

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Filogenia e História Biogeográfica do grupo
Saguinus mystax (Primates: Callitrichidae)**

Daysa Athaydes Fernandes Oliveira

BELO HORIZONTE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Filogenia e História Biogeográfica do grupo
Saguinus mystax (Primates: Callitrichidae)**

Daysa Athaydes Fernandes Oliveira

Dissertação apresentada à Pós-Graduação
em Zoologia da Universidade Federal de
Minas Gerais como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em
Zoologia

Orientador: Fernando Araújo Perini

Coorientador: Renato Gregorin

BELO HORIZONTE

2017

Sumário

Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução.....	3
1.1. História Evolutiva e Biogeografia do grupo <i>S. mystax</i>	7
2. Objetivos.....	11
3. Material e Métodos.....	12
3.1. Espécimes estudados.....	12
3.2. Análise Morfológica Craniana.....	13
3.3. Análise de Pelagem.....	13
3.4. Filogenia Morfológica.....	15
3.5. Filogenia Molecular.....	15
3.5.1. Marcadores Utilizados.....	15
3.5.2. Alinhamento.....	16
3.6. Filogenia com Dados Concatenados.....	18
3.7. Teste da Hipótese de Diversificação de Hershkovitz (1977).....	18
3.8. Datação Molecular.....	19
3.9. Análise Biogeográfica.....	19
4. Resultados.....	22
4.1. Descrição dos Caracteres Morfológicos.....	22
4.2. Análise Filogenética com Dados Morfológicos.....	36
4.3. Análise Filogenética com Dados Moleculares.....	38
4.4. Análise Filogenética com Dados Concatenados.....	40
4.5. Datação Molecular.....	41
4.6. Análise Biogeográfica.....	43

4.7. Teste da Hipótese de Diversificação de Hershkovitz (1977)	45
5. Discussão	47
5.1. História biogeográfica do grupo <i>S. mystax</i>	49
6. Conclusões.....	52
7. Referências	54
APÊNDICE I – Lista de Espécimes Analisados.....	58
APÊNDICE II – Lista dos marcadores moleculares com os respectivos números de acesso do GenBank.....	59
APÊNDICE III - Filogenia com as datas de origem dos nós.....	65

Lista de Figuras

- Figura 1. Filogenia do gênero *Saguinus* obtida pelo trabalho de Natori (1988) por meio de caracteres dentários e cranianos..... 6
- Figura 2. Filogenia do gênero *Saguinus* obtida no trabalho de Cropp *et al.* (1999) a partir de sequencias mitocondriais. 6
- Figura 3. Filogenia obtida por Buckner *et al.* (2015) para Callitrichidae através de dados moleculares pertencentes a 10 marcadores moleculares extraídos do GenBank. .. 7
- Figura 4. Hipótese de dispersão do grupo *S. mystax* proposta por Hershkovitz (1977). 8
- Figura 5. Campos cromatogénéticos definidos para estabelecimento de caracteres de pelagem (Garbino, 2015). As siglas representadas na figura representam as seguintes denominações dos campos cromatogénéticos: Co = coroa, Mt = manto, Ma = membros anteriores, Se = sela, Ga = gaupa, Cx = coxa, Pe = pés, Ca = cauda. 14
- Figura 6. Mapa de distribuição geográfica elaborado a partir dos dados geográficos obtidos, no programa QGIS Desktop, Versão 2.16, ilustrando as áreas de distribuição de grupos *Saguinus* que foi utilizado para a realização das análises biogeográficas estatísticas. A área E corresponde à atual distribuição do grupo *S. oedipus*; a área B corresponde à distribuição de *S. inustus*; C corresponde à ocupação do grupo *S. midas*; A corresponde a à atual distribuição do grupo *S. nigricollis* e D corresponde à área ocupada por *S. niger*. 21
- Figura 7. Caráter 4. Vista lingual dos incisivos inferiores de *S. oedipus* (A) e *S. labiatus* (B), retirada do trabalho de Natori (1988). A figura mostra como em *S. labiatus*, integrante do grupo *S. mystax*, os incisivos apresentam certo grau de “achatamento” em relação a outras espécies de *Saguinus*, sendo maiores em termos de largura que em comprimento..... 23
- Figura 8. Caráter 5. Vistas linguais dos segundos premolares (P2) de *S. midas* (A) e *S. oedipus* (B) retiradas do trabalho de Natori (1988), indicando a diferença na forma do premetacristídeo (linha tracejada) entre o grupo *S. midas* (*S. midas* e *S. bicolor*) e outros *Saguinus*..... 24
- Figura 9. Caráter 8. Comparação da redução do entoconídeo entre *S. bicolor* e *S. imperator*. Retirado do trabalho de Natori (1988)..... 25
- Figura 10. Caráter 9. Comparação entre a visualização da microestrutura do esmalte de *S. mystax* (A) e *S. inustus* (B) retirada do trabalho de Nogami e Natori (1986). A figura ilustra a diferença na conspicuidade da microestrutura nas duas espécies: enquanto em *S. mystax* as hastes são visíveis, em *S. inustus* é impossível diferenciá-las. 26
- Figura 11. Caráter 10. Diferença das proporções entre a altura e largura do osso nasal em *S. inustus* (A) e *S. mystax* (B). 27

Figura 12. Caráter 11. Vista superior de exemplares cranianos de três espécies: *S. inustus* (A), *S. imperator* (B) e *S. labiatus* (C), ilustrando a diferença nas proporções entre comprimento e largura do crânio. *S. inustus* apresenta maior proporção, tendo, portanto um crânio mais afilado lateralmente quando comparado às outras espécies. 28

Figura 13. Caráter 12. Diferenças dos formatos cranianos em vista lateral de *S. inustus* (A), *S. imperator* (B) e *S. labiatus* (C). A parte superior do crânio de *S. inustus* é mais achatada, apresentando aspecto mais plano..... 29

Figura 14. Caráter 13. Vista superior dos crânios de *S. inustus* (A) e *S. imperator* (B). As linhas brancas indicam as suturas coronais e as linhas pretas indicam as cristas temporais... 30

Figura 15. Caráter 14. Representação das vistas laterais das faces de *S. inustus* (A) e do restante das espécies analisadas (B). Em *S. inustus* a região abaixo do nasal apresenta pouca angulação, de modo que essa região apresenta-se plana em vista lateral. Já no restante das espécies analisadas a depressão existente abaixo do osso nasal provoca uma angulação visível em vista lateral..... 31

Figura 16. Caráter 15. Representação das vistas laterais dos crânios de *S. imperator*, *S. mystax* e *S. labiatus* (B), ilustrando a ausência da elevação do arco supraciliar nessas espécies, e do restante das espécies analisadas (B), ilustrando a presença dessa elevação..... 31

Figura 17. Caráter 17. Vista lateral dos crânios de *S. leucopus* (A) e *S. fuscicollis* (B), ilustrando a diferença nas posições da porção posterior da sutura zigomaticomaxilar. Retirada do trabalho de Natori (1988)...... 32

Figura 18. Caráter 18. Representação de Natori (1988) da vista frontal dos crânios de *S. leucopus* (A) e *S. fuscicollis* (B), ilustrando a diferença nas posições da porção anterior da sutura zigomaticomaxilar..... 33

Figura 19. Caráter 20. A figura ilustra as diferenças na pelagem facial de *S. bicolor*, *S. Midas*, *S. inustus*, *S. mystax* e *S. imperator*, respectivamente. *S. midas*, *S. bicolor* e *S. inustus* não apresentam pelagem facial. *S. bicolor* e *S. inustus* não apresentam pelagem no crânio. *S. mystax* e *S. imperator* apresentam tanto cobertura de pelagem na face quanto no crânio, mas somente *S. imperator* apresenta bigode. Fonte: <http://www.arkive.org/>..... 34

Figura 20. Única árvore mais parcimoniosa obtida a partir de análise de parcimônia dos dados morfológicos. Os números presentes nos ramos correspondem aos valores de suporte de Bremer obtidos na análise..... 37

Figura 21. Consenso das árvores baseadas em dados moleculares obtida através de inferência bayesiana. Os números mostrados na figura representam os valores de probabilidade posterior..... 39

Figura 22. Consenso das árvores obtidas através da análise bayesiana com dados concatenados. Os números mostrados na figura representam os valores de probabilidade posterior.....	40
Figura 23. Filogenia contendo os intervalos dos períodos de diversificação das linhagens relativas aos espécimes analisados.....	42
Figura 24. Resultados das análises biogeográficas estatísticas obtidas pelo método DIVALIKE + J.....	44
Figura 25. A: Otimização mais parcimoniosa obtida para o carácter de branqueamento dos pelos faciais; B: Otimização por máxima verossimilhança obtida para o carácter de branqueamento dos pelos faciais.....	46

Lista de Tabelas

Tabela 1. Espécies do grupo <i>S. mystax</i> e grupo externo incluídas neste estudo e tamanho da amostra.	12
Tabela 2. Lista de marcadores utilizados.	15
Tabela 3. Correspondência entre os subconjuntos dos dados particionados com os respectivos modelos de análise selecionados.	17
Tabela 4. Tempos de divergência para os clados em Callitrichidae.....	41

Resumo

O presente estudo buscou contribuir para a elucidação da história evolutiva e biogeográfica do grupo *Saguinus mystax* através de dados morfológicos, moleculares e biogeográficos. Foram estabelecidos 18 caracteres cranianos e seis caracteres de pelagem a partir do exame de 208 espécimes depositados em instituições brasileiras e da literatura. A partir destes dados foi obtida uma filogenia morfológica por parcimônia, que resultou em um clado formado por *S. imperator*, *S. mystax* e *S. labiatus*, sustentado por quatro sinapomorfias e quatro outras sinapomorfias dando suporte para a inclusão de *S. inustus* no grupo *S. mystax*, hipótese previamente aventada por dados moleculares, mas que ainda carecia de suporte morfológico. Filogenias com dados moleculares e concatenados foram obtidas a partir dos dados morfológicos e de 40 marcadores do GenBank. Em ambas *S. mystax* e *S. labiatus* formam um clado com *S. inustus*, sendo *S. imperator* mais distantemente relacionado. Estimativas utilizando relógio molecular relaxado datam a diversificação do grupo *S. mystax* no intervalo de 6 a 12 milhões de anos. A primeira divergência teria sido a de *S. imperator* (3 – 9 m.a), seguida de *S. inustus* (1,8 a 6,7 m.a.) e *S. labiatus* e *S. mystax* (0,7 a 4,7 m.a.). Para testar a hipótese de diversificação de Hershkovitz (1977), otimizamos o caráter de branqueamento da pelagem facial por parcimônia e máxima verossimilhança e ambas sugerem que este caráter não constitui base adequada para a proposição de hipótese evolutiva para essas espécies. Nas análises biogeográficas realizadas no Bio-GeoBEARS, o modelo DIVAJ apontou a área ancestral de *Saguinus* e do grupo *S. mystax* no oeste Amazônico, de onde o grupo teria se dispersado, possibilitado pelas mudanças ocorridas na paisagem amazônica a partir do início do Mioceno tardio, sendo de particular importância o fim do sistema de lagos conhecido como Sistema Pebas e o início do estabelecimento dos atuais sistemas fluviais, que hoje são conhecidos por delimitar a distribuição das espécies de *Saguinus*.

Abstract

Phylogeny and Biogeographic History of the *Saguinus mystax* group (Primates: Callitrichidae)

The present study sought to contribute to the elucidation of the evolutionary and biogeographic history of the *Saguinus mystax* group through morphological, molecular and biogeographic data. Eighteen cranial characters and six coat characters were established from the examination of 208 specimens deposited in Brazilian institutions and from the literature. From these data a morphological phylogeny was obtained by parsimony, which resulted in a clade formed by *S. imperator*, *S. mystax* and *S. labiatus*, supported by four synapomorphies, while four other synapomorphies supported the inclusion of *S. inustus* in the *S. mystax* group, a hypothesis previously postulated by molecular data, but still lacking morphological support. Phylogenies with molecular and concatenated data were obtained from the morphological data and from 40 GenBank markers. In both, *S. mystax* and *S. labiatus* form a clade with *S. inustus*, while *S. imperator* more distantly related. Estimates using relaxed molecular clock date the diversification of the *S. mystax* group between 6 and 12 million years. The first divergence would have been of *S. imperator* (3-9 ma), followed by *S. inustus* (1.8 to 6.7 ma) and *S. labiatus* and *S. mystax* (0.7 to 4.7 ma). To test the hypothesis of diversification by Hershkovitz (1977), we optimized the facial bleaching character by parsimony and maximum likelihood and both suggest that this character does not constitute an adequate basis for proposing an evolutionary hypothesis for these species. In the biogeographic analyzes carried out in Bio-GeoBEARS, the DIVAJ model pointed to the ancestor area of *Saguinus* and *S. mystax* group in the western Amazon, from where the group would have dispersed, made possible by changes in the Amazonian landscape in the early Miocene, of particular importance being the end of the system of lakes known as the Pebas System and the beginning of the establishment of the present fluvial systems, that today are known to delimit the distribution of species of *Saguinus*.

1. Introdução

A infraordem Platyrrhini compreende um grupo monofilético de primatas que ocupam as Américas Central e do Sul e são conhecidos popularmente como macacos do Novo Mundo. Esses primatas sul-americanos constituem, junto aos macacos do Velho Mundo, o clado de primatas antropóides (Poux et al., 2006). Os Platyrrhini atuais são divididos em cinco famílias: Pitheciidae, Atelidae, Aotidae, Cebidae e Callitrichidae, que juntas totalizam 20 gêneros (Rylands et al., 2012). Os Callitrichidae, popularmente conhecidos como saguis e micos, distinguem-se do restante de Platyrrhini por apresentarem geminação reprodutiva, ausência de terceiros molares, molares trituberculares superiores (faltando o hipocone), presença de garras em vez de unhas em todos os dígitos (exceto o hálux) e menor tamanho corporal (Hershkovitz, 1977).

Inicialmente proposta por Gray (1821), a família Callitrichidae foi considerada como sendo uma subfamília de Cebidae por Rosenberger (1980) e por Schneider e Rosenberger (1996) por meio de estudos morfológicos e moleculares. Estes estudos estabeleceram um arranjo que reunia os atuais Callitrichidae com os macacos-prego (*Cebus* e *Sapajus*) e macacos-de-cheiro (gênero *Saimiri*) na então família Cebidae, deixando outros Platyrrhini em três outras famílias: Pitheciidae (incluindo o gênero *Callicebus*), Aotidae e Atelidae, resultando num total de 4 famílias de Platyrrhini (Groves, 2001). Posteriormente, Rylands e Mittermeier (2009) mantiveram saguis e micos em sua própria família, restabelecendo Callitrichidae e mantendo as cinco famílias de Platyrrhini. Atualmente são reconhecidos seis gêneros dentro de Callitrichidae, *Cebuella*, *Callithrix*, *Mico*, *Leontopithecus*, *Callimico* e *Saguinus*.

Atualmente são reconhecidas cerca de 22 espécies dentro do gênero *Saguinus* (Rylands et al., 2016). As espécies do gênero ocorrem em florestas tropicais da América do Sul, tendo distribuição desde o Panamá até a Bolívia, incluindo a região Norte do Brasil. A classificação tradicional de Hershkovitz (1977) para *Saguinus* contém 10 espécies, algumas delas divididas em subespécies, totalizando 33 táxons dentro do gênero. Hershkovitz (1977) usou a pelagem facial para dividir as espécies de *Saguinus* em seis grupos:

1. *S. nigricollis*, incluindo as espécies *S. nigricollis* (Spix, 1823) e *S. fuscicollis* (Spix, 1823);

2. *S. midas*, incluindo *S. m. midas* (Linnaeus, 1758) e *S. midas niger* (É. Geoffroy, 1803);
3. *S. bicolor*, contendo *S. bicolor* (Spix, 1823);
4. *S. oedipus*, incluindo *S. oedipus* (Linnaeus, 1758) e *S. geoffroyi* (Pucheran, 1845);
5. *S. inustus*, contendo somente a espécie *S. inustus* (Schwarz, 1951) e;
6. *S. mystax*, incluindo *S. mystax* (Spix, 1823), *S. labiatus* (É. Geoffroy in Humboldt, 1812) e *S. imperator* (Goeldi, 1907).

A maior parte desses grupos também tem sido confirmada como clados distintos por estudos moleculares, à exceção do grupo *S. inustus*, o qual é incluído no grupo *S. mystax* em análises realizadas por Cropp et al. (1999) e Boubli et al. (2015), que usaram mtDNA, e por Buckner et al. (2015), que usaram mtDNA e sequências nucleares, embora sua posição relativa às espécies dentro desse grupo difira entre esses estudos.

Em uma revisão de *Saguinus*, Rylands et al. (2016) continuaram a considerar os grupos descritos por Hershkovitz (1977), com exceção da exclusão do grupo *S. inustus*, totalizando então, cinco grupos de *Saguinus*: *S. nigricollis*, *S. midas*, *S. bicolor*, *S. oedipus*, e *S. mystax*.

Em filogenias recentes, o grupo *S. mystax* (composto por *S. imperator*, *S. mystax*, *S. labiatus* e, baseado em dados moleculares, *S. inustus*) é recuperado como um grupo monofilético (Springer et al., 2012; Boubli et al., 2015; Buckner et al., 2015). As espécies que compõe o grupo *S. mystax* tem tido sua taxonomia relativamente estável ao longo dos anos, com exceção de duas subespécies, *S. mystax pluto* (Lönnerberg, 1926) e *S. mystax pileatus* (I. Geoffroy e Deville, 1848), relacionadas por Rylands et al. (2016) como grupos de delimitação obscura, graças à ausência de dados genéticos disponíveis. Por outro lado, as relações filogenéticas das espécies integrantes do grupo *S. mystax* não são ainda bem estabelecidas.

Hershkovitz (1977) reconheceu três subespécies de *S. mystax*, mas Groves (2001) sugeriu que enquanto duas delas, *S. m. mystax* (Spix, 1823) e *S. m. pluto* (Lönnerberg, 1926), eram bastante similares entre si, a forma *S. m. pileatus* (I. Geoffroy e Deville, 1848) era distinta o suficiente para ter seu status elevado ao de espécie.

Saguinus labiatus foi inicialmente descrito por Geoffroy (1812) e atualmente compreende as subespécies *S. labiatus labiatus* (É. Geoffroy in Humboldt, 1812), *S. labiatus rufiventer* (Gray, 1843) e *S. labiatus thomasi* (Goeldi, 1907). A taxonomia atual

de *S. labiatus* segue a classificação de Hershkovitz (1977), exceto para *S. l. rufiventer* (Gray, 1843), que Hershkovitz (1977) havia listado como sinônimo de *S. l. labiatus*. Ele reconheceu as diferenças entre eles como variações clinais. Contudo, foram considerados como subespécies válidas por Groves (2001), com distribuição (também indicada por Hershkovitz (1977) que se estende ao sul do Rio Solimões entre os Rios Madeira e Purus em direção ao Rio Ipixuna.

Saguinus imperator foi descrito inicialmente por Goeldi (1907). Ocorre na Amazônia ocidental, nos estados do Amazonas e do Acre, leste do Peru e norte da Bolívia. Sua característica mais marcante é um conspicuo bigode branco. Atualmente, duas subespécies são reconhecidas: *S. i. imperator* (Goeldi 1907) e *S. i. subgriseus* (Lönnberg 1940). Hershkovitz (1979) revisou a taxonomia e distribuição de *S. imperator*, revalidando a subespécie *S. imperator subgriseus*, antes considerada sinônima de *S. imperator* (Hershkovitz 1977).

Saguinus inustus (Schwarz 1951) ocorre na Amazônia brasileira e colombiana. Inicialmente descrito como *Leontocebus midas inustus*, foi considerado um híbrido de *S. midas* e *S. nigricollis* por Hill (1957). Napier (1959) o colocou no subgênero *Marikina* junto ao grupo *S. bicolor* e *S. leucopus* (Günther 1877). Hershkovitz (1977), no entanto, definiu *S. inustus* como um grupo a parte. A partir de então, a posição filogenética de *S. inustus* apresentou diversas controvérsias. Análises moleculares recentes (Buckner et al., 2015; Bubli et al., 2015 e Cropp et al., 1999) sugerem que *S. inustus* pertence ao grupo *S. mystax*, mas não existem estudos que relacionem características morfológicas que suportem sua inclusão nesse grupo.

Hershkovitz (1977) propôs que *S. mystax* e *S. imperator* seriam espécies irmãs, enquanto *S. labiatus* estaria mais distantemente relacionado, em uma hipótese filogenética baseada na variação de pelagem facial. Com uma matriz de caracteres cranianos e dentários, Natori (1988) não obteve sucesso na elucidação das relações filogenéticas internas do grupo *S. mystax*, obtendo uma politomia entre *S. imperator*, *S. labiatus* e *S. mystax* (Figura 1). Cropp (1999), com o uso de sequências mitocondriais, sugere que *S. inustus* seria um grupo irmão do clado formado pelas outras três espécies, enquanto *S. labiatus* e *S. imperator* seriam as espécies mais proximamente relacionadas entre si (Figura 2). Já nas análises de Buckner et. al. (2015), um clado formado por *S. inustus* e *S. mystax* é recuperado, com *S. labiatus* e *S. imperator* mais externamente, respectivamente (Figura 3). Mesmo após a inclusão de *S. inustus* no grupo *S. mystax*

pelo uso de dados moleculares (Buckner *et al.*, 2015; Bublil *et al.*, 2015 e Cropp *et al.*, 1999), as inter-relações filogenéticas do grupo *S. mystax* permaneceram pouco estudadas.

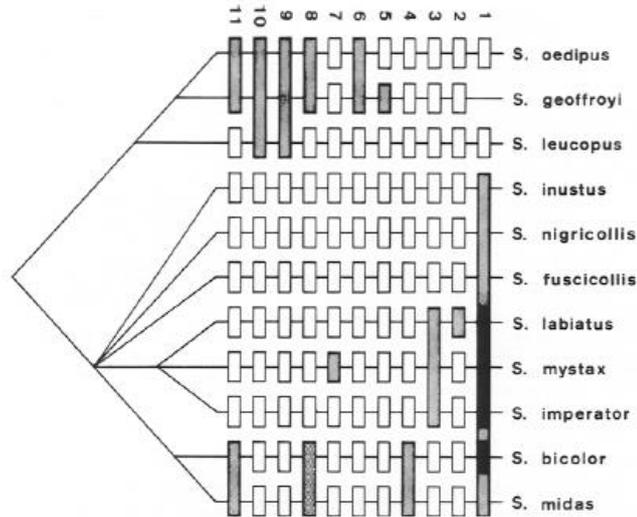


Figura 1. Filogenia do gênero *Saguinus* obtida pelo trabalho de Natori (1988) por meio de caracteres dentários e cranianos.

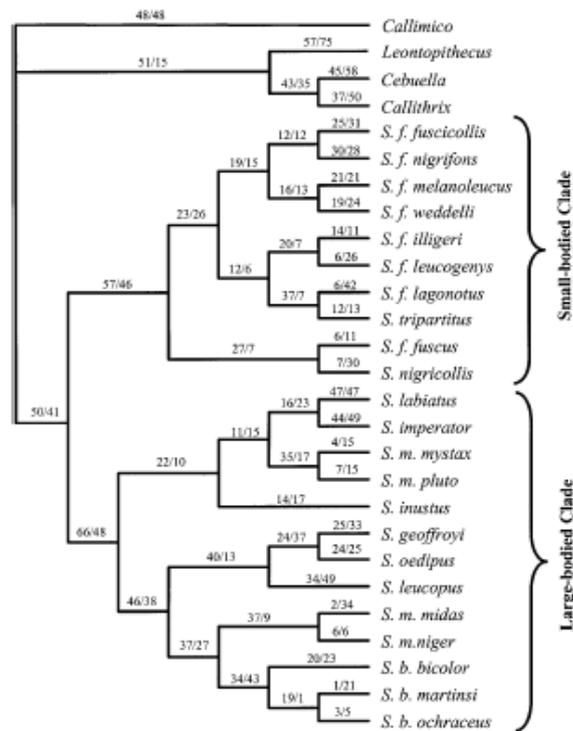


Figura 2. Filogenia do gênero *Saguinus* obtida no trabalho de Cropp *et al.* (1999) a partir de sequências mitocondriais.

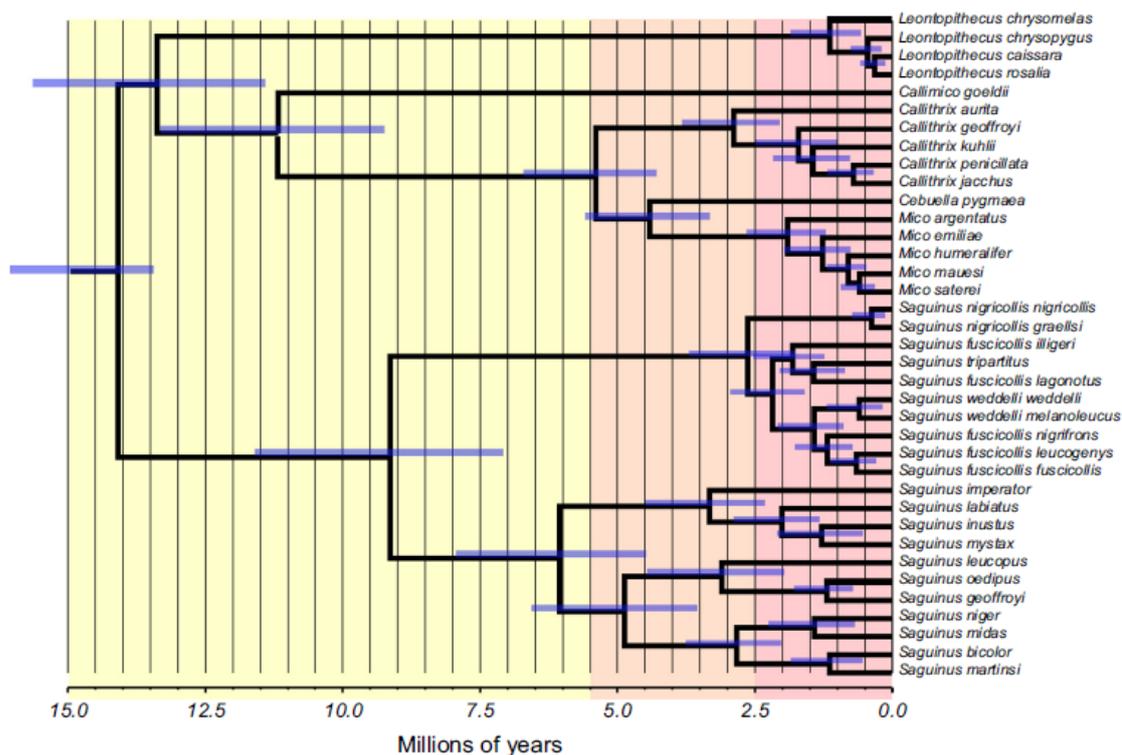


Figura 3. Filogenia obtida por Buckner *et al.* (2015) para Callitrichidae através de dados moleculares pertencentes a 10 marcadores moleculares extraídos do GenBank.

1.1. História Evolutiva e Biogeografia do grupo *S. mystax*

Herskovitz (1977) descreve a distribuição geográfica do grupo *S. mystax* como sendo a região amazônica brasileira, boliviana e peruana, estendendo-se a partir dos Rios Madeira e Madre de Dios ao Sul do Amazonas e Bolívia; a oeste, limitada pelo Rio Huallaga, no Peru; e ao norte do Rio Amazonas, limitada pelos Rios Japurá e Içá, no Brasil.

Herskovitz (1977) também propõe uma hipótese para a biogeografia histórica e diversificação dessas espécies (Figura 4), baseando-se em caracteres de pelagem e suas respectivas distribuições geográficas. Ele sugere que cada espécie do grupo *S. mystax* pode ter se originado de uma espécie semelhante ao atual *Saguinus graellsii* (Espada, 1870), uma das espécies que integra o grupo *S. nigricollis*, com uma banda circumbucal acinzentada e o restante da face densamente pigmentado. O centro geográfico ancestral é postulado como sendo na base oriental dos Andes Peruanos.

A divergência dos membros do grupo *S. mystax* a partir da linhagem do grupo *S. nigricollis* teria ocorrido, ainda de acordo com Hershkovitz (1977), através da intensificação da despigmentação da região circumbucal. O branqueamento dos pelos circumbucalis já estaria estabilizado no estoque ancestral. A despigmentação prosseguiu então em direção ao septo nasal, como nos *S. labiatus* atuais. A continuação da despigmentação e áreas adiante da boca e nariz, com concomitante aumento e branqueamento dos bigodes, teria marcado a tendência evolutiva que culminou com o aspecto observado em *S. imperator*. *S. labiatus* seria então menos diferenciado e *S. mystax* intermediário, nessa linhagem.

Hershkovitz (1977) entendeu que o padrão distribucional do grupo sugeria que *S. mystax* e *S. imperator* provavelmente teriam surgido a partir de um ancestral comum, enquanto *S. labiatus* parecia estar relacionado somente através do estoque ancestral. Independentemente da história, as três espécies formariam uma série morfológica graduada relacionada à despigmentação facial. *S. labiatus* seria o menos derivado no que diz respeito à despigmentação facial e desenvolvimento do bigode. Por outro lado, suas partes inferiores vermelhas seriam, de acordo com Hershkovitz, características metacromáticas avançadas quando comparadas com outros membros do grupo.

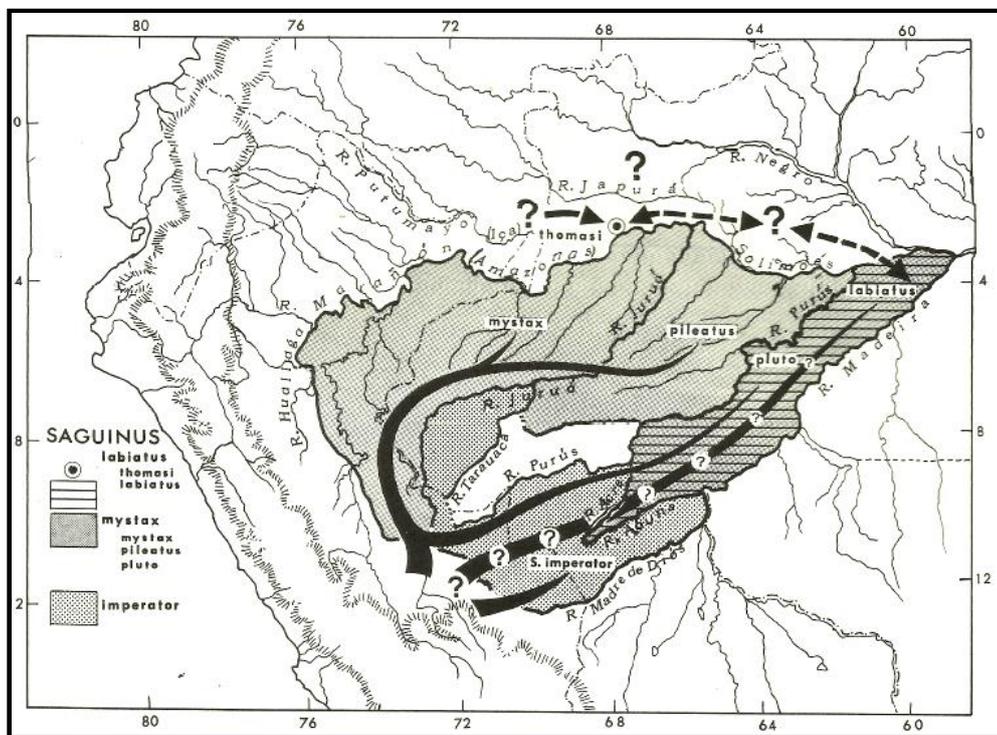


Figura 4. Hipótese de dispersão do grupo *S. mystax* proposta por Hershkovitz (1977).

Porém, após a publicação do tratado de Hershkovitz (1977), não foram realizados testes que visassem à verificação de sua hipótese de evolução e dispersão para o grupo *S. mystax*, assim como ocorre a ausência de estudos filogenéticos com caracteres morfológicos que poderiam auxiliar no esclarecimento da história evolutiva do grupo. A carência desses estudos impede que o histórico evolutivo desses animais possa ser relacionado com o histórico paleogeográfico das regiões de ocorrência das espécies integrantes do grupo *S. mystax*, particularmente relacionadas ao histórico da Amazônia ocidental e, portanto, impedem o esclarecimento de seu histórico de dispersão ao longo do espaço geográfico.

O histórico paleogeográfico amazônico é associado a histórias de dispersão de espécies viventes (e.g. Haffer 1969) e, embora haja discussões a respeito do papel dos rios na diversificação de linhagens amazônicas (Bush, 1994; Haffer, 1997; Gascon et al., 2000; Moritz et al., 2000; Aleixo, 2004; Bonvicino e Weksler, 2012), alguns estudos indicam que fenômenos responsáveis por alterações na conformação da Bacia Amazônica podem ter dirigido em algum grau os processos de diversificação de primatas (Hershkovitz, 1977; Ayres e Clutton-Brock, 1992; Peres et al., 1996; Casado et al., 2007). Esta ideia é apoiada por alguns estudos recentes sobre a evolução da drenagem amazônica (Hoorn et al., 2010), que colocam a origem dos principais rios amazônicos no Mioceno. A concordância entre os eventos geológicos que moldaram a conformação dos rios amazônicos e a diversidade de espécies é também encontrada no trabalho de Boubli et al. (2015), cujos resultados mostram isolamento de populações de primatas em margens opostos de rios através de eventos de vicariância.

No presente estudo, além de testarmos a hipótese de diversificação de Hershkovitz (1977) através da utilização de caracteres morfológicos, inferimos as áreas ancestrais ocupadas pelas espécies do grupo *S. mystax* usando técnicas inferenciais com base nas variações geográficas existentes. As análises biogeográficas integram dados distribucionais, filogenéticos, morfológicos, moleculares e paleontológicos em um estudo dos padrões de evolução das espécies e das mudanças históricas que os moldaram. A compreensão da história biogeográfica desses primatas pode então ser alcançada através do rastreamento de sua distribuição atual, bem como a história dos possíveis eventos de dispersão, vicariância e extinção, em um quadro filogenético bem estabelecido. Espera-se, com isso, contribuir para o esclarecimento das forças externas

tais como o ambiente geofísico e as mudanças climáticas que, conjuntamente com a especiação, afetaram as histórias evolutivas destes animais.

2. Objetivos

Este trabalho possui como objetivo geral a elucidação das relações filogenéticas existentes dentro do grupo *S. mystax*, utilizando tanto caracteres morfológicos quanto dados moleculares disponíveis, bem como de sua história biogeográfica. Para isso, foram definidas as seguintes metas:

1. Estabelecimento das relações filogenéticas entre as espécies e subespécies integrantes do grupo *S. mystax*, através de filogenias morfológicas, moleculares e de evidência total, utilizando-se marcadores moleculares extraídos do GenBank e caracteres cranianos, dentários e de pelagem.

2. Atualizar a distribuição geográfica das espécies e subespécies, através de dados da literatura e aqueles obtidos em coleções científicas.

3. Estabelecer a história biogeográfica do grupo *S. mystax*, testando a hipótese de evolução e dispersão proposta por Hershkovitz (1977).

4. Compreender a evolução dos caracteres morfológicos do grupo *S. mystax*, testando a hipótese de evolução destes caracteres proposta por Hershkovitz (1977), através de métodos filogenéticos comparativos.

3. Material e Métodos

3.1. Espécimes estudados

Foram analisados 208 espécimes presentes em quatro instituições brasileiras: Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MN) e a Coleção de Mamíferos do Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Em cada uma dessas coleções foram analisados espécimes pertencentes ao grupo *S. mystax* e aqueles pertencentes ao grupo externo selecionado para a análise: *S. bicolor* (Spix, 1823), *S. martinsi* (Thomas, 1912), *S. midas* (Linnaeus, 1758) e *S. niger* (É. Geoffroy, 1803), que compreendem o grupo *S. midas*. A escolha do grupo externo ocorreu com base em trabalhos que indicam que o clado formado pelos grupos *S. midas* e *S. bicolor* é grupo irmão do grupo *S. mystax* (Cropp et al., 1999; Buckner et al., 2015). Dos 208 espécimes examinados, 150 pertencem ao grupo *S. mystax* e 60 ao grupo externo. Uma lista com todos os espécimes analisados e o acrônimo das instituições pode ser encontrada no Apêndice I e o tamanho amostral por táxon é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies do grupo *S. mystax* e grupo externo incluídas neste estudo e tamanho da amostra.

Espécie / Subespécie	Material	
	Pele	Crânio
<i>Saguinus imperator</i> (Goeldi, 1907)	28	20
<i>S. i. imperator</i> (Goeldi, 1907)	3	3
<i>S. i. subgrisescens</i> (Lonnberg, 1940)	25	17
<i>Saguinus mystax</i> (Spix, 1823)	33	33
<i>S. m. mystax</i> (Spix, 1823)	24	24
<i>S. m. pileatus</i> (I. Geoffroy & Deville, 1848)	9	9
<i>Saguinus labiatus</i> (É. Geoffroy in Humboldt, 1812)	13	13
<i>S. l. labiatus</i> (É. Geoffroy in Humboldt, 1812)	11	11
<i>S. l. thomasi</i> (Goeldi, 1907)	2	0
<i>Saguinus inustus</i> (Schwarz, 1951)	2	2
<i>Saguinus midas</i> (Linnaeus, 1758)	17	8
<i>Saguinus niger</i> (É. Geoffroy, 1803)	21	6
<i>Saguinus bicolor</i> (Spix, 1823)	18	4
<i>Saguinus martinsi</i> (Thomas, 1912)	2	2

3.2. Análise Morfológica Craniana

No total, foram avaliados 152 crânios, através dos quais foram estabelecidos caracteres cranianos e dentários qualitativos nos diferentes grupos e verificada sua consistência por meio da observação de sua variação intraespecífica. Caracteres que se mostraram consistentes foram formalizados em estados de caráter (Pinna, 1991). Uma análise descritiva desses caracteres foi realizada como forma de fornecer bases para o entendimento da evolução desses caracteres no grupo.

Apenas espécimes considerados adultos foram examinados. Essa classe etária foi determinada pela ocorrência de todos os dentes eclodidos e a sutura basiesfenoide/basioccipital fundida (Garbino, 2015).

A terminologia utilizada para a descrição qualitativa craniana segue Hershkovitz (1977) e Natori (1986).

3.3. Análise de Pelagem

Para a análise das características de pelagem, foi adotado o sistema de divisão do corpo em campos cromatogénicos de Garbino (2015). As peles foram avaliadas individualmente quanto à coloração geral, disposição da pelagem e bandeamento dos pelos. As áreas foram, a princípio, consideradas independentes entre si. Os campos cromatogénicos utilizados e sua localização topológica estão indicados na Figura 5.

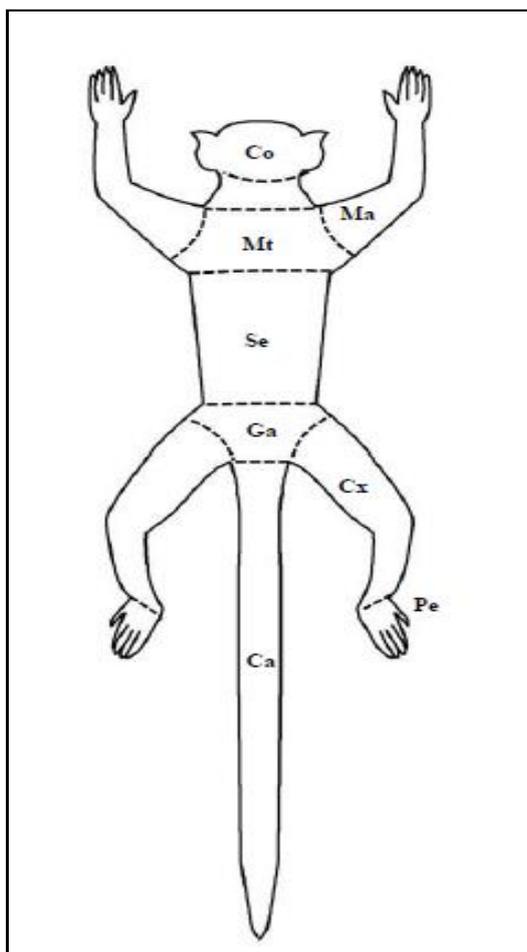


Figura 5. Campos cromatogênicos definidos para estabelecimento de caracteres de pelagem (Garbino, 2015). As siglas representadas na figura representam as seguintes denominações dos campos cromatogênicos: Co = coroa, Mt = manto, Ma = membros anteriores, Se = sela, Ga = gaupa, Cx = coxa, Pe = pés, Ca = cauda.

Garbino (2015) considerou a região da cabeça como um campo cromatogênico. Porém, devido ao fato de que subregiões de pelagem facial e cranial já foram utilizadas como caracteres independentes para estabelecimento de hipóteses filogenéticas em *Saguinus* (Hershkovitz, 1977), e pelo fato de observarmos uma heterogeneidade na disposição de pelos na face e no crânio desses primatas, neste trabalho consideramos uma subdivisão do campo cromatogênico da face nas seguintes regiões: face, crânio e região de entorno bucal, sendo essas também consideradas independentes entre si, para fins de estabelecimento de caracteres.

3.4. Filogenia Morfológica

Os caracteres codificados foram incluídos em uma matriz filogenética no programa NDE (Nexus Data Editor – Page, 2001) e essa matriz foi analisada por meio do método de parcimônia com o programa TNT (Tree analyses using New Technology) (Goloboff et al., 2008). Após a criação da matriz foi utilizado o critério de busca exata (enumeração implícita) para a obtenção da árvore mais parcimoniosa. Para verificar a consistência dos ramos, foi calculado o índice de decaimento (Bremer, 1988; Bremer et al., 1994).

3.5. Filogenia Molecular

3.5.1. Marcadores Utilizados

Foram escolhidos 40 marcadores, incluindo 3 genes mitocondriais e 37 genes nucleares (Tabela 2). O critério para escolha foi a disponibilidade desses marcadores para as espécies e subespécies de interesse no GenBank. Foram coletados dados moleculares para as espécies pertencentes ao gênero *Saguinus* além de sete espécies pertencentes ao gênero *Callithrix* (*C. jacchus*, *C. humilis*, *C. geoffroyi*, *C. mauesi*, *C. penicillata*, *C. humeralifera* e *C. argentata*), duas espécies de *Leontopithecus* (*L. rosalia* e *L. chrysomelas*), gêneros *Cebuella* e *Callimico* (*Cebuella pygmaea*, *Callimico goeldi*) *Sapajus apella*, e *Alouatta caraya*. A listagem dos marcadores com os respectivos números de acesso consta no Apêndice II.

Tabela 2. Lista de marcadores utilizados.

Sigla	Gene	Gene	Procedência
CytB		Cytochrome b	Mitocondrial
ND1		Mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 1	Mitocondrial
AluSF7		SINE (short interspersed elements) AluSF7	Nuclear
AluC3		SINE (short interspersed elements) AluC3	Nuclear
16S		16S ribosomal RNA	Mitocondrial
Alu1BF3		SINE (short interspersed elements) Alu1BF3	Nuclear
Alu1D132		SINE (short interspersed elements) Alu1D132	Nuclear
DLOOP		Displacement Loop	Mitocondrial
ABCA1		ATP binding cassette subfamily A member 1	Nuclear
ADORA 3		Adenosine A3 receptor	Nuclear

Sigla Gene	Gene	Procedência
AFF2	AF4/FMR2 family member 2	Nuclear
DMRT1	Doublesex and mab-3 related transcription factor 1	Nuclear
FBN1	Fibrillin 1	Nuclear
Epsilon Globin	Hemoglobin subunit epsilon 1	Nuclear
AFF22	AF4/FMR2 family member 2	Nuclear
APP	Amyloid beta precursor protein	Nuclear
ATXN 7	Ataxin 7	Nuclear
AXIN 1	Ataxin 1	Nuclear
BCHE	Butyrylcholinesterase	Nuclear
BCOR	BCL6 Corepressor	Nuclear
BDNF	Brain derived neurotrophic factor	Nuclear
BRCA2	BRCA2, DNA repair associated	Nuclear
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	Nuclear
CHRNA1	cholinergic receptor nicotinic alpha 1 subunit	Nuclear
CNR1	cannabinoid receptor 1	Nuclear
CREM	CAMP responsive element modulator	Nuclear
DACH1	Dachshund family transcription factor 1	Nuclear
DCTN2	Dynactin subunit 2	Nuclear
EDG1	Sphingosine-1-phosphate receptor 1	Nuclear
ERC2	ELKS/RAB6-interacting/CAST family member 2	Nuclear
FAM123B	APC membrane recruitment protein 1	Nuclear
FES	FES proto-oncogene, tyrosine kinase	Nuclear
FOXP1	Forkhead box P1	Nuclear
GHR	Growth hormone receptor	Nuclear
kcnma1	Potassium calcium-activated channel subfamily M	Nuclear
lrpprc169	Leucine rich pentatricopeptide repeat containing	Nuclear
lrpprc 171	Leucine rich pentatricopeptide repeat containing	Nuclear
luc71	Luciferase Gene	Nuclear
mapkap1	Mitogen-activated protein kinase associated protein 1	Nuclear
MBD5	Methyl-CpG binding domain protein 5	Nuclear

3.5.2. Alinhamento

As sequências obtidas para cada marcador foram alinhadas individualmente utilizando o programa Mafft 7 (Kato et al., 2002). Os alinhamentos foram inspecionados visualmente com auxílio do software Aliview (Larsson, 2014). Regiões de alinhamento ambíguas foram retiradas do conjunto de dados moleculares, através do

programa Gblocks (Castresana, 2000). Posteriormente, foram concatenadas com auxílio do programa Fasconcat (Kück e Meusemann, 2010). O total de bases alinhadas foi de 25423 pb.

O programa Partitionfinder (Lanfear et al., 2012) foi utilizado para determinar o melhor esquema de particionamento dos dados e escolha do modelo de análise para cada partição. No total foram estabelecidas 22 partições. A listagem dos modelos selecionados para cada partição constam na Tabela 3.

Sequências alinhadas com dados moleculares e dados morfológicos concatenados foram analisadas no programa MrBayes v.3.2.6 (Huelsenbeck et al., 2001) através de inferência bayesiana, que foi conduzida em duas corridas independentes ao longo de 30 milhões de gerações, amostrando-se a cada 1000 gerações e descartando 25% dos parâmetros e árvores amostrados (burnin).

Tabela 3. Correspondência entre os subconjuntos dos dados particionados com os respectivos modelos de análise selecionados.

Subset	Best Model	Subset Partitions	Subset Sites
1	GTR+I+G	16rna	1-504
2	GTR+G	ABCA1, CHRNA1	505-1302, 10234-10604
3	GTR+G	ADORA3, CREM, LRPPRC_171	1303-1714, 11595-12017, 19133-19822
4	HKY+G	AFF22, DCTN2	1715-2282, 12644-13228
5	HKY+I	AFF2, BCHE, DMRT1	2283-2768, 6194-7076, 13229-13757
6	GTR+I	APP, FOXP1	2769-3375, 17239-17786
7	HKY+I	ATXN, BCOR, BDNF	3376-3907, 7077-7847, 7848-8266
8	HKY+I+G	AXIN1, CNR1	3908-4858, 10605-11594
9	SYM+I	Alu1_c3	4859-5247
10	GTR+I+G	Alu_1b_f3, sine_sf7	5248-5836, 24984-25423
11	GTR+I	Alu_1d_132	5837-6193
12	GTR+G	BRCA2, LUC_7L	8267-9505, 19823-20464
13	GTR+G	CFTR, ERC2, GHR	9506-10233, 14717-15477, 17787-18342
14	GTR+G	DACH1, mapkap1	12018-12643, 23463-24028
15	HKY+I	EDG1	13758-14716
16	GTR+I	FAM123B, FES	15478-16181, 16783-17238
17	GTR+I	FBN1, MBD2	16182-16782, 20465-21012
18	GTR+G	LRPPRC_169	18343-19132

Subset	Best Model	Subset Partitions	Subset Sites
19	GTR+I+G	cytb, nd1	21013-21925, 24029-24983
20	HKY+I+G	dloop	21926-22300
21	HKY+I	e_globin	22301-22841
22	GTR	kenma1	22842-23462

3.6. Filogenia com Dados Concatenados

Os dados morfológicos e moleculares referentes aos grupos *S. midas*, *S. bicolor*, *S. oedipus* e *S. mystax* foram combinados no programa FASconcat (Kuck and Meusemann, 2010). Os modelos de substituição usados para as partições moleculares foram definidos de acordo com o PartitionFinder (Lanfear et al., 2012) e o modelo usado para a partição morfológica foi o Mkv (Lewis, 2001).

Sequências alinhadas com dados moleculares e dados morfológicos concatenados foram analisadas no programa MrBayes v.3.2.6 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001) através de inferência bayesiana, que foi conduzida em duas corridas independentes ao longo de 30 milhões de gerações, amostrando-se a cada 1000 gerações e descartando 25% dos parâmetros e árvores amostrados (burnin). Para diagnóstico de convergência das cadeias foram utilizados o *potential scaling reduction factor* (PRSF) e o *estimated sample size* (ESS) dos parâmetros.

3.7. Teste da Hipótese de Diversificação de Hershkovitz (1977)

Testamos a hipótese de Hershkovitz (1977) através da otimização do caráter utilizado por ele para propor a sua hipótese de diversificação (branqueamento da pelagem facial) na topologia obtida pela filogenia com dados concatenados através do programa Mesquite (Maddison e Maddison, 2001) e utilizando os métodos de parcimônia e máxima verossimilhança. Os estados de caráter foram definidos com base na hipótese de Hershkovitz (1977), como forma de reproduzir a sua codificação, atribuindo os seguintes estados: ausência de pelagem branca na face (0), pelagem

branca na região circumbucal (1), pelagem branca nas regiões circumbucal e nasal (2) e presença de bigode (3).

3.8. Datação Molecular

As análises dos tempos de divergência foram realizadas no BEAST 2 (Bouckaert et al., 2014) e basearam-se no conjunto de dados moleculares empregado nas análises filogenéticas, bem como as partições e modelos selecionados anteriormente. Um relógio relaxado log-normal não correlacionado (UCLN) foi utilizado e as árvores foram modeladas sob um processo de Yule.

A filogenia foi calibrada com os dados referentes aos seguintes fósseis: *Laganomico concluatus* (Kay e Williams, 1994), *Patasola magdalanae* (Meldrum e Kay, 1997) e *Micodon kiotensis* (Setoguchi e Rosenberger, 1985), todos procedentes do sítio paleontológico de La Venta, na Colômbia e datados do Mioceno médio (Madden et al., 1997). Os dados desses fósseis foram utilizados para calibrar a diversificação de Callitrichidae, entre 12,5 e 13,7 milhões de anos atrás. O fóssil descrito por Marivaux et al. (2016) como *Cebuella* sp., do Mioceno tardio, foi utilizado nessa análise para calibrar o nó referente à diversificação de *Cebuella* e *Callithrix*.

Foram realizadas três execuções independentes de 50 milhões de gerações para cada conjunto, com árvores amostradas a cada 1000 Gerações. O programa Tracer 1.5 (Rambaut et al., 2014) foi utilizado para verificar a convergência e *estimated sample size* (ESS) de parâmetros maiores que 200. Uma árvore com máxima de credibilidade de clados foi gerada no TreeAnnotator após 20% das árvores amostradas serem descartadas como burn-in.

3.9. Análise Biogeográfica

Como forma de atualizar a distribuição geográfica das espécies e embasar as análises biogeográficas posteriores, também foram levantados dados geográficos através da coleta dos dados de procedência dos espécimes depositados nas instituições visitadas (Apêndice I) e da literatura (Hershkovitz, 1977) e da IUCN (2016). Um mapa de

distribuição geográfica (Figura 6) foi confeccionado, a partir dos dados obtidos, no programa QGIS Desktop, Versão 2.16.

Com base na distribuição das espécies obtida através da atualização de dados geográficos, foram estipuladas cinco áreas para realização das análises biogeográficas (Figura 6): A (referente à atual distribuição do grupo *S. nigicollis*, abaixo do Rio Japurá), B (área localizada entre os rios Negro e Japurá), C (região de ocupação localizada ao norte do Rio Amazonas), D (região de ocupação logo ao sul do Amazonas) e E (região localizada a oeste dos Andes).

Foi feita então a utilização dos seguintes modelos: DEC (Ree and Smith, 2008), DEC+j, DIVA (Yu et al., 2010), DIVA+j BayArea (Landis et al., 2013) e BayArea+j. Cada um desses modelos foi utilizado para um conjunto de possibilidades biogeográficas, permitindo a exploração dos papéis dos diferentes fenômenos (vicariância, dispersão e extinção) potencialmente envolvidos no histórico de distribuição do grupo, bem como a inferência das regiões de ocupação ancestrais do grupo. Foi realizada comparação do ajuste estatístico para os resultados sob cada um dos modelos utilizados por meio do critério de AICc, implementado no Bio-GeoBEARS (Matzke, 2012).

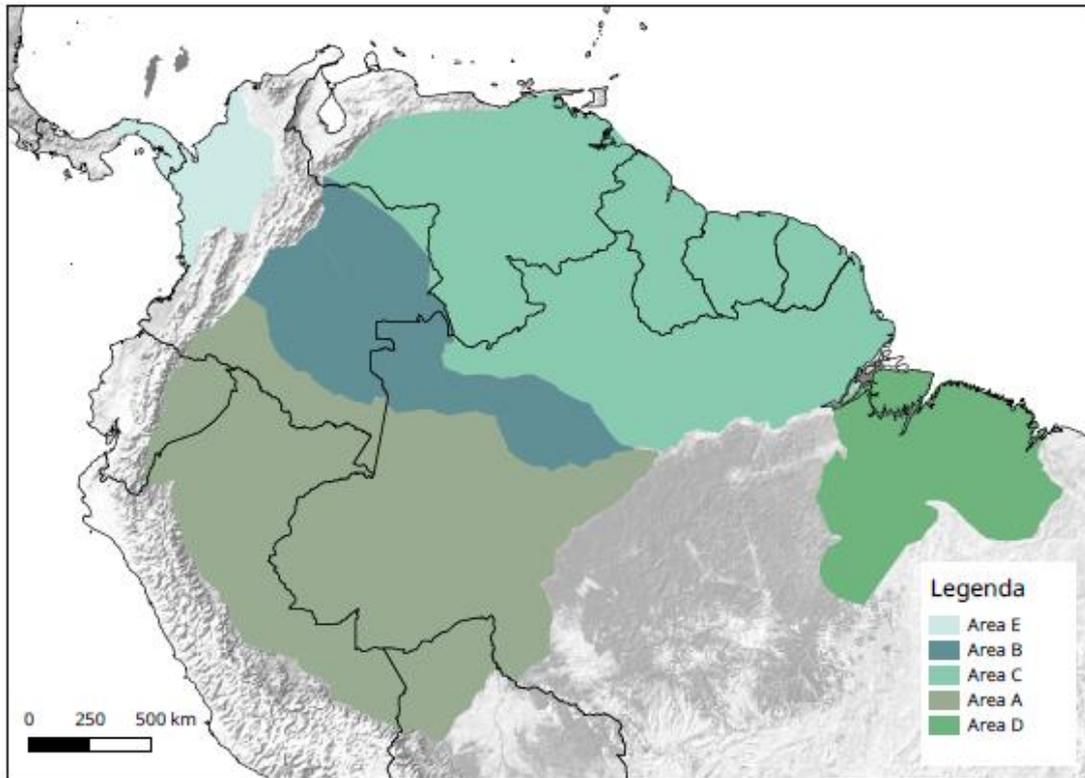


Figura 6. Mapa de distribuição geográfica elaborado a partir dos dados geográficos obtidos, no programa QGIS Desktop, Versão 2.16, ilustrando as áreas de distribuição de grupos *Saguinus* e que foi utilizado para a realização das análises biogeográficas estatísticas. A área E corresponde à atual distribuição do grupo *S. oedipus*; a área B corresponde à distribuição de *S. inustus*; C corresponde à ocupação do grupo *S. midas*; A corresponde a à atual distribuição do grupo *S. nigricollis* e D corresponde à área ocupada por *S. niger*.

4. Resultados

4.1. Descrição dos Caracteres Morfológicos

A partir da análise morfológica dos espécimes depositados nas instituições visitadas, foram levantados 13 caracteres, sendo 6 deles relacionados à pelagem e 7 relacionados à morfologia craniana. A estes caracteres foram adicionados 11 caracteres da literatura (Natori, 1988; Nogami and Natori, 1986), os quais foram reinterpretados para adequação ao conjunto de dados do presente estudo. Isto resultou em um total de 25 caracteres, sendo 6 relacionados a caracteres de pelagem, 9 relacionados à morfologia dentária e 10 relacionados à morfologia craniana.

Caráter 1: Presença dos aglomerados de hastes da microestrutura do esmalte. Ausente (0); Presente (1) (Natori, 1988)

Em *S. labiatus*, *S. mystax*, *S. imperator* e *S. bicolor*, dez ou mais hastes adjacentes ou fileiras estão reunidas para construir dois tipos de aglomerados. Um dos tipos é bastante retilíneo, estendendo-se da junção da dentina com o esmalte em direção à superfície do esmalte. O outro é irregularmente dobrado em uma direção mesodistal, intersectando o plano bucolingual em ângulos razoavelmente grandes.

Caráter 2: Grau de dobramento das hastes da microestrutura do esmalte. Grau de dobramento menos acentuado (0), Grau de dobramento intermediário (1) e Grau de dobramento mais acentuado (2). (Natori, 1988).

Em seu trabalho, Natori (1988) estabelece este caráter como uma gradação do grau de dobramento das hastes que formam a microestrutura do esmalte entre os espécimes de *Saguinus* observados. Ele atribui estado “0” para o grau de dobramento menos acentuado, passando pelo estado “1”, que corresponderia ao grau de dobramento intermediário entre os espécimes, atingindo finalmente o estado “2” (grau de dobramento mais acentuado). Optamos aqui por manter a discretização realizada por Natori (1988).

Em *S. oedipus* e *S. leucopus*, as hastes do prisma estão proximamente retilíneas a um pouco irregularmente convexas em direção à ponta, e não fortemente dobradas em uma direção mesodistal. Em *S. labiatus*, *S. mystax*, *S. imperator* e *S. bicolor*, dez ou mais hastes adjacentes estão agrupadas para construir dois conjuntos. Em *S. inustus*, *S. fuscicollis*, *S. nigricollis*, e *S. midas*, o grau de dobramento é menos acentuado que o observado no grupo de *S. labiatus*, porém mais acentuado que no grupo *S. oedipus*.

Caráter 3: Cíngulo lingual menos pronunciado (Natori, 1988). Ausente (0); Presente (1).

S. labiatus possui cíngulo lingual dos incisivos superiores menos pronunciado quando comparado a outros *Saguinus*.

Caráter 4: Formato dos incisivos (Natori, 1988). Comprimento maior que a largura (0); Largura maior que comprimento (1)

Os incisivos inferiores são pouco mais largos que longos em *S. labiatus*, *S. mystax* e *S. imperator*, enquanto que no restante do gênero são muito mais longos que largos. (Figura 7).

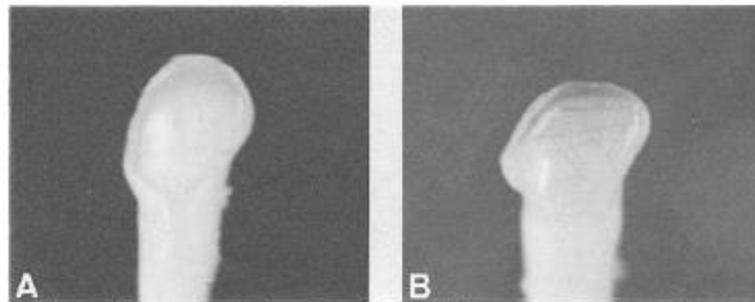


Figura 7. Caráter 4. Vista lingual dos incisivos inferiores de *S. oedipus* (A) e *S. labiatus* (B), retirada do trabalho de Natori (1988). A figura mostra como em *S. labiatus*, integrante do grupo *S. mystax*, os incisivos apresentam certo grau de “achatamento” em relação a outras espécies de *Saguinus*, sendo maiores em termos de largura que em comprimento.

Caráter 5: Premetacristídeo voltado acentuadamente para baixo (Natori, 1988). Ausente (0); Presente (1)

No segundo premolar (P2) de *S. bicolor* e *S. midas*, o premetacristídeo percorre distalmente acentuadamente para baixo partir do canto medial. O premetacristídeo dos outros *Saguinus* percorre menos acentuadamente para baixo. (Figura 8).

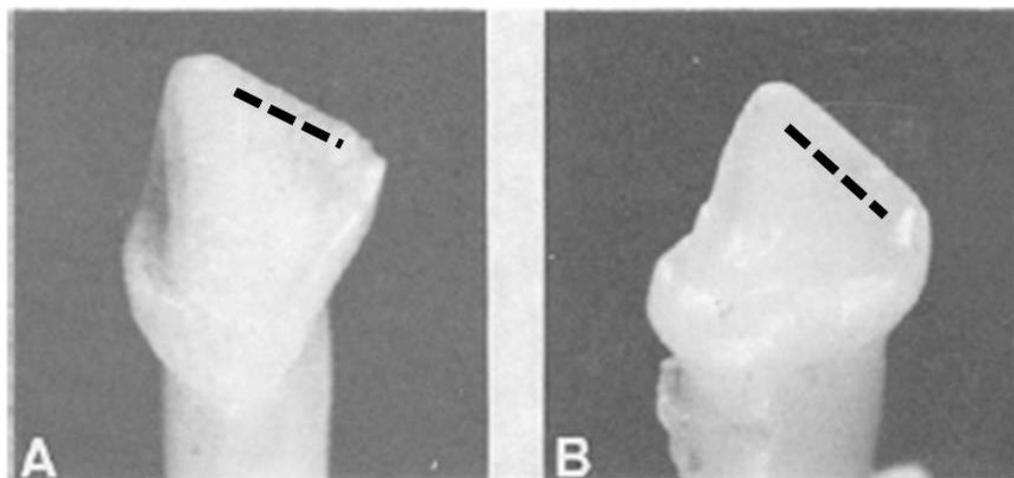


Figura 8. Caráter 5. Vistas linguais dos segundos premolares (P2) de *S. midas* (A) e *S. oedipus* (B) retiradas do trabalho de Natori (1988), indicando a diferença na forma do premetacristídeo (linha tracejada) entre o grupo *S. midas* (*S. midas* e *S. bicolor*) e outros *Saguinus*.

Caráter 6: Profundidade do sulco no P3 (Natori, 1988). Sulco profundo (0), sulco raso pela redução do metaconídeo (1); Sulco raso (2)

No P3 de *S. geoffroyi*, o sulco entre o metaconídeo e protoconídeo é raso, e as cúspides estão frequentemente coalescidas. Um P3 onde um sulco entre as cúspides é raso ocorre às vezes em *S. nigricollis*, *S. fuscicollis*, *S. bicolor* e *S. midas*. Contudo, nessas espécies, o sulco entre as cúspides se torna raso pela redução do metaconídeo.

Caráter 7: Presença de crista que corre bucalmente a partir do metastilo no M1 (Natori, 1988). Ausente (0); Presente (1)

No M1 de *S. mystax*, a crista que corre bucalmente a partir do metastilo é bastante desenvolvida, condição que não é observada no M1 de outros Callitrichidae.

Caráter 8: Entoconídeo menos pronunciado (Natori, 1988). Ausente (0); Presente (1)

S. leucopus, *S. inustus*, *S. nigricollis*, *S. fuscicollis*, *S. labiatus*, *S. mystax*, e *S. imperator* possuem um entoconídeo relativamente desenvolvido no M1. Por outro lado, o entoconídeo de M1 de *S. oedipus*, *S. geoffroyi*, *S. bicolor*, e *S. midas* é menos pronunciado. Esse tamanho menor do entoconídeo só é visto entre *Saguinus* dentre todos os Callithrichidae. (Figura 9).

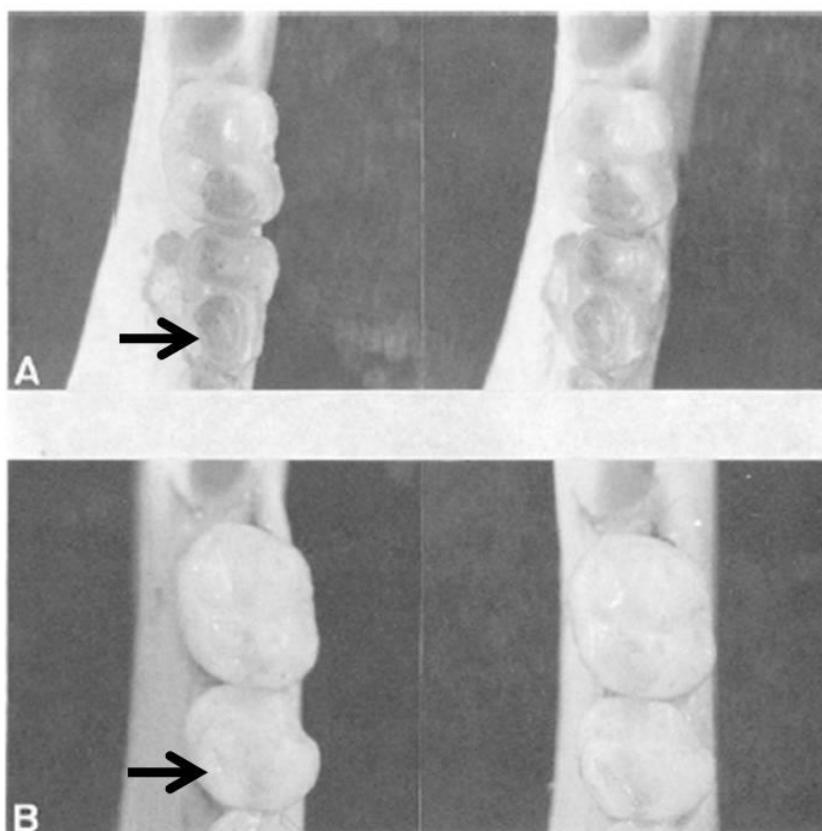


Figura 9. Caráter 8. Comparação da redução do entoconídeo entre *S. bicolor* e *S. imperator*. Retirado do trabalho de Natori (1988).

Caráter 9: Espessura da camada de esmalte (Nogami e Natori, 1986). Moderado na porção bucal e fino na lingual (0); Moderado a espesso na porção bucal e fino na lingual (1); Fino na porção bucal e muito fino na lingual (2); Microestrutura do esmalte pouco conspícua à visualização na porção bucal (3).

A partir da análise dos dentes de um indivíduo de *S. bicolor*, Natori e Nogami (1986) observaram o seguinte padrão: o esmalte dos incisivos inferiores é moderado na porção bucal e fino na porção lingual. Em *S. mystax*, *S. labiatus* e *S. imperator* o esmalte dos incisivos inferiores é moderado a espesso na porção bucal, mas fino na porção lingual. Em *S. midas* o esmalte é fino na porção bucal e muito fino na porção lingual. Em *S. inustus* a microestrutura do esmalte não é visível em todo o comprimento e largura do esmalte bucal. Nogami e Natori (1986) justificam a falta de conspicuidade do esmalte em *S. inustus* pelo fato de o esmalte ser representado por uma única seção labiolingual através do incisivo superior (Figura 10).

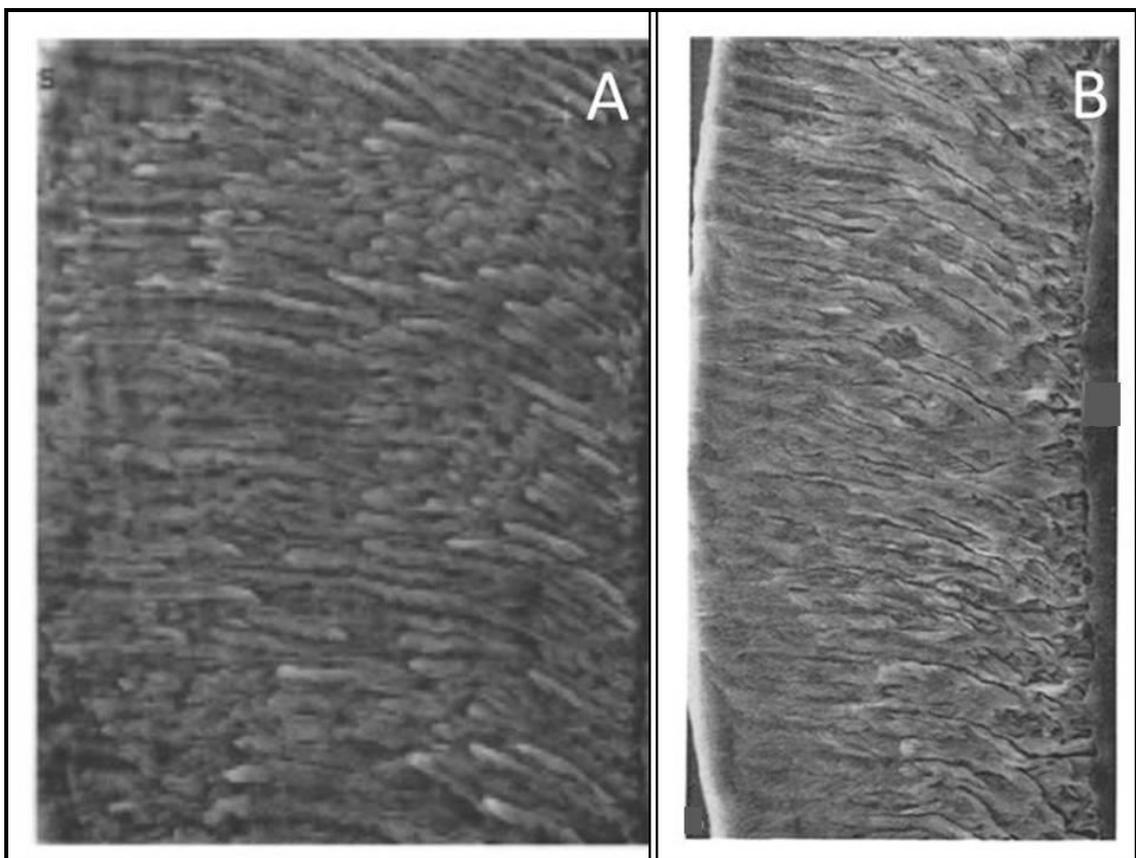


Figura 10. Caráter 9. Comparação entre a visualização da microestrutura do esmalte de *S. mystax* (A) e *S. inustus* (B) retirada do trabalho de Nogami e Natori (1986). A figura ilustra a diferença na conspicuidade da microestrutura nas duas espécies: enquanto em *S. mystax* as hastes são visíveis, em *S. inustus* é impossível diferenciá-las.

Caráter 10: Proporção do osso nasal (altura / largura). Altura maior que largura (0); Altura equivalente à largura (1)

A proporção da altura sobre a largura do osso nasal de *S. inustus* tende ao valor de um, ou seja, a altura do nasal é equivalente à largura nessa espécie, enquanto que no restante das espécies analisadas, a largura do osso nasal é sempre menor que a altura. (Figura 11).

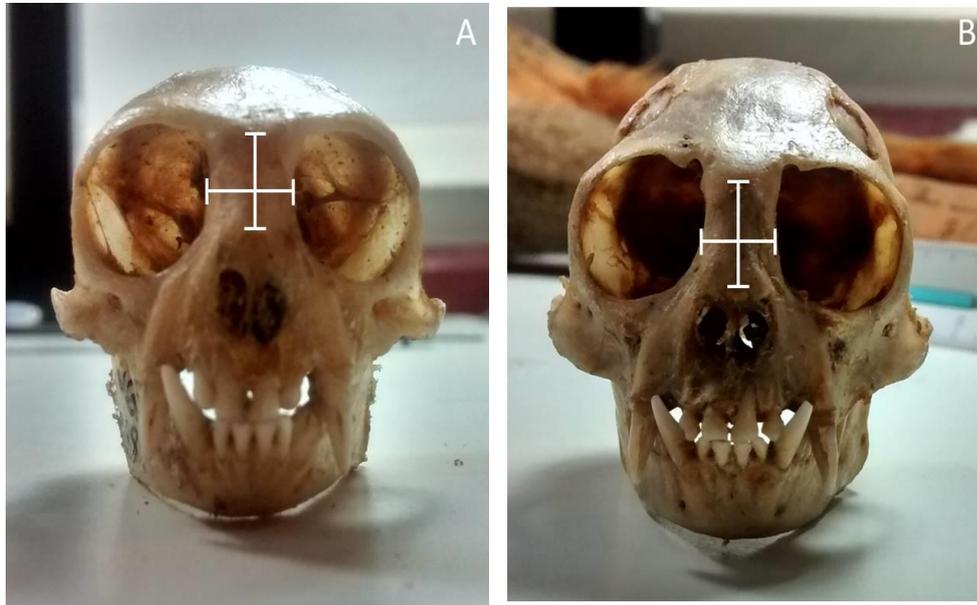


Figura 11. Caráter 10. Diferença das proporções entre a altura e largura do osso nasal em *S. inustus* (A) e *S. mystax* (B).

Caráter 11: Proporção entre o comprimento e a largura da caixa craniana.
Maior que 1.6 (0); Menor que 1.4 (1)

O formato da caixa craniana de *S. inustus* é mais afilado lateralmente, aparentando ser menos volumoso. Isso é facilmente observado quando se calcula a proporção entre o comprimento (sentido antero-posterior em vista superior) e a largura (sentido latero-lateral em vista superior). *S. inustus* apresenta valor de proporção acima de 1.6, enquanto os crânios de todas as outras espécies analisadas apresentam esse valor menor que 1.4. (Figura 12).

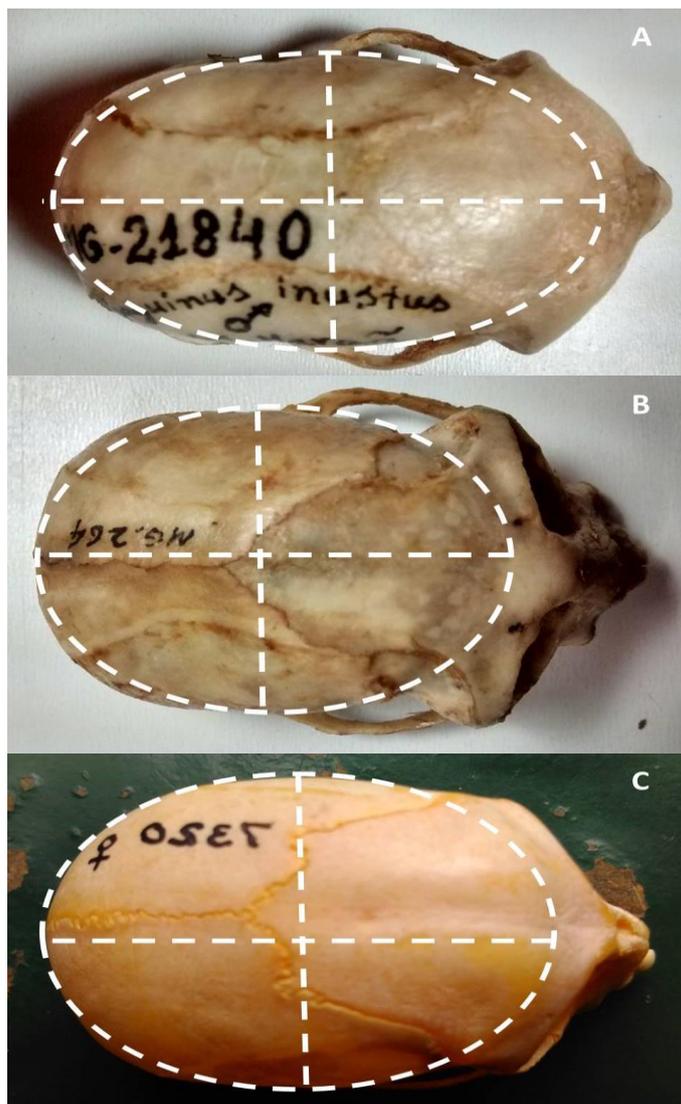


Figura 12. Caráter 11. Vista superior de exemplares cranianos de três espécies: *S. inustus* (A), *S. imperator* (B) e *S. labiatus* (C), ilustrando a diferença nas proporções entre comprimento e largura do crânio. *S. inustus* apresenta maior proporção, tendo, portanto um crânio mais afilado lateralmente quando comparado às outras espécies.

Caráter 12: Achatamento da parte superior do crânio. Ausente (0); Presente (1)

O osso frontal de *S. inustus* é achatado, enquanto que no grupo *S. mystax*, em *S. bicolor* e *S. midas*, a parte superior do crânio é mais globosa. Pode-se observar essa diferença traçando uma linha paralela ao plano horizontal que parte da parte superior da órbita até a parte posterior do crânio e verificando a altura dessa linha até a parte superior do crânio. Em *S. inustus*, essa altura é visivelmente menor que nas outras espécies analisadas. (Figura 13).

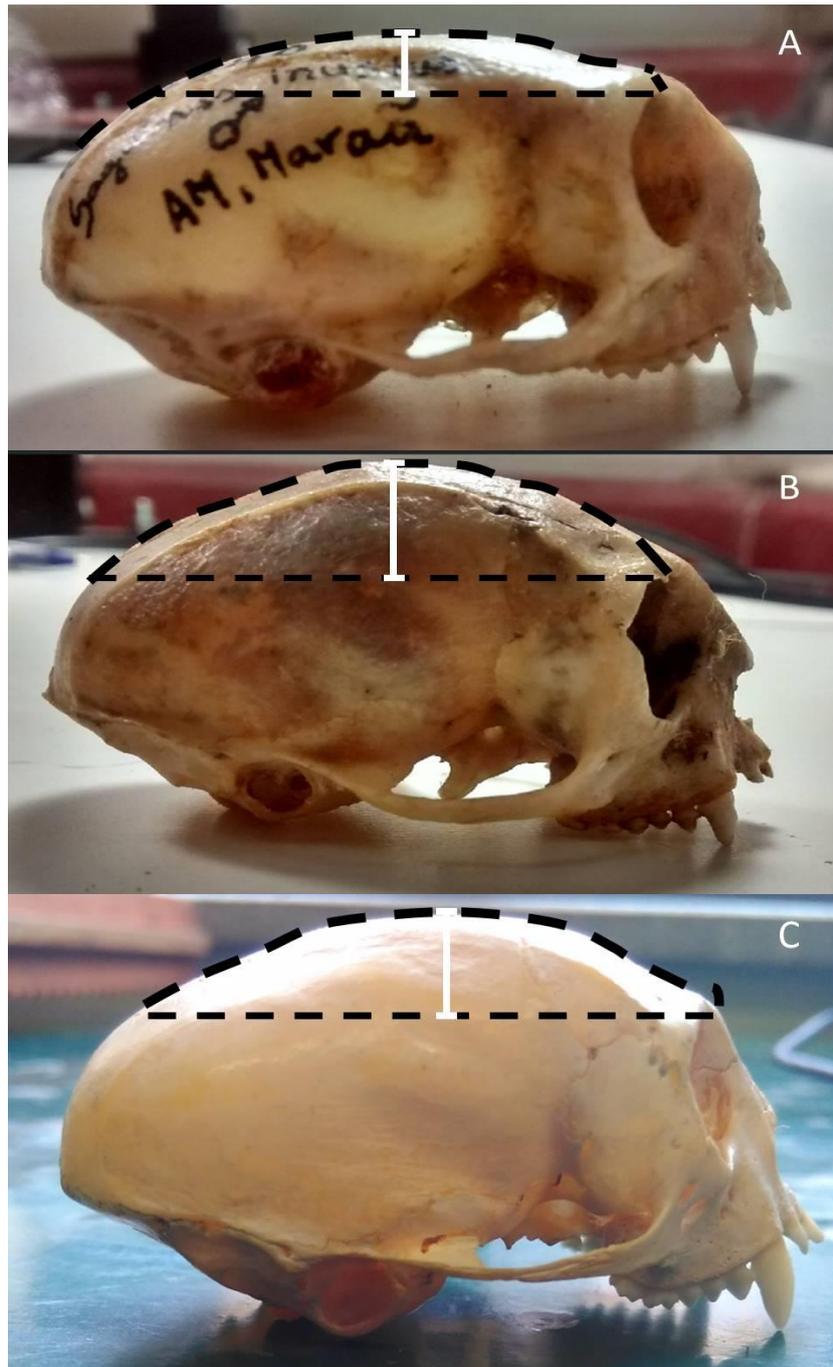


Figura 13. Caráter 12. Diferenças dos formatos cranianos em vista lateral de *S. inustus* (A), *S. imperator* (B) e *S. labiatus* (C). A parte superior do crânio de *S. inustus* é mais achatada, apresentando aspecto mais plano.

Caráter 13: Posição das suturas coronais em relação às linhas temporais. Interceptam em um único ponto (0); Parcialmente coincidentes (paralelas anteriormente) (1)

As suturas coronais de *S. inustus* acompanham as cristas temporais até um pouco antes da parte média do crânio, onde se unem, formando um "U" aberto, diferentemente das suturas coronais das espécies do grupo *S. mystax*, que interceptam as cristas temporais em um único ponto. Em *S. inustus* é impossível distinguir as cristas temporais das suturas coronais, portanto, por terem trajetórias parcialmente coincidentes. (Figura 14).



Figura 14. Caráter 13. Vista superior dos crânios de *S. inustus* (A) e *S. imperator* (B). As linhas brancas indicam as suturas coronais e as linhas pretas indicam as cristas temporais.

Caráter 14: Angulação abaixo do nasal em vista lateral. Presente (0); Ausente (1)

Lateralmente, o ângulo formado pelos ossos nasal e maxilar, incluindo os incisivos, também difere *S. inustus* do grupo *S. mystax*: no grupo *S. mystax*, pode-se observar que há uma depressão acentuada logo abaixo o final do nasal, gerando uma angulação da face em vista lateral, diferentemente de *S. inustus*, no qual a angulação da face em vista lateral é menos acentuada. (Figura 15).

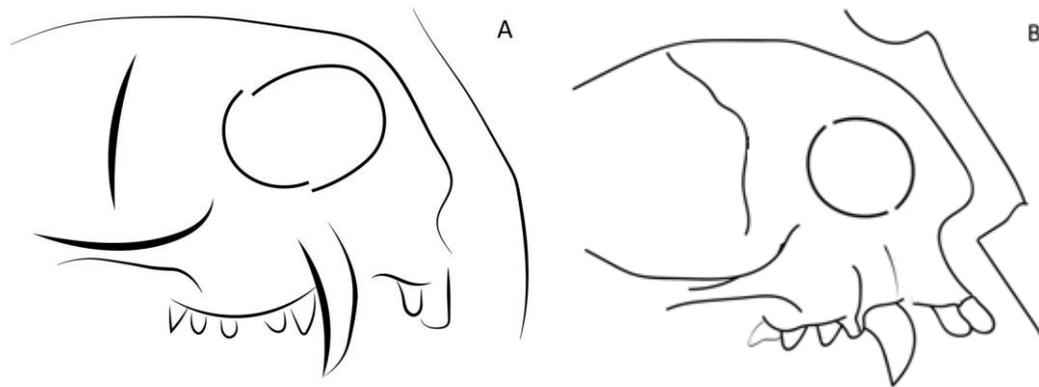


Figura 15. Caráter 14. Representação das vistas laterais das faces de *S. inustus* (A) e do restante das espécies analisadas (B). Em *S. inustus* a região abaixo do nasal apresenta pouca angulação, de modo que essa região apresenta-se plana em vista lateral. Já no restante das espécies analisadas a depressão existente abaixo do osso nasal provoca uma angulação visível em vista lateral.

Caráter 15: Elevação do arco supraciliar. Presente (0); Ausente (1)

No grupo *S. mystax*, em relação a *S. midas*, *S. niger* e *S. bicolor*, observa-se uma menor elevação do arco supraciliar, de modo que em vista lateral consegue-se fazer uma nítida diferenciação. (Figura 16).



Figura 16. Caráter 15. Representação das vistas laterais dos crânios de *S. imperator*, *S. mystax* e *S. labiatus* (A), ilustrando a ausência da elevação do arco supraciliar nessas espécies, e do restante das espécies analisadas (B), ilustrando a presença dessa elevação.

**Caráter 16: Abertura externa do canal carótico visível. Não conspícua (0);
Conspícua (1)**

Em *S. mystax*, *S. labiatus* e *S. imperator* a abertura externa do canal carótico é visível em análise da vista posterior do crânio. Já em *S. midas*, *S. niger* e *S. bicolor*, a abertura não é conspícua como no grupo *S. mystax*, não sendo visível em vista posterior.

**Caráter 17: Posição da sutura zigomaticomaxilar inferior (Natori, 1988).
Posteriormente no zigomático (0); Inferiormente no zigomático (1)**

A porção posterior da sutura zigomaticomaxilar corre posteriormente ao longo do arco zigomático em *S. oedipus*, *S. geoffroyi*, e *S. leucopus*, enquanto em outros *Saguinus* essa porção da sutura é posicionada mais anteriormente. (Figura 17).

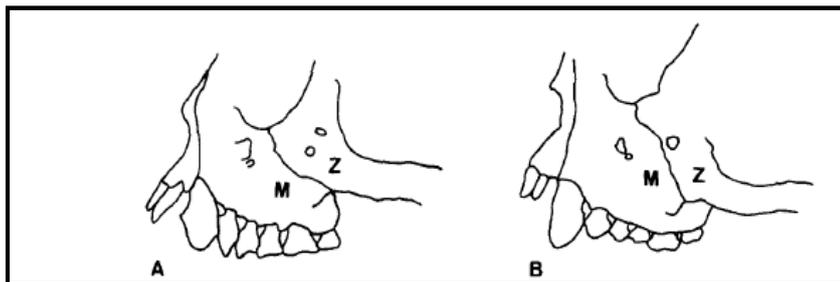


Figura 17. Caráter 17. Vista lateral dos crânios de *S. leucopus* (A) e *S. fuscicollis* (B), ilustrando a diferença nas posições da porção posterior da sutura zigomaticomaxilar. Retirada do trabalho de Natori (1988).

**Caráter 18: Posição da sutura zigomaticomaxilar superior (Natori, 1988).
Mais próxima ao plano mediano do crânio (0); Mais afastada do plano mediano do
crânio (1).**

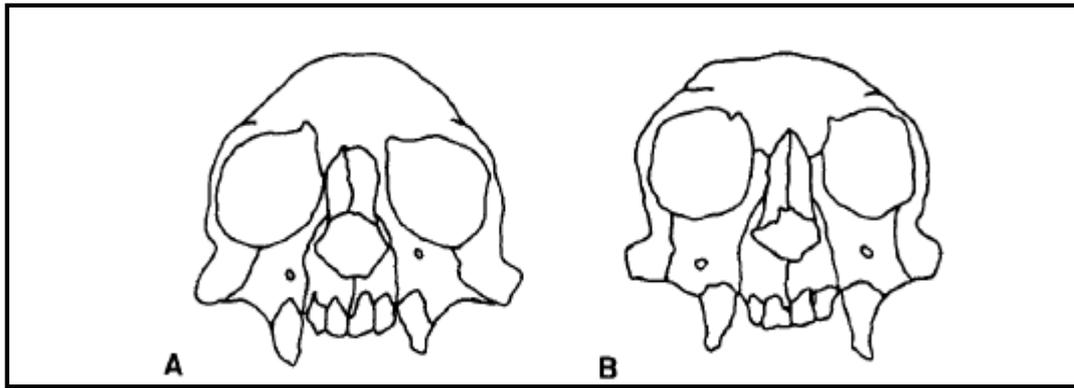


Figura 18. Caráter 18. Representação de Natori (1988) da vista frontal dos crânios de *S. leucopus* (A) e *S. fuscicollis* (B), ilustrando a diferença nas posições da porção anterior da sutura zigomaticomaxilar.

Caráter 19: Posição do forame do sino petrosal. Separado do forame jugular (0); Coalescido com o forame jugular (1).

Em *S. labiatus*, *S. mystax*, e *S. imperator*, e *S. inustus* o forame do sino petrosal inferior está localizada inferiormente ao forame jugular e é completamente separado deste. Em *S. oedipus*, *S. geoffroyi*, *S. bicolor*, e *S. midas* o forame do sino petrosal inferior não é observado como uma estrutura em separado, e pode estar coalescido ao forame jugular.

Caráter 20: Coloração da pelagem facial. Face e crânio glabros (0); Face glabra e crânio piloso (1); Crânio piloso e face com pouca pilosidade (2); Face pilosa com entorno bucal branco (3); Face pilosa com bigode branco proeminente (4). (Figura 19).



Figura 19. Caráter 20. A figura ilustra as diferenças na pelagem facial de *S. bicolor*, *S. Midas*, *S. inustus*, *S. mystax* e *S. imperator*, respectivamente. *S. midas*, *S. bicolor* e *S. inustus* não apresentam pelagem facial. *S. bicolor* e *S. inustus* não apresentam pelagem no crânio. *S. mystax* e *S. imperator* apresentam tanto cobertura de pelagem na face quanto no crânio, mas somente *S. imperator* apresenta bigode. Fonte: <http://www.arkive.org/>.

Caráter 21: Distinção visual do manto. Indistinguível da sela ou fracamente definido (0), Distinção gradual (1), distinção nítida (2).

S. imperator, *S. inustus*, e *S. martinsi* não apresentam distinção das regiões da sela e do manto em análise visual. *S. mystax*, *S. labiatus*, *S. midas* e *S. niger* apresentam as duas regiões, mas com separação gradual entre elas. A única espécie que apresenta separação abrupta entre as duas regiões é a espécie *S. bicolor*.

Caráter 22: Padrão de bandeamento dos pelos da sela. Pelos unicoloridos (0); Pêlos bandeados (1).

A única espécie que apresenta padrão de pelos bandeados na região da sela é *S. imperator*. Todas as outras espécies apresentam pelos de coloração individualmente uniformes.

Caráter 23: Padrão de bandeamento dos pelos do manto. Pelos unicoloridos (0); Pêlos bandeados (1).

As espécies *S. imperator*, *S. mystax*, *S. labiatus*, *S. midas*, e *S. niger* apresentam pelos com bandeamento na região do manto. As outras espécies analisadas possuem pelos unicoloridos nessa região.

Caráter 24: Padrão geral da pelagem da sela e da garupa. Padrão uniformemente colorido (0); Pêlos em estrias (1); Manchas distintas (2).

As espécies *S. insutus*, *S. bicolor* e *S. martinsi* possuem padrão de coloração de pelagem uniforme nas regiões da sela e da garupa. Já as espécies *S. imperator*, *S. mystax*, *S. labiatus* apresentam padrão em estrias, sem manchas nitidamente distintas, ao contrário de *S. midas* e *S. niger*, que apresentam manchas distinguíveis visualmente.

Caráter 25: Pelagem da cauda e contraste da coloração da cauda com a coloração do dorso. Cauda não contrasta com o dorso, exibindo coloração igual ao deste (0), Cauda difere do dorso, mas com separação gradual (1), Cauda nitidamente mais clara ou mais escura que o dorso (2).

Em *S. inustus* a coloração da cauda é indistinguível da coloração do restante da região dorsal. Já em *S. mystax*, *S. labiatus*, *S. midas*, *S. niger*, *S. bicolor* e *S. martinsi* a coloração da cauda difere do restante do dorso, porém com mudança de coloração gradual. Somente *S. imperator* apresenta coloração da cauda separada bruscamente da coloração da parte dorsal do corpo.

4.2. Análise Filogenética com Dados Morfológicos

Dos 25 caracteres levantados, nove se mostraram não-informativos para parcimônia, cinco deles por serem autapomorfias de *S. inustus* (caracteres 10, 11, 12, 13 e 14), uma autapomorfia de *S. mystax* (caráter 7), e dois deles por se mostraram invariáveis dentro do grupo estudado (caracteres 17 e 18).

MATRIZ DE CARACTERES MORFOLÓGICOS																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
<i>S. imperator</i>	1	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	4	0	1	1	1	2
<i>S. mystax</i>	1	2	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	3	1	0	1	1	1
<i>S. labiatus</i>	1	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	3	1	0	1	1	1
<i>S. inustus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	1	1	1	1	0	?	1	1	0	2	0	0	0	0	0
<i>S. midas</i>	0	1	0	0	1	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	2	1
<i>S. niger</i>	0	1	0	0	1	?	0	?	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1	1	0	1	2	1
<i>S. bicolor</i>	1	?	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0	1
<i>S. martinsi</i>	0	?	0	0	?	?	0	?	?	0	0	0	0	0	0	0	1	1	?	0	0	0	0	0	1

Dos 14 caracteres que foram informativos para parcimônia, seis tiveram dados faltantes em *S. martinsi*. A ocorrência de dados faltantes para *S. martinsi* ocorreu devido a problemas amostrais: foram analisados somente dois espécimes dessa espécie, cujos crânios encontravam-se fragmentados, impossibilitando a verificação alguns caracteres morfológicos. A espécie *S. martinsi* foi então retirada durante a análise por apresentar indefinição de estados de caracteres, o que gerou instabilidade na filogenia e perda de resolução nas árvores de consenso. Na presença de *S. martinsi*, foram obtidas 5 árvores mais parcimoniosas, que diferiam entre si somente na posição dessa espécie. Ou seja, essa espécie é caracterizada como um *wildcard* ou *rogue taxa* (Nixon e Wheeler 1992,) e sua retirada levou a uma melhoria na resolução das relações filogenéticas (Stamatakis et al., 2012).

Foi recuperada então uma única árvore mais parcimoniosa (Figura 20), com um total de 34 passos, que resultou em uma politomia formada por *S. imperator*, *S. mystax* e *S. labiatus*, definido por quatro sinapomorfias (caracteres 2, 4, 9 e 15) e suporte de

Bremer igual a três. *Saguinus inustus* aparece como grupo irmão deste clado e o monofiletismo do grupo *S. mystax*, incluindo *S. inustus*, é suportado por quatro sinapomorfias (caracteres 5, 6, 8 e 19) e suporte igual a dois, sendo este o primeiro trabalho a apresentar sinapomorfias morfológicas que suportam o monofiletismo de *S. inustus* e o grupo *S. mystax*. *S. midas* e *S. niger* aparecem formando um clado como grupo externo ao grupo *S. mystax* e externamente a esses, encontra-se a espécie *S. bicolor*.

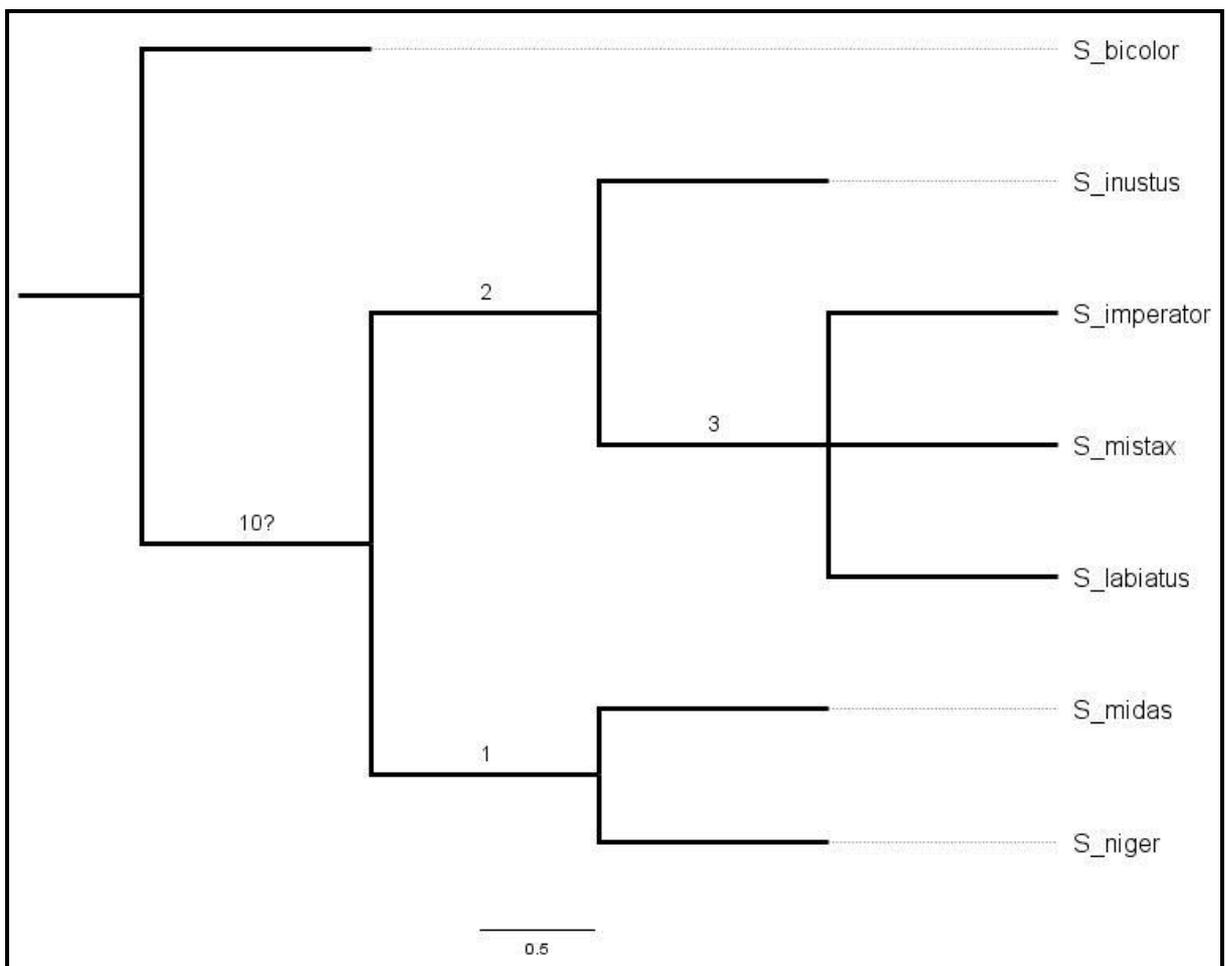


Figura 20. Única árvore mais parcimoniosa obtida a partir de análise de parcimônia dos dados morfológicos. Os números presentes nos ramos correspondem aos valores de suporte de Bremer obtidos na análise.

4.3. Análise Filogenética com Dados Moleculares

Uma filogenia de consenso (Figura 21) foi obtida a partir de um conjunto de filogenias resultantes da análise de dados moleculares para as espécies incluídas em *Saguinus*, além de três espécies do grupo externo. Grupos reconhecidos de espécies, incluindo o grupo *S. mystax*, foram recuperados com altos valores de probabilidade posterior ($pp > 0.95$).

S. inustus aparece como integrante do grupo *S. mystax* com valor de probabilidade posterior igual a 1. O mesmo acontece para o clado formado por *S. inustus*, *S. mystax* e *S. labiatus*, com *S. imperator* sendo a espécie mais distantemente relacionada dentro do grupo. Na sequência, *S. inustus* aparece como grupo externo ao clado formado pelas espécies *S. labiatus* e *S. mystax*, sendo que o valor de suporte encontrado para esse clado é de 0.67, não sendo esta relação, portanto, bem suportada.

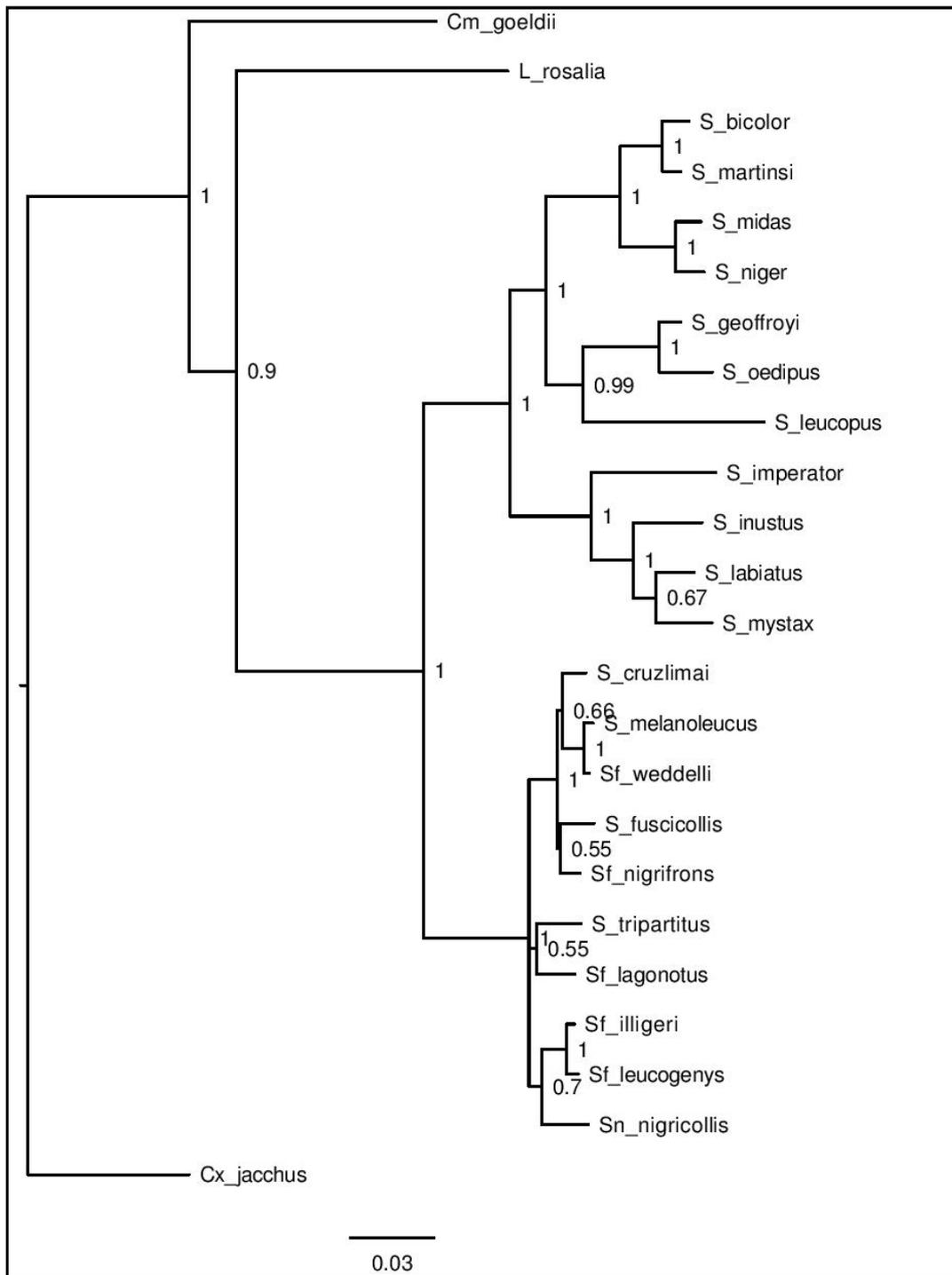


Figura 21. Consenso das árvores baseadas em dados moleculares obtida através de inferência bayesiana. Os números mostrados na figura representam os valores de probabilidade posterior.

4.4. Análise Filogenética com Dados Concatenados

Não houve diferença entre a topologia obtida através da análise com dados concatenados (Figura 22) e aquela obtida com dados moleculares. Em ambas, *S. labiatus* e *S. mystax* aparecem formando um clado, com *S. inustus* e *S. imperator* mais distantemente relacionados, respectivamente. Porém, os valores de probabilidade posterior diferiram entre as análises: para o clado formado por *S. labiatus* e *S. mystax*, o valor subiu de 0.67 para 0.97, enquanto que a posição de *S. inustus* como grupo irmão desse clado teve diminuição de probabilidade posterior de 1 para 0.57.

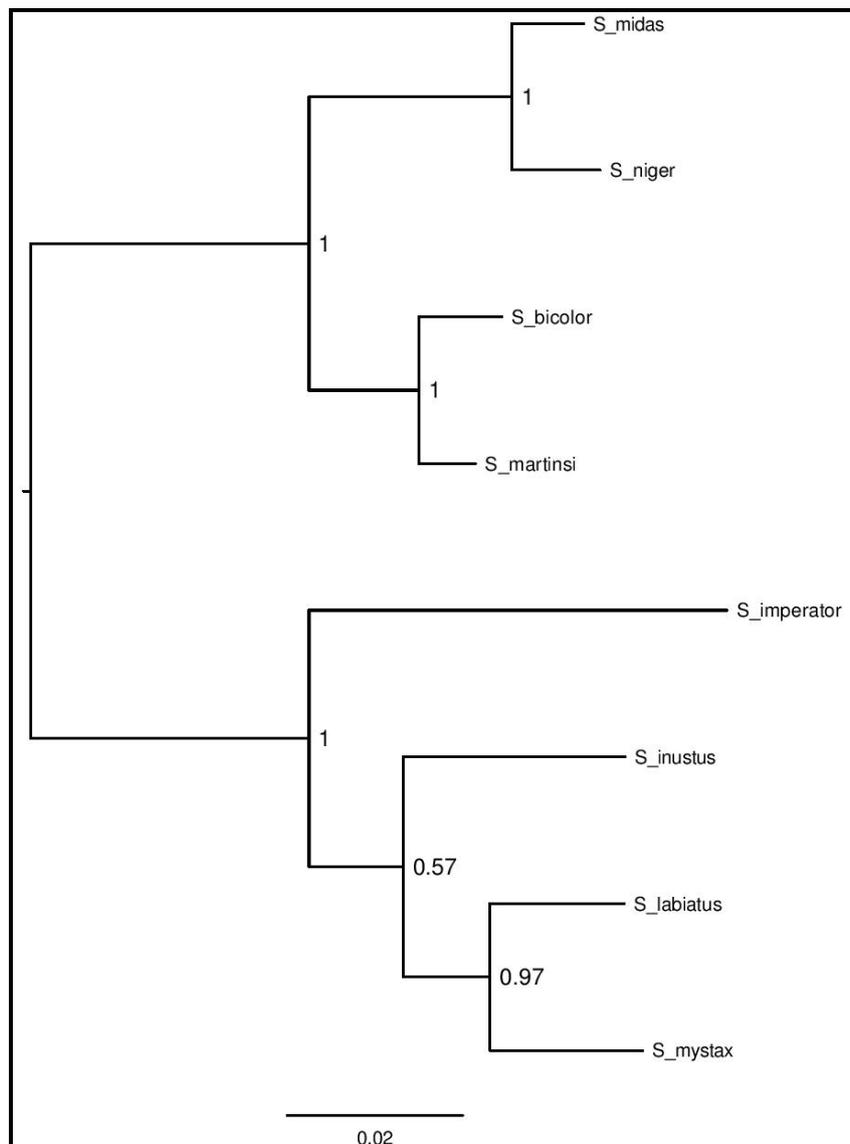


Figura 22. Consenso das árvores obtidas através da análise bayesiana com dados concatenados. Os números mostrados na figura representam os valores de probabilidade posterior.

4.5. Datação Molecular

A datação molecular (Figura 23 e Tabela 4) recuperou a origem de Callitrichidae no intervalo entre 13 a 26 milhões de anos atrás, *Saguinus* no intervalo entre 3 a 17 milhões de anos e o grupo *S. mystax* foi recuperado com data de diversificação situada no intervalo entre 6 a 12 milhões de anos. A primeira divergência dentro do grupo teria sido a de *S. imperator* do restante do grupo (3 a 9 ma.a.), seguido da diversificação de *S. inustus*, situada no intervalo entre 1,8 a 6,8 m.a., e em seguida *S. labiatus* e *S. mystax* (0,7 a 4,7 m.a.).

Uma filogenia contendo os intervalos de tempo recuperados para a diversificação das linhagens consta no Apêndice III.

Tabela 4. Tempos de divergência para os clados em Callitrichidae.

Clado	Divergência (M.A.)
Callitrichidae x Platyrrhini	13 – 26
<i>Saguinus</i> x Callitrichidae	13 – 17
Grupo <i>S.mystax</i> x <i>Saguinus</i>	6 – 12
<i>S. imperator</i> x Grupo <i>S. mystax</i>	3 – 9
<i>S. inustus</i> x <i>S. labiatus</i> + <i>S. mystax</i>	1,8 – 6,8

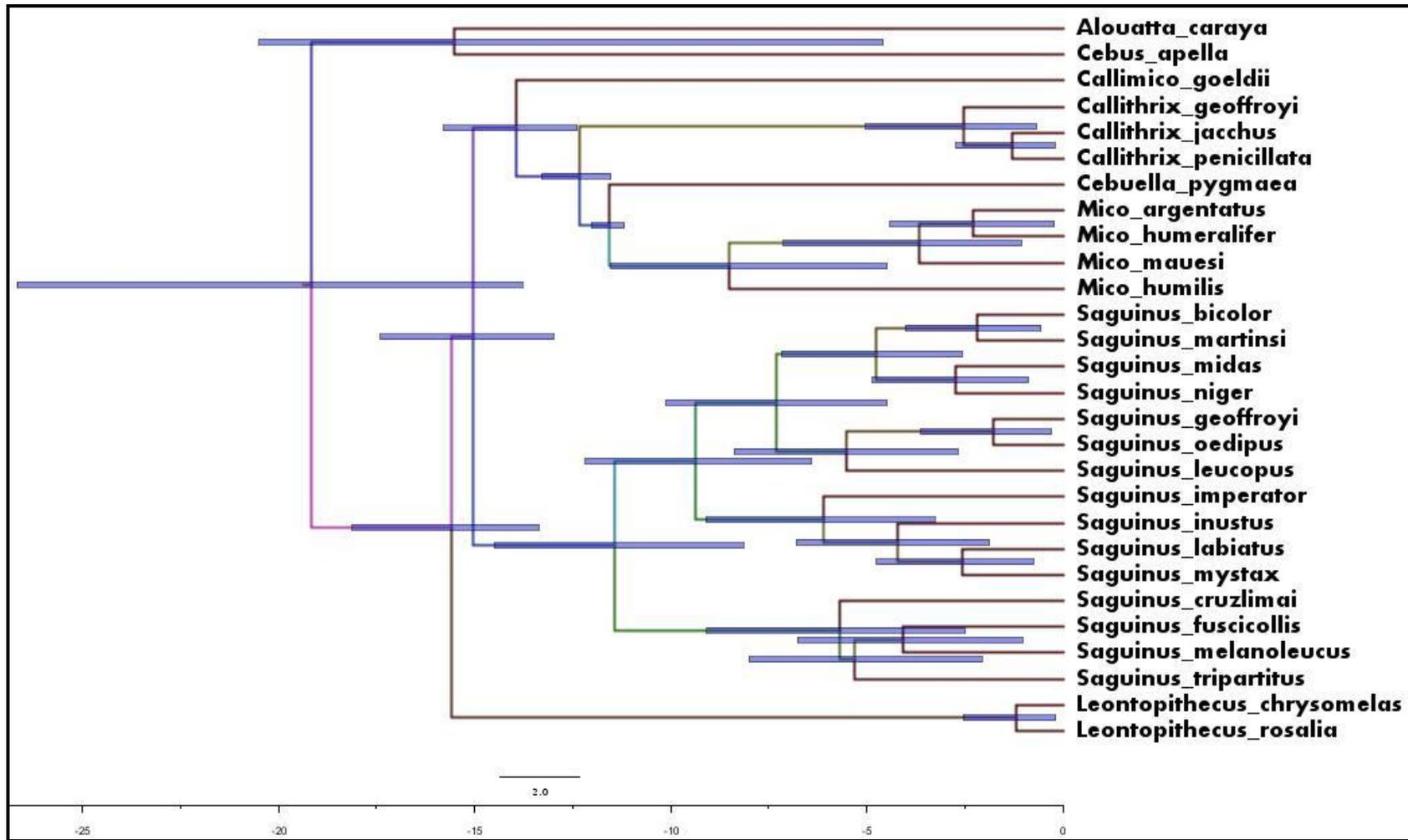


Figura 23. Filogenia contendo os intervalos dos períodos de diversificação das linhagens relativas aos espécimes analisados.

4.6. Análise Biogeográfica

Dos seis modelos utilizados para a realização das análises biogeográficas (DIVA, DIVAj, DEC, DECj, BayArea e BayAreaj), o modelo DIVAj produziu o melhor ajuste estatístico para os dados, relacionado ao menor valor de AICc.

Os resultados das análises biogeográficas estatísticas (Figura 24) apontam para uma área ancestral de *Saguinus* localizada no oeste Amazônico (área A, referente à atual distribuição do grupo *S. nigricollis*, abaixo do Rio Japurá). Essa área também é postulada como sendo a área ancestral do grupo *S. nigricollis*. O ancestral dos grupos *S. oedipus* e *S. midas* teria se dispersado da região ancestral de *Saguinus* (A) para a região a leste do Rio Branco e ao norte do Amazonas (C) onde hoje ocorrem as espécies *S. midas* e *S. bicolor*. A partir da região C o ancestral do grupo *S. oedipus* teria ocupado a região a oeste dos Andes (E), local de distribuição atual do grupo.

O ancestral do grupo *S. mystax* teria permanecido na área ancestral de *Saguinus* (A), região onde houve toda a diversificação do grupo, com exceção de *S. inustus*, que se dispersou para a parte norte do Rio Amazonas, possibilitando a ocupação dessa área (B) por essa espécie.

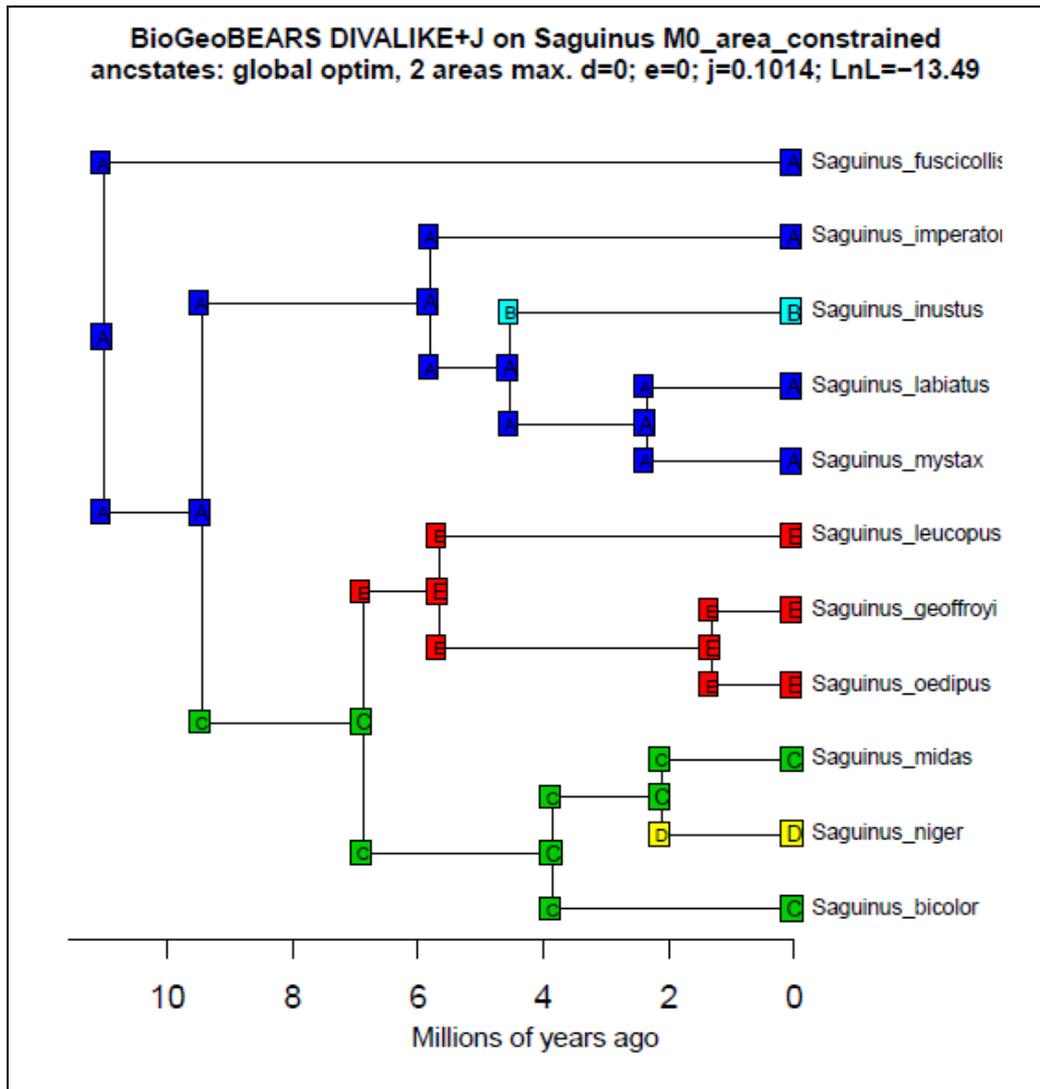


Figura 24. Resultados das análises biogeográficas estatísticas obtidas pelo método DIVALIKE + J.

4.7. Teste da Hipótese de Diversificação de Hershkovitz (1977)

Uma nova codificação do caráter 10 foi realizada com base na hipótese de Hershkovitz (1977), como forma de reproduzir a sua codificação, atribuindo os seguintes estados: ausência de pelagem branca na face (0), pelagem branca na região circumbucal (1), pelagem branca nas regiões circumbucal e nasal (2) e presença de bigode (3).

MATRIZ DO CARÁTER DE HERSHKOVITZ (1977)	
<i>S. imperator</i>	3
<i>S. mystax</i>	2
<i>S. labiatus</i>	1
<i>S. inustus</i>	0
<i>S. midas</i>	0
<i>S. niger</i>	0
<i>S. bicolor</i>	0

Na topologia utilizada (obtida nas análises filogenéticas com dados moleculares e concatenados), a otimização mais parcimoniosa (Figura 25) indica o caráter “branqueamento da pelagem facial” ausente no ancestral do grupo *S. mystax* e surgindo independentemente no ancestral de *S. mystax* e *S. labiatus* e em *S. imperator*, além de indicar ausência de pelagem branca facial no estado ancestral. Por parcimônia, a hipótese de Hershkovitz (1977) não se sustenta com base na topologia obtida por dados concatenados.

A análise de máxima verossimilhança indicou maior probabilidade de ausência de pelagem facial branca no estado ancestral (estado “0”), seguida da probabilidade de um estado ancestral equivalente a *S. imperator* (estado “3”): presença de pelagem branca facial e bigode. Esses resultados não a hipótese de Hershkovitz (1977), que postulou um estado ancestral com presença de pelagem branca facial e ausência de bigode.

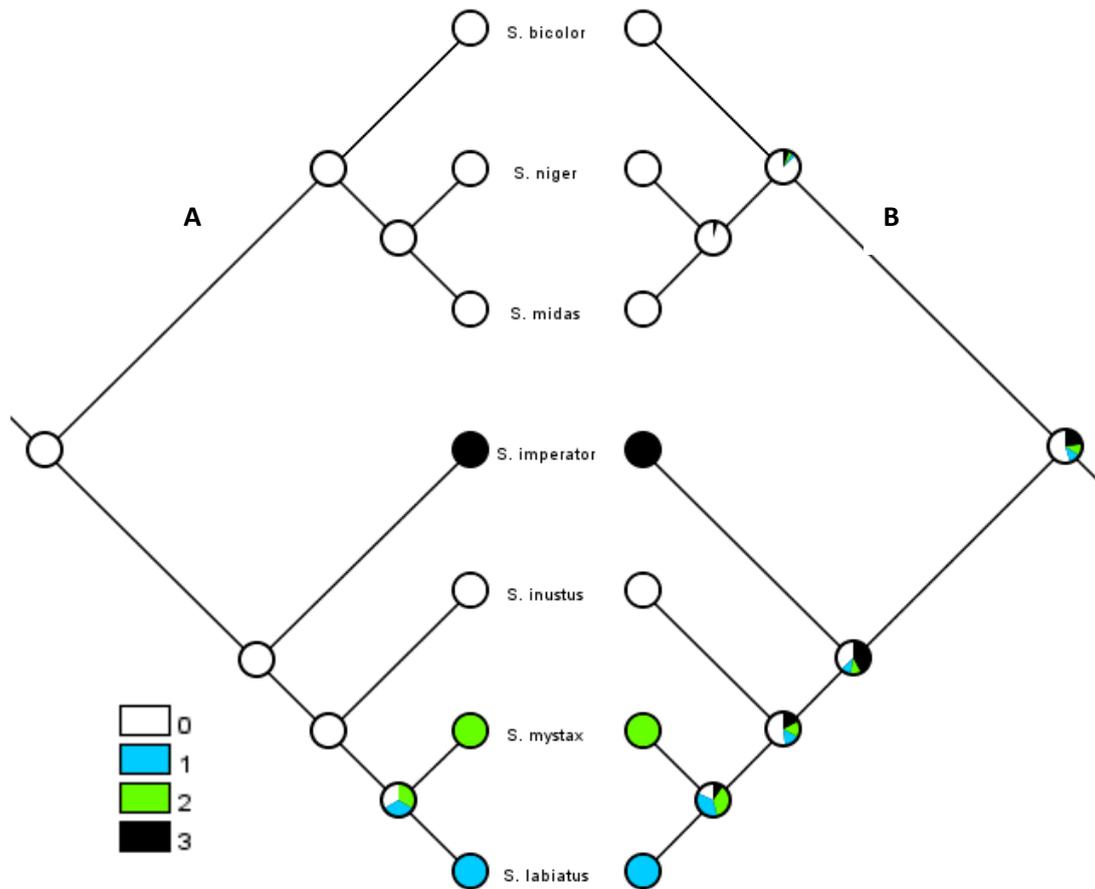


Figura 25. A: Otimização por parcimônia obtida para o caráter de branqueamento dos pelos faciais; B: Otimização por máxima verossimilhança obtida para o caráter de branqueamento dos pelos faciais.

5. Discussão

Os resultados obtidos pela filogenia com dados morfológicos apresentaram sinapomorfias e autapomorfias que merecem destaque: i) apesar da baixa amostragem desta espécie neste estudo, devido ao baixo número de exemplares presentes em instituições brasileiras, as cinco autapomorfias encontradas para a espécie *S. inustus* são relacionadas à morfologia craniana. *S. inustus* apresenta um osso nasal visivelmente mais largo e robusto quando comparado a todas as outras espécies analisadas, além de um formato craniano mais afilado, com a parte superior do crânio (osso frontal) mais baixa, refletindo um achatamento no sentido antero-posterior, bem como diferenças nas posições das suturas coronais em relação às linhas temporais e diferenciação dos ângulos frontais (nasal e maxilar), o que pode ser nitidamente visualizado em vista lateral. Estes resultados suportam a singularidade de *S. inustus* quando comparado com outras espécies do grupo *S. mystax*, o que levou, no passado, à sua exclusão desse grupo e designação a um grupo próprio (Hershkovitz, 1977); ii) a autapomorfia descrita por Natori (1988) para a espécie *S. mystax*, relacionada à morfologia dentária (grau de desenvolvimento da crista que corre a partir do metástilo), foi confirmada neste estudo como um caráter derivado dentro do grupo *S. mystax*; iii) a invariabilidade da posição das suturas zigomaticomaxilares superior e inferior indica que, a despeito de Natori (1988) ter encontrado diferenciação para o grupo *S. oedipus* em relação às outras espécies de *Saguinus*, este não é um caráter que possibilite a diferenciação entre as espécies do grupo *S. mystax*, bem como dessas com relação aos grupos *S. midas* e *S. bicolor*.

Também merecem destaque as sinapomorfias encontradas para o clado formado por *S. imperator*, *S. mystax* e *S. labiatus* e para o grupo *S. mystax* incluindo *S. inustus*: i) das quatro sinapomorfias encontradas para o clado formado pelas três primeiras espécies, três se referem à morfologia dentária e foram definidas por Natori (1988) e Nogami e Natori (1986), refletindo algum grau de diferenciação da morfologia dentária entre o grupo *S. mystax* e demais grupos de *Saguinus*, tanto no âmbito micro quanto macroestrutural; ii) três caracteres de morfologia dentária também fornecem suporte para a inclusão de *S. inustus* no grupo *S. mystax*, além de um caráter relacionado à posição do forame do sino petrosal, que não se apresenta coalescido ao forame jugular

nessas espécies, ao contrário do observado para as espécies do grupo externo utilizadas nesta análise.

As sinapomorfias encontradas para o monofiletismo do grupo *S. mystax* e *S. inustus* ilustram a relevância das análises morfológicas deste trabalho, já que até então a inclusão de *S. inustus* no grupo só era suportada por análises moleculares (e.g. Buckner, 2015). Usando a pelagem e caracteres biogeográficos, Hershkovitz (1977) havia designado *S. inustus* a um grupo à parte. Porém, neste trabalho, a inclusão de *S. inustus* no grupo *S. mystax* é suportada não apenas pelas análises moleculares como também pelas sinapomorfias morfológicas.

Apesar do suporte morfológico encontrado para a inclusão de *S. inustus* no grupo *S. mystax*, a topologia interna do grupo obtida aqui difere das topologias obtidas em trabalhos anteriores. Os resultados das análises incluindo dados moleculares indicam que internamente, *S. imperator* ocupa a posição de grupo irmão em relação às outras três espécies, seguido de *S. inustus*, *S. mystax* e *S. labiatus*, respectivamente. Essa topologia difere da topologia obtida em trabalhos anteriores, como em Buckner *et al.* (2015), onde uma filogenia obtida através da utilização de dez marcadores moleculares resultou em uma topologia em que *S. inustus* aparece mais proximamente relacionado a *S. mystax*, seguidos de *S. labiatus* e *S. imperator*, respectivamente. A filogenia morfológica também difere da topologia com dados moleculares, com destaque para a posição de *S. inustus*, que na filogenia morfológica ocupa a posição de grupo irmão do grupo *S. mystax* (refletindo sua singularidade morfológica) e nas filogenias com dados moleculares aparece como grupo irmão do clado formado por *S. labiatus* e *S. mystax*, com *S. imperator* situado mais externamente a todo o grupo.

A inclusão dos caracteres morfológicos gerou uma diminuição do valor de probabilidade posterior para o clado formado por *S. inustus*, *S. labiatus* e *S. mystax* e um aumento desse suporte para o clado formado entre *S. labiatus* e *S. mystax*, mas não houve alteração da topologia pela incorporação dos caracteres morfológicos na matriz de dados. A diminuição do valor de suporte para o clado formado por *S. inustus*, *S. labiatus* e *S. mystax* pode ter ocorrido pelo fato de os caracteres morfológicos isolados não serem suficientes para resolver as relações internas do grupo *S. mystax*. Essa diminuição também pode ser atribuída à discordância entre as topologias obtidas nas

análises morfológicas e moleculares. A singularidade morfológica de *S. inustus* também pode ter contribuído para a diminuição dos valores de probabilidade posterior. Por outro lado, caracteres morfológicos parecem refletir a proximidade entre *S. labiatus* e *S. mystax*.

HersHKovitz (1977) utilizou o caráter de pelagem facial para propor a hipótese de dispersão do grupo *S. mystax* e propunha que o branqueamento da pelagem facial constituía uma sinapomorfia do grupo, afirmando que esse branqueamento já estaria presente no estoque ancestral. A divergência dos membros do grupo *S. mystax* a partir da linhagem do grupo *S. nigricollis* teria ocorrido, portanto, através da intensificação da despigmentação da região circumbucal. A continuação da despigmentação e áreas adiante da boca e nariz, com concomitante aumento e branqueamento dos bigodes, teria marcado a tendência evolutiva que culminou com o aspecto observado em *S. imperator*. *S. labiatus* seria então menos diferenciado e *S. mystax* intermediário, nessa linhagem. Para que a hipótese de HersHKovitz (1977) fosse validada, seria esperado que a otimização resultasse numa série morfológica contínua. Nossos dados sugerem, entretanto, que a inclusão de *S. inustus* impõe dificuldades a essa hipótese. Tanto a análise por parcimônia quanto a realizada por máxima verossimilhança geram otimizações nas quais o branqueamento teria surgido pelo menos duas vezes de forma independente: uma em *S. imperator*, que é na verdade, a diversificação basal dentro do grupo, e outra no ancestral de *S. mystax* e *S. labiatus*.

As relações filogenéticas propostas por HersHKovitz (1977), com *S. mystax* e *S. imperator* formando um clado e *S. labiatus* sendo mais basal, também não são apoiadas pelas filogenias encontradas aqui, de modo que a gradação do branqueamento da pelagem facial não constitui base adequada para a proposição de hipótese evolutiva para explicar a diversificação dessas espécies. Portanto, a proposta de dispersão e evolução de HersHKovitz (1977) para o grupo *S. mystax* não é sustentada pelos nossos resultados.

5.1. História biogeográfica do grupo *S. mystax*

Os registros sedimentológicos da Amazônia indicam uma grande área localizada a oeste de Manaus que sofreu várias fases de subsidência (afundamento abrupto ou gradativo da superfície da terra, com pouco ou nenhum movimento horizontal) e estabilidade desde o Mioceno inicial e médio. O leste de Manaus, por outro lado, teria

mostrado escassa deposição, representada por ocorrências irregulares de depósitos fluviais do Mioceno conhecidos como Formação Barreiras, indicando que a direção do fluxo fluvial nesse período era em direção a oeste, diferente do que observamos hoje na bacia hidrográfica amazônica (Wesselingh et al., 2001; Wesselingh, 2006; Wesselingh e Salo, 2006).

A maioria dos autores (e.g. Wesselingh et al., 2001; Hoorn et al., 2010) concorda que a drenagem Amazônica era direcionada para o oeste (Pacífico) e para o norte no passado e que o soerguimento dos Andes alterou esse cenário a partir do Mioceno, formando inicialmente o Lago Pebas e posteriormente invertendo a drenagem da Bacia para leste. O Sistema Pebas foi um enorme sistema (mais de 1 milhão de quilômetros quadrados) de lagos e áreas alagadas que ocuparam a maior parte do oeste amazônico entre 23 e 9 milhões de anos atrás (Wesselingh e Salo, 2006). Esse sistema de lagos teria terminado logo antes do estabelecimento do sistema amazônico moderno (8 milhões de anos), possivelmente coincidindo com uma única incursão marinha de alto alcance na planície amazônica (Wesselingh e Salo, 2006).

Os resultados das análises biogeográficas estatísticas feitas aqui apontam para uma área ancestral de *Saguinus* localizada no oeste Amazônico (área A, referente à atual distribuição do grupo *S. nigricollis*, abaixo do Rio Japurá), onde esse ancestral (8 – 14 m.a.) estaria limitado geograficamente a oeste pelo sistema de lagos até então existente.

Com o fim do sistema Pebas é possível que tenha ocorrido a ampliação da distribuição (em sentido leste) do gênero *Saguinus*, culminando inicialmente com a diferenciação entre o grupo *S. nigricollis* e os demais grupos. Enquanto o grupo *S. nigricollis* teria se diversificado na região oeste da Amazônia, região ocupada pelo ancestral de *Saguinus*, o ancestral dos grupos *S. oedipus*, *S. midas* e *S. bicolor* deve ter ocupado a região a leste do Rio Branco e ao norte do Amazonas (4,5 - 10 m.a.), onde hoje ocorre a distribuição dos grupos *S. midas* e *S. bicolor*. O ancestral do grupo *S. oedipus*, no entanto, teria dispersado para a região noroeste da Amazônia para alcançar o oeste dos Andes.

A área de ocupação do ancestral do grupo *S. mystax* (3 – 9 m.a.) também é postulada como sendo o oeste amazônico (área A). A ocupação dessa área por esse

ancestral deve ter sido possibilitada pelo fim do Sistema Pebas do Mioceno, e possibilitou inicialmente o surgimento da linhagem que daria origem à *S. imperator*.

Nossas análises sugerem que, após a ocupação da área drenada pelo fim do Sistema Pebas, um ancestral de *S. inustus* teria ocupado a região ao norte do Rio Amazonas, dando origem à atual distribuição dessa espécie e que essa ocupação teria ocorrido por dispersão. A linhagem que daria origem a *S. inustus*, portanto, deve ter se isolado ao norte do Rio Japurá, o que possibilitou o surgimento de suas autapomorfias morfológicas.

Após a diversificação de *S. inustus* ao norte e de *S. imperator* na área logo a oeste da área ancestral, a diversificação do restante do grupo *S. mystax* teria ocorrido a partir da região ancestral em direção ao leste amazônico por dispersão, pela ocupação da região de interflúvio entre os rios Madeira e Amazonas, dando origem às linhagens de *S. mystax* e *S. labiatus*, respectivamente (0,7 – 4,7 m.a.).

A diversificação do grupo *S. mystax*, portanto, teria sido possibilitada pelas drásticas mudanças ocorridas na paisagem amazônica a partir do início do Mioceno tardio, derivadas dos fenômenos geológicos daquele período. Em um curto intervalo de tempo, paisagens fluviais alimentadas pela edificação do interior dos Andes para oeste substituíram as antigas áreas alagadas do Pebas e o curso moderno para leste do Amazonas veio a ser estabelecido. Entre 8 e 2.6 milhões de anos atrás a paisagem foi dominada por sistemas fluviais, que hoje são conhecidos por delimitar as espécies de *Saguinus*.

Adicionalmente, são de particular importância para a compreensão da diversificação do grupo *S. mystax* os fenômenos que levaram à elevação do “Vaupés Swell” do Mioceno tardio e Plioceno e a elevação mais jovem dos Arcos Fitzcarrald (Wesselingh et al., 2001; Wesselingh, 2006; Wesselingh e Salo, 2006), rápidas deformações ao longo das faixas sub-andinas que possibilitaram a origem de uma rede de drenagem ainda mais difundida nas cabeceiras dos Andes e que geraram a atual conformação dos rios Ucaiali, Juruá, Purus e Madeira. Tais rios hoje coincidem com os limites das distribuições de grupos de *Saguinus* e, portanto, tais fenômenos geológicos devem ter tido papel fundamental na distribuição e diversificação dessas espécies, pelo isolamento das diferentes populações.

6. Conclusões

Nossas análises estabeleceram uma topologia bem suportada para as relações filogenéticas do grupo *S. mystax*, o que ilustra a importância da utilização de múltiplas fontes de caracteres, bem como de uma grande amostragem de dados moleculares, para proposição de hipóteses filogenéticas que sirvam de base para a compreensão da evolução e do histórico de dispersão de grupos de primatas. Os resultados demonstram que a espécie *S. imperator* é o resultado da evolução de uma linhagem basal em relação ao restante do grupo *S. mystax*, seguida da diversificação de *S. inustus*, *S. mystax* e *S. labiatus*, respectivamente.

Apesar de ficar demonstrada a singularidade morfológica de *S. inustus* por meio das autapomorfias encontradas, nossas análises obtiveram sucesso em encontrar quatro sinapomorfias morfológicas que dão suporte à inclusão dessa espécie no grupo *S. mystax*, ilustrando a relevância das análises morfológicas deste trabalho, já que até então a inclusão de *S. inustus* no grupo só era suportada por análises moleculares (e.g. Buckner, 2015).

Nossos dados também sugerem que a proposta de evolução e diversificação de Hershkovitz (1977) para o grupo *S. mystax* não é sustentada quando utilizamos hipóteses filogenéticas atualizadas, baseadas em múltiplas fontes de informação. As relações filogenéticas propostas por Hershkovitz (1977), com *S. mystax* e *S. imperator* formando um clado e *S. labiatus* sendo uma linhagem externa a esse clado, também não são apoiadas pelas filogenias resultantes aqui, de modo que a gradação do branqueamento da pelagem facial não constitui base suficiente para a proposição de hipótese evolutiva que elucide a diversificação dessas espécies.

Os resultados das análises biogeográficas sugerem que a diversificação do gênero *Saguinus* teria sido possibilitada pelas drásticas mudanças ocorridas na paisagem amazônica a partir do início do Mioceno tardio, derivadas dos fenômenos geológicos daquele período. A substituição das áreas alagadas do sistema Pebas por áreas habitáveis bem como a edificação do curso moderno da bacia Amazônica teriam sido cruciais para a ocorrência da distribuição apresentada hoje pelas espécies de *Saguinus*, inicialmente pela diferenciação entre o grupo *S. nigricollis* (no sentido do oeste amazônico, região postulada como área de ocupação ancestral do gênero) e os demais grupos de *Saguinus*,

depois com a ocupação da região a leste do Rio Branco e ao norte do Amazonas (4,5 - 10 Ma) pelo ancestral dos grupos *S. oedipus*, *S. midas* e *S. bicolor* e subsequentemente com o ancestral do grupo *S. oedipus* se dispersando para a região noroeste da Amazônia para alcançar o oeste dos Andes. As análises apontam para uma área ancestral de *Saguinus* localizada no oeste Amazônico (referente à atual distribuição do grupo *S. nigricollis*, abaixo do Rio Japurá), onde esse ancestral (8 – 14 m.a.) estaria limitado geograficamente a oeste pelo sistema de lagos até então existente.

A área de ocupação do ancestral do grupo *S. mystax* (3 – 9 m.a.) também é postulada como sendo o oeste amazônico. A ocupação dessa área por esse ancestral deve ter sido possibilitada pelo fim do Sistema Pebas do Mioceno, e possibilitou inicialmente o surgimento da linhagem que daria origem à *S. imperator*.

Nossas análises sugerem que, após a ocupação da área drenada pelo fim do Sistema Pebas, um ancestral de *S. inustus* teria ocupado a região ao norte do Rio Amazonas por dispersão, dando origem à atual distribuição dessa espécie. A linhagem que daria origem a *S. inustus*, portanto, deve ter se isolado ao norte do Rio Japurá, o que possibilitou o surgimento de suas autapomorfias morfológicas.

Após a diversificação de *S. inustus* ao norte e de *S. imperator* na área logo a oeste da área ancestral, a diversificação do restante do grupo *S. mystax* teria ocorrido a partir da região ancestral em direção ao leste amazônico por dispersão, pela ocupação da região de interflúvio entre os rios Madeira e Amazonas, dando origem às linhagens de *S. mystax* e *S. labiatus*, respectivamente (0,7 – 4,7 m.a.).

7. Referências

- Aleixo A (2004) Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58:1303–1317.
- Ayres JM, Clutton-Brock TH (1992) River boundaries and species range size in Amazonian primates. *Am Nat* 140:531–537.
- Bonvicino CR, Weksler M (2012) Speciation in Amazonia: patterns and predictions of a network of hypotheses. *Bones Clones Biomes Hist Geogr Recent Neotropical Mamm* 259–282.
- Boubli JP, Ribas C, Alfaro JW, et al (2015) Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: A test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. *Mol Phylogenet Evol* 82:400–412.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, et al (2014) BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol* 10:e1003537.
- Bremer K (1988) The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 795–803.
- Bremer K, others (1994) Branch support and tree stability. *Cladistics* 10:295–304.
- Buckner JC, Alfaro JW, Rylands AB, Alfaro ME (2015) Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). *Mol Phylogenet Evol* 82:413–425.
- Bush MB (1994) Amazonian speciation: a necessarily complex model. *J Biogeogr* 5–17.
- Casado F, Bonvicino CR, Seuánez HN (2007) Phylogeographic analyses of *Callicebus lugens* (Platyrrhini, primates). *J Hered* 98:88–92.
- Castresana J (2000) Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol Biol Evol* 17:540–552.
- Cropp SJ, Larson A, Cheverud JM (1999) Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. *Am J Phys Anthropol* 108:65–89.
- Garbino GS (2015) How many marmoset (Primates: Cebidae: Callitrichinae) genera are there? A phylogenetic analysis based on multiple morphological systems. *Cladistics* 31:652–678.
- Gascon C, Malcolm JR, Patton JL, et al (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proc Natl Acad Sci* 97:13672–13677.
- Goloboff PA, Farris JS, Nixon KC (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24:774–786.

- Groves CP (2001) Primate taxonomy.
- Haffer J (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165:131–137.
- Haffer J rgen (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodivers Conserv* 6:451–476.
- Hershkovitz P (1977) Living new world monkeys (Platyrrhini). University of Chicago Press
- Hershkovitz P (1979) Races of the emperor tamarin, *Saguinus imperator* Goeldi (Callitrichidae, Primates). *Primates* 20:277–287.
- Hill WO (1957) Primates: comparative anatomy and taxonomy; a monograph. 3. Pithecoidea: Platyrrhini;(Families Hapalidae and Callimicoidea). University Press
- Hoorn C, Wesselingh FP, Ter Steege H, et al (2010) Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *science* 330:927–931.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F, others (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754–755.
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-3. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 07 December 2016.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res* 30:3059–3066.
- Kay RF, Williams BA (1994) Dental evidence for anthropoid origins. In: Anthropoid origins. Springer, pp 361–445
- Kück P, Meusemann K (2010) FASconCAT: Convenient handling of data matrices. *Mol Phylogenet Evol* 56:1115–1118.
- Landis MJ, Matzke NJ, Moore BR, Huelsenbeck JP (2013) Bayesian analysis of biogeography when the number of areas is large. *Syst Biol* syt040.
- Lanfear R, Calcott B, Ho SY, Guindon S (2012) PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Mol Biol Evol* 29:1695–1701.
- Larsson A (2014) AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* 30:3276–3278.
- Lewis PO (2001) A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Syst Biol* 50:913–925.

- Madden RH, Guerrero J, Kay RF, et al (1997) Vertebrate Paleontology in the Neotropics: The Miocene Fauna of La Venta, Colombia.
- Maddison WP, Maddison DR (2001) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis.
- Marivaux L, Adnet S, Altamirano-Sierra AJ, et al (2016) Neotropics provide insights into the emergence of New World monkeys: New dental evidence from the late Oligocene of Peruvian Amazonia. *J Hum Evol* 97:159–175.
- Matzke NJ (2012) Founder-event speciation in BioGeoBEARS package dramatically improves likelihoods and alters parameter inference in Dispersal-Extinction-Cladogenesis (DEC) analyses. *Front Biogeogr* 4:210.
- Meldrum DJ, Kay RF (1997) Primate postcranial fossils from the Miocene of Colombia. *Vertebr Paleontol Neotropics Miocene Fauna Venta Columbia* 459–472.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu Rev Ecol Syst* 31:533–563.
- Napier JR (1959) The problem of brachiation among the primates, with special reference to Proconsul.
- Natori M (1988) A cladistic analysis of interspecific relationships of *Saguinus*. *Primates* 29:263–276.
- Natori M (1986) Interspecific relationships of *Callithrix* based on the dental characters. *Primates* 27:321–336.
- Nixon KC, Wheeler QD (1992) Measures of phylogenetic diversity. *Extinction Phylogeny* 216–234.
- Nogami Y, Natori M (1986) Fine structure of the dental enamel in the family Callitrichidae (Ceboidea, Primates). *Primates* 27:245–258.
- Page RD (2001) TreeView.
- Peres CA, Patton JL, da Silva NF, others (1996) Riverine barriers and gene flow in Amazonian saddle-back tamarins. *Folia Primatol (Basel)* 67:113–124.
- Pinna MC (1991) Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7:367–394.
- Poux C, Chevret P, Huchon D, et al (2006) Arrival and diversification of caviomorph rodents and platyrrhine primates in South America. *Syst Biol* 55:228–244.
- Rambaut A, Suchard M, Xie D, Drummond A (2014) Tracer v1. 6 <http://beast.bio.ed.ac.uk>.
- Ree RH, Smith SA (2008) Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. *Syst Biol* 57:4–14.

- Rosenberger AL (1980) Gradistic views and adaptive radiation of platyrrhine primates. *Z Für Morphol Anthropol* 157–163.
- Rylands AB, Heymann EW, Lynch Alfaro J, et al (2016a) Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zool J Linn Soc* 177:1003–1028.
- Rylands AB, Heymann EW, Lynch Alfaro J, et al (2016b) Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zool J Linn Soc* 177:1003–1028.
- Rylands AB, Mittermeier RA (2009) The diversity of the New World primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy. In: *South American primates*. Springer, pp 23–54
- Rylands AB, Mittermeier RA, Silva JS (2012) Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. *Int Zoo Yearb* 46:11–24.
- Schneider H, Rosenberger AL (1996) Molecules, morphology, and platyrrhine systematics. In: *Adaptive radiations of Neotropical primates*. Springer, pp 3–19
- Setoguchi T, Rosenberger AL (1985) Miocene marmosets: First fossil evidence. *Int J Primatol* 6:615–625.
- Springer MS, Meredith RW, Gatesy J, et al (2012) *Macroevolutionary Dynamics and Historical Biogeography of Primate*.
- Stamatakis A, Aberer AJ, Goll C, et al (2012) RAXML-Light: a tool for computing terabyte phylogenies. *Bioinformatics* 28:2064–2066.
- Wesselingh FP (2006) Molluscs from the Miocene Pebas Formation of Peruvian and Colombian Amazonia.
- Wesselingh FP, Räsänen ME, Irion G, et al (2001) Lake Pebas: a palaeoecological reconstruction of a Miocene, long-lived lake complex in western Amazonia. *Cainozoic Res* 1:35–68.
- Wesselingh FP, Salo JA (2006) A Miocene perspective on the evolution of the Amazonian biota. *Scr Geol* 133:439–458.
- Yu Y, Harris AJ, He X (2010) S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): a tool for inferring biogeographic histories. *Mol Phylogenet Evol* 56:848–850.

APÊNDICE I – Lista de Espécimes Analisados

Saguinus imperator imperator (N=3): MZUSP: 11238, 11239, 11340;

Saguinus imperator subgrisescens (N=25): MZUSP: 4806, 4864, 4923, 4925, 4931, 5012, 5017, 9967; MPEG: 264, 735, 1915, 1916, 7099, 7100, 21846, 21847, 21848, 21849, 22002, 22963, 22964, 22965, 23202; MN: 5929, 5930;

Saguinus labiatus labiatus (N=11): MZUSP: 7315, 7316, 7317, 7318, 7319, 7320, 7322; MPEG: 22002; MN: 408, 2841, 2842;

Saguinus labiatus thomasi (N=2): MPEG: 19702, 19703;

Saguinus mystax pileatus (N=9): MZUSP: 11372, 11377, 19018; MPEG: 305, 307, 21850, 21851, 21852; MN: 25013;

Saguinus mystax mystax (N=24): MZUSP: 4920; MPEG: 737, 747, 7081, 1088, 1556, 1593, 1594, 1595, 1822, 1823, 15270, 22947, 22948, 22949; MN: 2860, 2862, 5935, 5936, 5938, 5941, 5943, 24789.

Saguinus inustus (N=2): MPEG: 8789, 21840

Saguinus midas (N=17): MPEG: 350, 351, 353, 355, 1959, 2411, 3541, 6871, 6872, 6876, 8483, 15269, 21428, 21429, 21812, 22053; UFMG: 3123;

Saguinus niger (N=21): MPEG: 37, 138, 145, 146, 359, 362, 1045, 1072, 1592, 1746, 1747, 2321, 2322, 2414, 2415, 1745, 8771, 8788, 9043, 12202, 15269;

Saguinus bicolor (N=18): MPEG: 947, 1450, 1642, 1650, 1660, 1670, 1702, 1770, 1771, 7069, 7071, 7072, 7073, 7075, 7077, 7078, 7079, 12600; UFMG: 3121.

Saguinus martinsi (N=2): MPEG: 1244; MN: 2844.

APÊNDICE II – Lista dos marcadores moleculares com os respectivos números de acesso do GenBank

ESPÉCIES	16 RNA	ABCA 1	ADORA 3	AFF2	AFF22	Alu1BF3	Alu1D132
<i>S. martinsi</i>		HM765402.1			HM764839.1		
<i>S. midas</i>	EU497273.1	HM765397.1		HM765049.1		JF489227.1	JF489181.1
	EU497272.1	HM765396.1				JF489226.1	JF489180.1
<i>S. niger</i>	EU497268.1					JF489229.1	JF489183.1
	EU497267.1					JF489228.1	JF489182.1
<i>S. imperator</i>	EU497288.1	HM765394.1		HM765046.1	HM764837.1	JF489221.1	JF489175.1
	EU497287.1					JF489220.1	JF489174.1
<i>S. mystax</i>	EU497295.1		HM765202.1	HM765050.1	HM764840.1	JF489231.1	JF489185.1
	EU497294.1	HM765398.1				JF489230.1	JF489184.1
<i>S. inustus</i>						JF489222.1	JF489177.1
						JF489223.1	JF489176.1
<i>S. labiatus</i>	EU497289.1	HM765395.1	HM765199.1	HM765047.1	HM764838.1		AY620641.1
<i>S. bicolor</i>	EU497280.1	HM765388.1	HM765196.1	HM765039.1	HM764834.1	JF489225.1	JF489179.1
	EU497279.1					JF489217.1	JF489171.1
<i>S. fuscicollis</i>	EU497285.1	HM765391.1	HM765197.1	HM765043.1	HM764835.1	JF489219.1	JF489173.1
	EU497284.1					JF489218.1	JF489172.1
<i>S. nigricollis</i>							
<i>S. leucopus</i>	EU497286.1					JF489224.1	JF489178.1
<i>S. tripartitus</i>							
<i>S. melanoleucus</i>							
<i>S. cruzlimai</i>							
<i>S. oedipus</i>	EU497296.1	HM765399.1	HM765203.1	HM765051.1	HM764841.1	JF489232.1	JF489186.1
<i>S. geoffroyi</i>	U39008.1	HM765392.1	HM765198.1	HM765044.1	HM764836.1		
<i>L. rosalia</i>	U39006.1	HM765337.1	HM765169.1		HM764808.1		
<i>L. chrysomelas</i>		HM765332.1	HM765168.1				
<i>C. goeldii</i>	U39000.1	HM765291.1	HM765160.1	HM764934.1	HM764800.1	JN541391.1	JN541374.1
<i>C. pygmaea</i>	U39002.1	HM765307.1	HM765167.1	HM764952.1		JN541399.1	AY620645.1
<i>C. apella</i>	AF420046.1	HM765278.1	HM765190.1	HM764920.1	HM764827.1		
<i>C. humilis</i>	FJ769145.1						
<i>C. geoffroyi</i>	HM765290.1		HM765163.1	HM764933.1	HM764803.1	JN541393.1	JN541376.1
<i>C. jacchus</i>	U39001.1	HM765296.1	NM001302791.1	HM764939.1	HM764804.1	JN541395.1	JN541378.1
<i>C. mauesi</i>	FJ769147.1					JN541405.1	JN541388.1
<i>C. penicillata</i>		HM765304.1	HM765304.1	HM764949.1	HM764806.1	JN541397.1	
<i>C. humeralifera</i>				HM764994.1		JN541404.1	
<i>C. argentata</i>	HM765279.1		HM765161.1	HM764921.1	HM764801.1	JN541400.1	JN541383.1
<i>A. caraya</i>		HM765258.1	HM765172.1	HM764895.1	HM764810.1		

ESPÉCIES	Alu1C3	APP	ATXN7	AXIN1	BCHE	BCOR	BDNF
<i>S. martinsi</i>				HM764341.1		HM764018.1	
<i>S. midas</i>	JF489211.1	HM764667.1	HM764525.1	HM764343.1	HM764089.1	HM764019.1	HM763861.1
<i>S. niger</i>	JF489213.1						
	JF489212.1						
<i>S. imperator</i>	JF489206.1				HM764184.1		
	JF489205.1						
<i>S. mystax</i>	JF489215.1		HM764527.1	HM764344.1	HM764171.1	HM764020.1	HM763862.1
	JF489214.1						
<i>S. inustus</i>	JF489208.1						
	JF489207.1						
<i>S. labiatus</i>		HM764666.1		HM764340.1	HM764120.1	HM764017.1	HM763860.1
<i>S. bicolor</i>	JF489210.1	HM764663.1	HM764517.1	HM764337.1		HM764014.1	HM763857.1
	JF489209.1						
<i>S. fuscicollis</i>		HM764664.1	HM764521.1	HM764338.1	HM764074.1	HM764015.1	HM763858.1
<i>S. nigricollis</i>							
<i>S. leucopus</i>							
<i>S. tripartitus</i>							
<i>S. melanoleucus</i>							
<i>S. cruzlimai</i>							
<i>S. oedipus</i>	JF489216.1	HM764669.1	HM764528.1	HM764345.1	HM764067.1	HM764021.1	HM763863.1
<i>S. geoffroyi</i>		HM764665.1	HM764522.1	HM764339.1	HM764087.1	HM764016.1	HM763859.1
<i>L. rosalia</i>		HM764640.1		HM764311.1	HM764086.1	HM763989.1	HM763840.1
<i>L. chrysomelas</i>		HM764639.1	HM764463.1	HM764310.1	HM764075.1	HM763988.1	HM763839.1
<i>C. goeldii</i>		HM764632.1	HM764421.1	HM764302.1	HM764218.1	HM763981.1	AY011480.1
<i>C. pygmaea</i>		HM764638.1	HM764433.1	HM764309.1	HM764122.1	HM763987.1	HM763838.1
<i>C. apella</i>		HM764658.1	HM764408.1	HM764330.1	HM764118.1	HM764007.1	
<i>C. humilis</i>							
<i>C. geoffroyi</i>		HM764634.1	HM764420.1		HM764208.1	HM763984.1	HM763835.1
<i>C. jacchus</i>			HM764425.1	HM764306.1	HM764113.1	HM763985.1	HM763836.1
<i>C. mauesi</i>							
<i>C. penicillata</i>		HM764637.1	HM764430.1	HM764308.1	HM764090.1	HM763986.1	HM763837.1
<i>C. humeralifera</i>				HM764312.1	HM764180.1	HM763990.1	
<i>C. argentata</i>		HM764633.1	HM764409.1	HM764303.1	HM764216.1	HM763982.1	HM763834.1
<i>A. caraya</i>		HM764642.1		HM764314.1	HM764195.1		

ESPÉCIES	BRCA2	CFTR	CYTB	DLOOP	DMRT1	Eps.Globin	FBN1
<i>S. martinsi</i>				DQ241247.1			
<i>S. midas</i>	HM763745.1	HM763617.1	AJ489760.1	DQ241239.1	HM762654.1	L25355.1	HM761950.1
<i>S. niger</i>				DQ241238.1			
<i>S. imperator</i>	HM763743.1		HM368020.1	DQ241249.1	HM762651.1		HM761946.1
				DQ241248.1			
<i>S. mystax</i>	HM763746.1	HM763618.1	HM368073.1	DQ241250.1	HM762655.1		HM761951.1
				HM367973.1			
<i>S. inustus</i>			KM370853.1				
<i>S. labiatus</i>	HM763744.1	HM763616.1	HM367998.1	HM367898.1	HM762652.1		HM761947.1
<i>S. bicolor</i>	HM763740.1		KR528403.1	DQ241244.1	HM762644.1		HM761944.1
				DQ241243.1			
<i>S. fuscicollis</i>	HM763741.1		HM368072.1	HM367972.1	HM762648.1		
			HM368052.1	HM367971.1			
<i>S. nigricollis</i>			HM367975.1				
<i>S. leucopus</i>							
<i>S. tripartitus</i>			HM368077.1				
<i>S. melanoleucus</i>			HM368078.1	HM367978.1			
<i>S. cruzlimai</i>			KP182176.1				
<i>S. oedipus</i>			HM368007.1	HM367907.1	HM762656.1		HM761952.1
<i>S. geoffroyi</i>	HM763742.1		AF001931.1	JN849633.1			HM761945.1
<i>L. rosalia</i>	HM763716.1	HM763566.1	KR528404.1		HM762590.1	L25357.1	HM761919.1
<i>L. chrysomelas</i>	HM763715.1	HM763565.1	KR528398.1	U89011.1	HM762585.1		HM761918.1
<i>C. goeldii</i>	HM763708.1		KR528428.1	FJ769149.1	HM762538.1	L25364.1	HM761912.1
<i>C. pygmaea</i>	HM763714.1	HM763520.1	AF245081.1	U89010.1	HM762555.1	L25361.1	HM761917.1
<i>C. apella</i>	HM763521.1	HM763521.1	FJ529104.1	JQ317619.1	HM762524.1		HM761937.1
<i>C. humilis</i>				FJ769148.1		FJ769153.1	
<i>C. geoffroyi</i>		HM763518.1	HM368005.1	U88996.1	HM762649.1	U97029.1	HM761914.1
<i>C. jacchus</i>	HM763711.1		AF295586.1	AB525908.1	HM762543.1	L25363.1	HM761915.1
<i>C. mauesi</i>			AF245051.1	U89003.1		U97024.1	
<i>C. penicillata</i>		HM763519.1	AF245054.1		HM762552.1	FJ769156.1	HM761916.1
<i>C. humeralifera</i>	HM763717.1						
<i>C. argentata</i>	HM763709.1	HM763517.1	AF245050.1	U89005.1	HM762525.1	AY927310.1	HM761913.1
<i>A. caraya</i>	HM763719.1		AY374378.2		HM762503.1		HM761922.1

ESPÉCIES	CHRNA1	CNR1	CREM	DACH1	DCTN2	EDG1	ERC2
<i>S. martinsi</i>	HM763455.1	HM763286.1				HM762454.1	HM762191.1
<i>S. midas</i>	HM763457.1	HM763287.1		HM762986.1	HM762793.1	HM762455.1	HM762265.1
<i>S. niger</i>							
<i>S. imperator</i>	HM763453.1		HM763145.1		HM762790.1	HM762452.1	HM762177.1
<i>S. mystax</i>	HM763458.1	HM763289.1	HM763147.1		HM762794.1	HM762456.1	HM762285.1
<i>S. inustus</i>							
<i>S. labiatus</i>	HM763454.1	HM763285.1	DQ976979.1		HM762791.1	HM762453.1	HM762205.1
<i>S. bicolor</i>		HM763282.1		HM762978.1	HM762787.1	HM762449.1	HM762286.1
<i>S. fuscicollis</i>	HM763451.1	HM763283.1	HM763144.1	HM762982.1	HM762788.1	HM762450.1	HM762261.1
<i>S. nigricollis</i>							
<i>S. leucopus</i>							
<i>S. tripartitus</i>							
<i>S. melanoleucus</i>							
<i>S. cruzlimai</i>							
<i>S. oedipus</i>	HM763459.1	HM763290.1		HM762989.1	HM762795.1	HM762457.1	HM762287.1
<i>S. geoffroyi</i>	HM763452.1	HM763284.1		HM762983.1	HM762789.1	HM762451.1	HM762330.1
<i>L. rosalia</i>	HM763423.1	HM763255.1	HM763098.1	HM762927.1	HM762761.1	HM762421.1	
<i>L. chrysomelas</i>	HM763422.1	HM763254.1	HM763097.1	HM762924.1			HM762329.1
<i>C. goeldii</i>	HM763414.1	AY011600.1	AY011663.1	HM762882.1	HM762752.1	HM762413.1	
<i>C. pygmaea</i>	HM763421.1	HM763253.1	HM763046.1	HM762895.1	HM762760.1	HM762420.1	HM762328.1
<i>C. apella</i>	HM763444.1	HM763275.1	HM763048.1	HM762869.1	HM762780.1	HM762442.1	HM762284.1
<i>C. humilis</i>							
<i>C. geoffroyi</i>	HM763417.1	HM763248.1	HM763042.1	HM762881.1	HM762756.1	HM762416.1	HM762290.1
<i>C. jacchus</i>	HM763418.1	HM763249.1	HM763043.1	HM762886.1	HM762757.1	HM762417.1	
<i>C. mauesi</i>							
<i>C. penicillata</i>	HM763420.1	HM763252.1	HM763045.1	HM762892.1	HM762759.1	HM762419.1	HM762246.1
<i>C. humeralifera</i>	HM763424.1	HM763256.1			HM762753.1	HM762422.1	HM762189.1
<i>C. argentata</i>	HM763415.1	HM763246.1	HM763040.1	HM762870.1	HM762754.1	HM762414.1	
<i>A. caraya</i>	HM763426.1	HM763258.1	HM763016.1		HM762762.1	HM762424.1	

ESPÉCIES	FAM123B	FES	FOXP1	GHR	KCNMA1	LRPPRC 169	LRPPRC 171
<i>S. martinsi</i>	HM762119.1	HM761793.1	HM761652.1				
<i>S. midas</i>	HM762121.1	HM761794.1	HM761646.1	HM761461.1	HM761461.1	HM761158.1	HM761030.1
<i>S. niger</i>							
<i>S. imperator</i>	HM762117.	HM761791.1	HM761644.1				
<i>S. mystax</i>	HM762122.1	HM761795.1	HM761648.1		HM761332.1	HM761159.1	HM761031.1
<i>S. inustus</i>							
<i>S. labiatus</i>	HM762118.1	HM761792.1	HM761645.1	HM761486.1	HM761329.1	HM761157.1	HM761029.1
<i>S. bicolor</i>	HM762114.1	HM761788.1	HM761637.1	HM761460.1	HM761326.1	HM761156.1	HM761026.1
<i>S. fuscicollis</i>	HM762115.1	HM761789.1	HM761641.1	HM761462.1	HM761327.1		HM761027.1
<i>S. nigricollis</i>							
<i>S. leucopus</i>							
<i>S. tripartitus</i>							
<i>S. melanoleucus</i>							
<i>S. cruzlimai</i>							
<i>S. oedipus</i>	AY091919.1	HM761796.1	HM761649.1	HM761465.1	HM761333.1	HM761160.1	HM761032.1
<i>S. geoffroyi</i>	HM762116.1	HM761790.1	HM761642.1	HM761485.1	HM761328.1		HM761028.1
<i>L. rosalia</i>	HM762087.1	HM761763.1		HM761457.1		HM761139.1	HM761007.1
<i>L. chrysomelas</i>	HM762086.1	HM761762.1	HM761582.1	HM761467.1			HM761006.1
<i>C. goeldii</i>	HM762079.1	HM761754.1	HM761535.1	HM761469.1	HM761212.1	HM761135.1	HM761000.1
<i>C. pygmaea</i>	HM762085.1	HM761761.1	HM761552.1	HM761475.1	HM761217.1		HM761005.1
<i>C. apella</i>	HM762107.1	HM761781.1		HM761458.1	HM761218.1	HM761153.1	
<i>C. humilis</i>							
<i>C. geoffroyi</i>	HM762081.1	HM761757.1	HM761534.1	HM761474.1	HM761214.1	HM761137.1	HM761002.1
<i>C. jacchus</i>	HM762082.1	HM761758.1	HM761540.1	HM761473.1	HM761215.1	HM761138.1	HM761003.1
<i>C. mauesi</i>							
<i>C. penicillata</i>	HM762084.1	HM761760.1	HM761549.1	HM761472.1	HM761216.1		HM761004.1
<i>C. humeralifera</i>	HM762088.1		HM761595.1				
<i>C. argentata</i>	HM762080.1	HM761755.1	HM761522.1	HM761471.1	HM761213.1	HM761136.1	HM761001.1
<i>A. caraya</i>	HM762089.1	HM761765.1	HM761499.1				

ESPÉCIES	LUC71	MAPKAP1	MBD2	ND1	Sine SF7
<i>S. martinsi</i>		HM760745.1			
<i>S. midas</i>	HM760901.1	HM760740.1	HM760547.1	AY579989.1	JF489196.1
					JF489195.1
<i>S. niger</i>				AY599496.1	JF489198.1
					JF489197.1
<i>S. imperator</i>	HM760899.1	HM760738.1	HM760544.1		JF489191.1
					JF489190.1
<i>S. mystax</i>	HM760903.1	HM760741.1	HM760549.1	AY582798.1	JF489200.1
					JF489199.1
<i>S. inustus</i>					JF489193.1
					JF489192.1
<i>S. labiatus</i>	HM760900.1	HM760739.1	HM760545.1		
<i>S. bicolor</i>	HM760896.1	HM760731.1	HM760541.1	AY579990.1	JF489187.1
				AY579987.1	
<i>S. fuscicollis</i>	HM760897.1	HM760735.1	HM760542.1	AY579985.1	JF489189.1
				AY579986.1	JF489188.1
<i>S. nigricollis</i>					
<i>S. leucopus</i>				AY599497.1	JF489194.1
<i>S. tripartitus</i>					
<i>S. melanoleucus</i>					
<i>S. cruzlimai</i>					
<i>S. oedipus</i>	HM760904.1	HM760742.1	HM760550.1	AB010972.1	JF489201.1
<i>S. geoffroyi</i>	HM760898.1	HM760736.1	HM760543.1		
<i>L. rosalia</i>	HM760842.1	HM760682.1	HM760520.1		
<i>L. chrysomelas</i>	HM760841.1	HM760677.1	HM760519.1		
<i>C. goeldii</i>	HM760790.1	HM760636.1	HM760511.1		JN541356.1
<i>C. pygmaea</i>	HM760795.1	HM760651.1	HM760518.1		JN541365.1
<i>C. apella</i>	HM760796.1	HM760625.1	HM760534.1	AB010973.1	
<i>C. humilis</i>					JN541370.1
<i>C. geoffroyi</i>		HM760635.1	HM760514.1		JN541359.1
<i>C. jacchus</i>	HM760793.1	HM760641.1			JN541361.1
<i>C. mauesi</i>					JN541371.1
<i>C. penicillata</i>	HM760794.1	HM760649.1	HM760517.1		JN541363.1
<i>C. humeralifera</i>		HM760691.1	HM760521.1		
<i>C. argentata</i>	HM760791.1	HM760626.1	HM760512.1		JN541366.1
<i>A. caraya</i>	HM760771.1	HM760602.1	HM760523.1		

APÊNDICE III - Filogenia com as datas de origem dos nós

