. B.; JORGE, W. Morphologic and cytogenetic description of the small red brocket (*Mazama bororo* Duarte, 1996) in Brazil. **Mammalia**, Paris, v. 67, p. 403-410, 2003.

DUARTE, J. M. B.; MERINO, M. L. Taxonomia e Evolução. In: Duarte, J.M.B. (Ed.), **Biologia e conservação de Cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama**. Jaboticabal: FUNEP, cap.1, p. 1-21, 1997.

DRIESCH, A., von den. A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites. **Peabody Museum Bulletin 1**, Universidade de Harvard, 1976.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput, **Nucleic Acids Research**, v. 32, n.5, 1792-97, 2004.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the neotropics**: the central neotropics. Chicago: The University of Chicago Press, v. 3, 609 p., 1999.

ELIZONDO, C. **Estudio de la variabilidad genética del Mazama gouazoubira (Mammalia: Cervidae) Fischer, 1814**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Genética, Laboratorio de Genética de la Conservación, IIBCE - Facultad de Ciencias, Udelar. Montevideo, Uruguay, 2010.

ESCOBEDO-MORALES, L. A.; MANDUJANO, S.; EGUIARTE, L. E.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, M. A.; MALDONADO, J. E. First phylogenetic analysis of Mesoamerican brocket deer *Mazama pandora* and *Mazama temama* (Cetartiodactyla: Cervidae) based on mitochondrial sequences: Implications on Neotropical deer evolution. **Mammalian Biology**, v. 81, p. 303-313, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2016.02.003>>.

FIGUEIREDO, M. G. **Filogenia e taxonomia dos veados cinzas (*Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga*)**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

FISCHER, G. 1814. **Zoognosia Tabulis Synopticis Illustrata**. Typis Nicolai Sergeidis Vsevolozky, Moscou v.3, p.465.

GILBERT, C.; ROPIQUET, A.; HASSANIN, A. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): systematics, morphology, and biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 40, n. x, p. 101–117, 2006.

GROVES, C. P.; GRUBB, P. **Ungulate Taxonomy**. Baltimore: John Hopkins University Press, 2011, p. 75-82.

GUERRA, M. Variação e Evolução Cromossômica: Variação Estrutural. In: _____. (1 ed.). **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1988.

GUTIÉRREZ, E. E; MALDONADO, J. E; RADOSAVLJEVIC, A.; MOLINARI, J.; PATTERSON, B. D.; MARTÍNEZ-C., J. M.; RUTTER, A. R.; HAWKINS, M. T. R.; GARCIA, F. J.; HELGEN, K. M. The Taxonomic status of *Mazama bricenii* and the significance of the Táchira depression for mammalian endemism in the Cordillera de Mérida, Venezuela. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1-24, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0129113>>.

HASSANIN, A.; DELSUC, F.; ROPIQUET, A.; HAMMER, C.; VAN VUUREN, B. J.; MATTHEE, C.; RUIZ-GARCIA, M.; CATZEFLIS, F.; ARESKOU, V.; NGUYEN, T. T.; COULOUX, A. Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. **Comptes Rendus Biologies**, v. 335, p. 32-50, 2012.

HECKEBERG, N. S.; ERPENBECK, D.; WÖRHEIDE, G.; RÖSSNER, G. E. Systematic relationships of five newly sequenced cervid species. **PeerJ**, 4: e2307, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.7717/peerj.2307>>.

HUELSENBECK, J. P. & RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. **Bioinformatics** v. 17, p. 754-755, 2001.

ILLIGER. **Abh. Ak. Sci. Berlin**, p. 107, 1815.

LARSSON, A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. **Bioinformatics**, v. 30, n. 22, p. 3276-3278, 2014.

LYDEKKER, R. The deer of all lands : a history of the family Cervidae, living and extinct. London: Ward, p. 298-306, 1898.

LIU, K.; WARNOW, T.J.; HOLDER, M.T.; NELESEN, S.; YU, J.; STAMATAKIS, A.; LINDER, C.R. SATé-II: Very Fast and Accurate Simultaneous Estimation of Multiple Sequence Alignments and Phylogenetic Trees. **Systematic Biology**. v. 61, n. 1, p. 90-106, 2012.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D.R. **Mesquite**: a modular system for evolutionary analysis. 2015. Versão 3.1 <http://mesquiteproject.org>

MANTELLATO, A. M. B. **Padrões de distribuição histórica, relações filogenéticas e filogeográficas de veado-mateiro-pequeno, *Mazama bororo* Duarte, 1996 (Mammalia: Cervidae)**. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016

MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; & SCHWARTZ, T. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA p. 1-8, 2010.

MIRANDA-RIBEIRO, A. Os veados do Brasil segundo as coleções Rondon e de vários museus nacionais e estrangeiros. **Revista do Museu Paulista**, v. 11, p. 209-308, 1919.

NACHMAN, M. W.; SEARLE, J. B. Why is the house mouse karyotype so variable? **Trees**, Heidelberg, v. 10, p. 397-402, 1995.

NEITZEL, H. Chromosome evolution of Cervidae: Karyotypic and molecular aspects. In: OBE, G.; BASLER, A. (eds.). **Cytogenetics, basic and applied aspects**, Berlin: Springer Verlag, p. 90-112, 1987.

NEITZEL, H. Chromosomenevolution in der Familie der Hirsche (Cervidae). **Bongo**, Berlin, v. 3, p. 27-38, 1979.

PEREIRA, M. R. M. "Las cosas singulares de piedras, animales, plantas": la formación y el funcionamiento de la red imperial española de remesas científicas en

el Virreinato del Río de la Plata. **An. mus. paul.**, São Paulo , v. 21, n. 1, p. 91-138, 2013 .

PINDER, L.; LEEUWENBERG, F. Veado-catingueiro. In: DUARTE, J. M. B. (Ed.). **Biologia e conservação de Cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama**. Jaboticabal: FUNEP, 1997, p. 59–68.

PORTER, L. J. A redescription of *Sousa chinensis* (Osbeck, 1765) (Mammalia, Delphinidae) and designation of a neotype. **Bulletin of the Natural History Museum: Zoology Series**, v.68, n. 1, p. 27-37, 2002.

RAFINESQUE, G. S. **Amer. Month. Mag.** v1, n.5, p 363-364, 1817.

RASBAND, W.S., **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016.

RIDDLE, B. R.; JEZKOVA, T.; ECKSTUT, M. E.; OLÁH-HEMMINGS, V.; CARRAWAY, L. N. Cryptic divergence and revised species taxonomy within the Great Basin pocket mouse, *Perognathus parvus* (Peale, 1848), species group. **J Mammal** v. 95, n. 1, p. 9-25, 2014.

RINCÓN, L. C. **Caracterização morfológica, citogenética e molecular de *Mazama americana* (ARTIODATYLA: CERVIDAE) a partir de um topótipo atual**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016.

ROSSI, R.V. **Taxonomia de Mazama Rafinesque, 1817 do Brasil (Artiodactyla, Cervidae)**. 2000. 147 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SAKAMOTO, Y.; ZACARO, A. A. **LEVAN**, an ImageJ plugin for morphological cytogenetic analysis of mitotic and meiotic chromosomes. Initial version. 2009. An open source Java plugin distributed over the Internet from <http://rsbweb.nih.gov/ij/>

SALVIANO, M. B. **Avaliação da existência de isolamento reprodutivo entre distintos citótipos de Veado-Mateiro (*Mazama americana*) por meio de machos híbridos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Reprodução

Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, Brasil.

SARRIA-PEREA, J. A. **Taxonomia e Filogenia do Gênero Mazama (MAMMALIA; CERVIDAE) na Colômbia**. 2012. 72 f. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

SEABRIGHT, A. T. A rapid banding technique for human chromosomes. **The Lancet**, London, v. 2, p. 971-972, 1971.

SMITH, M. H.; BRANAN, W. V.; MARCHINTON, L.; JOHNS, P. E.; WOOTEN, M. C. Genetic and morphologic comparisons of red brocket, brown brocket and white tailed deer. **Journal of Mammalogy**, v. 67, p. 103-111, 1986.

SUMNER, A. T. A simple technique of demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, New York, v. 75, p. 304-306, 1972.

STAMATAKIS, A.. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. **Bioinformatics**, v. 10, p. 1093, 2014. <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2014/01/21/bioinformatics.btu033.abstract>

SWOFFORD, D. L. 2003. PAUP*. **Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)**. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; KUMAR, S. 2014. **MEGA v6.0: Molecular Evolutionary Genetics Analysis**. Disponível em: <<http://www.megasoftware.net>>.

TOMAZELLA, I. M. **Análise do polimorfismo cromossômico em Mazama gouazoubira (ARTIODACTYLA; CERVIDAE): implicações para a evolução cariotípica em Cervidae**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016.

VALERI, M. P. **Caracterização cariotípica de uma população de Mazama gouazoubira (ARTIODACTYLA; CERVIDAE) do Pantanal da Nhecolândia**. 2014. 48p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

VERMA, R. S. BABU, A. **Human chromosomes: principles and techniques.**
McGraw Hill, New York, 2. ed., 1995, 419p.

APÊNDICES

APÊNDICE A



**TEKCHA
RESA
SÁMBYHYHA
SECRETARÍA DEL
AMBIENTE**

**TETÁ REKUÁI
GOBIERNO NACIONAL**
Jajapo ñande raperã ko'ãga guive
Construyendo el futuro hoy

Nº162546

PERMISO DE COLECTA CIENTÍFICA Y CAZA CIENTÍFICA Permiso conforme a la Ley N° 96/92 "DE VIDA SILVESTRE"

PERMISO N° 019 /2016			
Fecha de emisión: 26/02/2016		Vencimiento: 26/02/2017	
Solicitante: (Persona Física o Persona Jurídica - Responsable)		Lavalido con raspaduras y tachaduras	
JOSÉ LUIS CARTES		RNVs N°:	1.007
Miembro de equipo: (Nombre y Apellido - Tipo de Documento y Número)			
Lugar de colecta: (Localidad - Departamento)		Areguá - Patiño, Departamento de Central - Chaco i - Benjamín Aceval, Departamento de Presidente Hayes; Comunidades Indígenas de Caazapá o Itapúa.	
DATOS DE LOS ESPECÍMENES (Descripción: Músculo, hígado, piel (fibroplastos), cráneo).			
#	Nombre Científico del animal o planta (Solo una de las siguientes categorías: Taxonómica: Especie, Género, Familia, Orden, Clase, Filo o División)	Nombre común del animal o planta (Opcional - Español o Guaraní)	Cantidad (En números arábigos y en letras)
1	<i>Mazama gouazoubira</i>	Guasuvira, venado pardo.	N°: 01. Letras: Uno.
2	<i>Mazama americana</i>	Guasu pyta, venado Colorado.	N°: 01. Letras: Uno.
3	<i>Mazama nana</i>	Mbororo, venadito Colorado.	N°: 01. Letras: Uno.
La duración de este permiso es de un (1) año. En el caso de especímenes de flora, el juego completo de material colectado deberá estar conformado por 1 original y hasta 4 duplicados.		 LIC. ROMULO BARRIATO, Directora Dirección de Vida Silvestre	
Hoja de Seguridad N° 162.546			

Figura 1A. Permissão de coleta ou caça científica fornecida pelo governo do Paraguai.

APÊNDICE B

Tabela 1B. Espécimes do banco de dados do NUPECCE utilizados na análise de componentes principais e de *cluster* por meio de medidas biométricas.

Nº Museu	ID NUPECCE	Origem Natureza	Origem Cativoiro	Espécie	Sexo
-	13	Pantanal de Poconé - MT	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	14	Rosena Oeste - MT	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	47	Faina - MT	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	69	Rio Branco do Sul - PR	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	75	Gramado - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	76	Gramado - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	80	São Francisco de Paula - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	82	Santa Maria - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	83	Julio de Castilho - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	91	Candiota - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	92	Candiota - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	93	Candiota - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	95	Cruz Alta - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	96	Engenho Grande - RS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	100	Coxilha Rica, Lages - SC	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	106	Hernandárias, Paraguai	-	<i>M. gouazoubira</i>	F

-	112	Bebedouro - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	113	Pitangueiras - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	117	Tocantins	Zoológico de Goiânia - GO	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	119	Goiânia - GO	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	125	Ceilândia - DF	Zoológico de Brasília - DF	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	126	Entorno - DF	Zoológico de Brasília - DF	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	128	Fazenda Alegria, Pantanal - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	135	Petrolina - PE	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	136	Alubris, Fortaleza - CE	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	137	Fortaleza - CE	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	138	Mossoró, RN	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	140	Mossoró, RN	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	141	Bonito de Santa Fé - PB	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	142	Recife - PE	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	143	Campina Grande - PB	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	144	Paraíba	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	145	Paraíba	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	146	Chapada Diamantina - BA	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	154	Caieiras - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	155	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	157	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	180	Fazenda Alegria, Pantanal - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	181	Fazenda Alegria, Pantanal - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	191	Mangueirinha - PR	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	194	Minaçu - GO	-	<i>M. gouazoubira</i>	M

-	195	Serra da Mesa – GO	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	196	Minaçu - GO	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	200	Marília - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	209	Parque Estadual Intervales - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
65	277	Araguaina - TO	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
11	278	Araguaina - TO	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	298	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	300	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	301	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	302	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
-	303	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	307	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	313	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	314	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	317	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	318	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
14	319	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	320	Pantanal Sul, Corumbá - MS	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	323	Guariba - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	348	Promissão - SP	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
106	372	Puerto Pinasco, Paraguai	-	<i>M. gouazoubira</i>	F
113	377	Próximo a Assunção, Paraguai	-	<i>M. gouazoubira</i>	M
-	19	Vilhena, RO	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	23	Ariquemes, RO	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	24	Porto Velho, RO	-	<i>M. nemorivaga</i>	-

-	27	Rio Branco, AC	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	38	Desconhecida	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	49	Redenção, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	122	Belém, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	149	Rondonia	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	160	Belém, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	261	Santarém, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	263	Santarém, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	264	Santarém, PA	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	295	Desconhecida	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	309	Amapá	-	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	312	Marabá, PA	Fundação Zoobotânica	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	321	-	NUPECCE	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	322	Marabá, PA	NUPECCE	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	346	Jupari, PA	NUPECCE	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	370	UHE Belo Monte, PA	NUPECCE	<i>M. nemorivaga</i>	-
-	204	P. E Intervalles, SP	-	<i>M. bororo</i>	-
-	333	-	Criatório Onça Pintada	<i>M. bororo</i>	-
-	334	-	Criatório Onça Pintada	<i>M. bororo</i>	-
-	335	-	Criatório Onça Pintada	<i>M. bororo</i>	-
-	336	-	Criatório Onça Pintada	<i>M. bororo</i>	-
-	339	-	NUPECCE	<i>M. americana</i>	-
-	342	Rondonia	-	<i>M. americana</i>	-
-	343	-	NUPECCE	<i>M. americana</i>	-
-	349	-	NUPECCE	<i>M. americana</i>	-

-	358	Guiana Francesa	-	<i>M. americana</i>	-
-	3	-	-	<i>M. nana</i>	-
-	84	Erechim, RS	-	<i>M. nana</i>	-
-	86	Erechim, RS	-	<i>M. nana</i>	-
-	87	Erechim, RS	-	<i>M. nana</i>	-
-	88	Erechim, RS	-	<i>M. nana</i>	-

APÊNDICE C

Sequências consenso dos três fragmentos do DNA mitocondrial do topótipo de *Mazama gouazoubira*.

COI:

CATAAAGATATTGGTACCCTATATTTATTATTTCGGTGCTTGAGCAGGCAT
AGTAGGAACTGCCCTAAGCCTACTAATCCGTGCTGAACTGGGTCAACCCG
GTACTCTACTCGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTCACCGCACAT
GCATTTGTGATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTATAATCGGAGGATT
TGGTAATTGACTCGTCCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATAGCATTTC
CTCGAATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTACCCCTTCATTTTTACTA
CTTCTAGCATCATCTATAGTTGAAGCCGGAGCAGGGACAGGTTGAACTGT
CTATCCCCCTTTAGCTGGCAACCTAGCTCACGCAGGAGCCTCAGTTGACT
TAACTATCTTTCCCTACATTTAGCAGGCATTTCTTCAATTTTAGGGGCT
ATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCCTGCCATATCACA
ATATCAAACCTCCCTTATTCGTCTGATCCGTACTAATTACTGCAGTACTAC
TGCTCCTTTCACTTCCTGTATTAGCAGCCGGAATTACAATACTATTAACA
GACCGAAATCTAAATACAACCTTTTTCGACCCGGCAGGAGGTGGAGATCC
TATTTTATATCAGCACTTATTCTGATTTTTTGGTCACCC

Cytb:

ATGACCAATATCCGAAAACTCACCCACTAATAAAAATTGTAAATAACGC
ATTTATTGATCTCCCAGCTCCATCAAATATCTCATCATGATGAACTTTG
GTTCTCTACTAGGAATTTGCTTGATTCTACAAATCCTTACTGGCCTATTC
TTAGCAATACACTATTCATCCGACACAACAACAGCATTTCCTCTGTTAC
CCACATCTGCCGAGACGTCAATTATGGCTGAATTATTTCGATATATACATG
CCAACGGAGCATCAATATTTTTCAATTTGCTTATTTATACATGTGGGACGG
GGACTATACTATGGATCATATACTTTCTTAGAAACATGAAACATTGGAGT
AATTCTCCTATTTACGGTAATAGCCACAGCATTTCGTAGGATATGTCCAAA
TATCATTCTGATGAGCAACAGTTATTACAAACCTTCTCTCTGCAATCCCA
TACATTGGCACAATTTAGTTGAATGAATCTGAGGAGGCTTTTCCGTAGA
CAAAGCAACCCTGACCCGATTCTTTGCTTTTCACTTTATTCTCCCCTTTA
TCATCACAGCACTTGCTATAGTCCATTTACTTTTCTCCACGAAACAGGA
TCTAATAACCCAACAGGAATCCCATCAGACGCAGATAAAATTCCATTTCA
CCCCTACTACACCATTAAAGACATCTTAGGCGCCCTACTCTTATTTCTAT
TCCTAATACTATTAGTACTATTTACACCAGACCTACTCGGAGATCCAGAC
AACTACACCCCAGCAAATCCACTCAATACTCCCCCTCATATTAAACCTGA
ATGATATTTTTTATTCGCATACGCAATTTTACGATCTATTCCAAATAAAT
TAGGAGGAGTACTAGCCCTAGTCTTATCTATTTTAATCCTAATTTTTATA
CCCCTACTTCATATATCCAAACAACGCAGCATAATTTTCGACCATTTCAG
TCAATGCCTCTTTTGAATTTTAGTAGCAGACTTATTAACACTCACATGAA
TTGGAGGACAACCAGTTGAACACCCCTTT

D-loop:

ACGCACTATTAATATAGCTCCATAAAATTTAAGAGCCTTGTCAGTATTAA
ATTTTTAAAAATCTTTAATAATTTAATACAGTTTTGCACTCAATAGCTAT
ATTATAATTTAATTATTATTAATTACATAAACTACATAGCATATGTAGTA
CAATATAATTTCACGTGTGTATAGTACATAAAATTAATGTATTAGGACAT
ATTATGTATAATAGTACATTACATTATATACCCCATGCTTATAAGCAAGT
CCATGATATTAATTATAGTACATAGTACATAATATTATTGATCGTACATA
GCACATTAAGTCAAATCTACTCTTGTCAACATGCGTATCCCGTCCACTAG
ATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAACAACCCGCTTGGCAG
GGATCCCTCTTCTCGCTCCGGGCCCCATTTATTGTGGGGGTAGCTATTTAA
TGAACCTTTATCAGACATCTGGTTCCTACTTCAGG