

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Evolução Molecular e Cariotípica em**  
***Rhipidomys* Tschudi, 1845 (Rodentia, Cricetidae)**

Ana Heloisa de Carvalho

Vitória, ES  
Outubro, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Evolução Molecular e Cariotípica em**  
***Rhipidomys* Tschudi, 1845 (Rodentia, Cricetidae)**

Ana Heloisa de Carvalho

Orientadora: Leonora Pires Costa

Coorientadora: Valéria Fagundes

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito  
Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em  
Biologia Animal

Vitória, ES  
Outubro, 2017

(Ficha catalográfica)

(certificado de aprovação)

## AGRADECIMENTOS

Ao Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, à Universidade Federal do Pará e à pesquisadora Dra. Roberta Paresque, da Universidade Federal do Espírito Santo, por me cederem espécimes de *Rhipidomys* para serem analisados nesse trabalho.

Às pesquisadoras Dra. Alexandra Maria Ramos Bezerra e Dra. Cibele Rodrigues Bonvicino, coordenadoras do projeto “banco de dados dos espécimes-tipo das espécies de roedores do Brasil”, subordinado aos processos CNPq 402176/2012-0 e 372459/2013-7, por me concederem fotografias do holótipo de *Rhipidomys emiliae* (AMNH 37495); E ao curador Dr. Robert S. Voss e aos assistentes científicos Eillen Westwig e Eleonor Hoeger da coleção do American Museum of Natural History onde está tombado o espécime em questão.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento dessa pesquisa.

Aos pesquisadores Maria José de Jesus Silva, Bárbara Maria de Andrade Costa, Vander Calmon Tosta, Roberta Paresque, Ana Carolina Loss Rodrigues e Sarah Maria Vargas que aceitaram prontamente compor a banca e contribuir para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratórios (LaMaB e LGA), especialmente à Carol, Ritinha, Victor Hugo, Arturo, Rafa e Dayse por me auxiliarem no aprendizado das técnicas de genética molecular.

À Santa Ju salvadora das PCRs, nossa super querida técnica e amiga que comanda milagres no NGACB e guia todos os alunos desorientados.

À Momô, que prontamente acha as informações perdidas dos espécimes.

À Sarah e a Carol por me guiarem na metodologia de datação molecular.

Aos queridos amigos do LaMaB (não vou citar nomes porque com certeza irei esquecer e pegará muito mal, mas gosto de todos) e ao Yuri, pela hora do café, momento de interação, discussão científica e leitura do horóscopo.

Aos amigos do LGA e ex-LGA pelos campos com emoção, incentivo quando o bandeamento não dava certo, fofocas... Especialmente ao Vic, Turo, Mari com 2n, Dé, Bibiu, Thatá e Vívian.

Aos amigos da bagunça, mas também de troca de ideias científicas, Roger (minha best – garanto que ele estava lendo isso aqui e me xingando porque havia esquecido dele), Dé (minha companheira querida de cito), Bibiu (“meu marido”), Iago (acompanha o pacote Bibiu e Dé – também gosto de você, viu?), Jhow, Vitim e Thaíspectacular!

À Daysoca, que agora está uns quilômetros distantes, mas foi uma super amiga quando eu precisei, talvez ela ache que tenha sido o contrário.

Aos meus familiares, por não perguntarem o tempo todo como vai o doutorado.

Aos meus pais, minha irmã, minha mãe 2 e minha irmã do meio por ouvirem minhas angústias e decepções, me darem suporte emocional e, também, por compartilharem comigo momentos felizes e gratificantes.

À vó Albinha, já que eu não te dei um neto ainda, dedico essa tese com muito amor à você!

À minha orientadora, Leonora Pires Costa, por aceitar me orientar, pelas discussões científicas e por me fazer mais independente.

À minha coorientadora, Valéria Fagundes, por ser a pessoa que eu precisava nessa reta final, me apoiando emocionalmente e cientificamente, meu mais sincero muito obrigada!

## PREFÁCIO

Comecei a trabalhar com o gênero de roedores *Rhipidomys* (Cricetidae) durante o meu mestrado em Genética na UFMG, apenas por ser o gênero que possuíamos maior número de espécimes com amostras citogenéticas coletadas. Desde lá, os *Rhipis*, como eu carinhosamente os chamo, só têm me trazido alegrias científicas porque nada é mais gratificante para um pesquisador do que encontrar alguma novidade e esse pequeno rato arborícola adora aparecer com boas surpresas.

Durante o mestrado (2007-2009) ele me mostrou a possibilidade de ter seus cromossomos rearranjados por reposicionamento centromérico, uma forma de rearranjo cromossômico que naquele momento era pouco conhecido, difundido e até um pouco discriminado entre os citogeneticistas clássicos.

Com o intuito de compreender melhor o rearranjo e a evolução cariotípica no gênero, apresentei uma proposta de projeto de doutorado para a minha ex-orientadora de graduação, Dra. Valéria Fagundes, que com receio de que um de seus quatro candidatos no processo seletivo (eu inclusa) ficasse de fora do doutorado por ela possuir apenas três vagas, sugeriu que eu fosse orientada pela professora Dra. Leonora Pires Costa e ficasse sob sua coorientação, prontamente aceitei. Fizemos alguns ajustes ao projeto inicial acrescentando toda a parte molecular, o que eu particularmente gostei bastante, pois sempre tive interesse na técnica e em aprender coisas novas.

Como era de se imaginar, os dados moleculares só vieram para contribuir e, as principais novidades desse trabalho são devidos ao uso concomitante das técnicas de citogenética clássica e genética molecular. Infelizmente, algumas técnicas que eu gostaria de ter utilizado para a confirmação do reposicionamento centromérico no gênero, não tive sucesso em realizar mas, o desapego deve fazer parte da maioria dos projetos de doutorado. Então, finalmente aqui estamos com a minha tese pronta, sem alguns dados que gostaria de ter, mas com muitos outros tão interessantes quanto.

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>II</b>
<b>PREFÁCIO</b> .....	<b>IV</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>V</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VIII</b>
<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA EM RHIPIDOMYS</b> .....	<b>3</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>5</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>6</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>7</b>
<b>RHIPIDOMYS DE NÚMERO DIPLÓIDE DIFERENTE DE 44</b> .....	<b>7</b>
2n=50, NF=72 - <i>Rhipidomys</i> aff. <i>nitela</i> 1 .....	7
2n=50, NF=71 - <i>Rhipidomys</i> aff. <i>nitela</i> 1 .....	8
2n=48 e NF=68 - <i>R. nitela</i> .....	8
2n=48 e NF=66 - <i>R. nitela</i> .....	8
2n=48, NF=67 - <i>Rhipidomys</i> aff. <i>nitela</i> 2 .....	9
Análise comparativa dos cariótipos de <i>Rhipidomys</i> aff. <i>nitela</i> 1, <i>Rhipidomys</i> aff. <i>nitela</i> 2 e <i>R. nitela</i> .....	9
<b>RHIPIDOMYS DE 2N= 44 E NF ALTO</b> .....	<b>15</b>
2n=44, NF= 80 - <i>Rhipidomys ipukensis</i> .....	15
2n=44, NF=74 - <i>Rhipidomys mastacalis</i> .....	16
2n=44, NF=72 - <i>Rhipidomys</i> aff. <i>mastacalis</i> 1 .....	16
2n=44, NF=74 - <i>Rhipidomys</i> aff. <i>mastacalis</i> 2 .....	17
Análise comparativa de <i>Rhipidomys</i> de 2n=44 e número fundamental alto .....	17
<b>RHIPIDOMYS DE 2N=44 E NF BAIXO</b> .....	<b>21</b>
2n=44, NF=48 - <i>Rhipidomys leucodactylus</i> .....	21
2n=44, NF=48 - <i>Rhipidomys coesi</i> .....	21
2n=44, NF=48 - <i>Rhipidomys latimanus</i> .....	21
2n=44, NF=50 - <i>Rhipidomys cariri</i> .....	21
2n=44, NF=50 - <i>Rhipidomys gardneri</i> .....	22
2n=44, NF=48, 49 e 50 - <i>Rhipidomys itoan</i> .....	22
2n=44, NF=50 - <i>Rhipidomys macconnelli</i> .....	22
2n=44, NF=48, 49 e 50 - <i>Rhipidomys macrurus</i> .....	23
2n=44, NF=50 - <i>Rhipidomys tribei</i> .....	23
2n=44, NF=50 - <i>Rhipidomys</i> sp.1 .....	24
2n=44, NF=52 - <i>Rhipidomys emiliae</i> .....	24
2n=44, NF=52 - <i>Rhipidomys</i> sp.2 .....	25
2n=44, NF=61 - <i>Rhipidomys</i> híbrido.....	25

Análise comparativa de <i>Rhipidomys</i> de 2n=44 e número fundamental baixo.....	26
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>36</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>39</b>
<b><u>CAPÍTULO 2 – EVOLUÇÃO MOLECULAR E CITOTAXONOMIA EM <i>RHIPIDOMYS</i>.....</u></b>	<b><u>40</u></b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>40</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA.....</b>	<b>54</b>
<i>Rhipidomys mastacalis</i> .....	64
<i>Rhipidomys</i> sp.1 .....	65
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>69</b>

## RESUMO

A taxonomia de *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) é complexa, sendo a identificação de espécies embasada principalmente em caracteres morfológicos contínuos. Estudos filogenéticos prévios utilizando o gene Citocromo B (CitB) amostraram 12 das 23 espécies reconhecidas; três destas últimas foram identificadas e descritas após estes estudos e outra é ainda não formalmente descrita, indicando que a variação morfológica pode subestimar a diversidade do gênero. O cariótipo costuma ser um bom caráter taxonômico para roedores mas, em *Rhipidomys*, muitos foram descritos e não associados à espécies ou ainda interpretados equivocadamente. Cariótipos de indivíduos identificados morfológicamente e molecularmente, provenientes de diversas localidades, foram analisados. Foram revisadas as informações cariotípicas disponíveis na literatura para *Rhipidomys* e alguns cariótipos foram reinterpretados. Os cariótipos do gênero são divididos em três grupos: o grupo com número diplóide ( $2n$ ) igual a 44 com Número Fundamental (NF) baixo variando de 48 à 52; o grupo com  $2n=44$  com NF alto, variando de 72 à 80 e; o grupo com  $2n$  diferente de 44,  $2n=48$  e 50 com NF variando de 66 à 72. A maioria das espécies do gênero apresentou  $2n=44$  e NF baixo, sendo os cariótipos muito similares. O cariótipo ancestral do gênero deve ser similar a estes, pois são os observados nos clados basais do gênero e são encontrados em espécimes oriundos de localidades próximas à América Central, região do evento provável cladogênico entre *Rhipidomys* e *Thomasomys*, que apresenta algumas espécies com  $2n$  próximo à 44, inclusive 44, e NF baixo. Além dos cariótipos com  $2n=44$  e NF baixo, foi recuperado nas análises moleculares em um único clado os outros dois grupos: o grupo com  $2n=48$  e 50, que contempla atualmente a espécie *R. nitela*, mas que apresentou cinco complementos distintos que podem se tratar de três entidades taxonômicas ou populações diferenciadas; e o grupo com  $2n=44$ , NF alto que contempla *R. ipukensis* e *R. mastacalis*. Os dados moleculares, com dois marcadores mitocondriais e quatro nucleares, associados aos dados cariotípicos, revelaram a formação de dois clados em *R. mastacalis*, um ao norte do Rio Jequitinhonha e outro ao sul. Esses clados correspondem a duas espécies distintas: *R. mastacalis* ( $2n=44$ , NF=74) e possivelmente *R. cearanus* ( $2n=44$ , NF=72), cujo nome encontra-se disponível mas não reconhecido como espécie válida. Dentro do clado com NF alto encontra-se *R. emiliae* que apresenta cariótipo com  $2n=44$  e NF=52, decorrente de um evento de introgressão confirmada pela análise concatenada com dados nucleares. Enquanto o cariótipo analisado por coloração

convencional não distingue bem as espécies com NF baixo, os padrões de bandeamento sugerem distinções. Não diferenciamos o principal responsável pela variação no NF: reposicionamento centromérico ou inversão pericêntrica. A explicação para surgimento do cariótipo com  $2n=48$  e  $50$  é mais complexa do que uma simples fissão. *Rhipidomys emiliae*, *R. ipukensis* e *R. tribei* tiveram seus cariótipos descritos pela primeira vez no presente estudo. Há também a indicação de uma possível nova espécie baseada nos dados moleculares.

**Palavras-chave:** introgressão, distribuição geográfica, taxonomia, *Rhipidomys cearanus*, espécie nova, filogenia molecular, marcador mitocondrial, marcador nuclear, cariótipo.

## ABSTRACT

*Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) taxonomy is very complex, and the identification of specimens is usually based on continuous morphological characters. In previous phylogenetic studies, based in the Cytochrome B (Cytb) gene, among other lines of evidence, 12 of the 23 recognized species were sampled: three of them have been identified and described after these studies and another one is not formally described yet. These data indicate that the morphological variation may underestimate the diversity of the genus. Karyotype is usually a reliable taxonomic character for rodents but, concerning *Rhipidomys*, many have been described but not necessarily associated with a recognized species or misinterpreted. Karyotypes of specimens from different localities, that were identified on basis of molecular and/or morphological characters, were analyzed. We reviewed the karyotypic information available in literature for *Rhipidomys* and some were reinterpreted. This genus presents three karyological groups: a group presenting diploid number (2n) equal to 44, and low fundamental number (FN) varying from 48 to 52; a group presenting 2n=44, FN high, FN=72–80; and a group presenting 2n different from 44, 2n=48 and 50 and FN=66–72. Most species of this genus presents 2n=44 and low FN, all of these karyotypes being very similar. We assume that the ancestral karyotype of the genus should be similar to these, since are the ones recorded for *Rhipidomys* basal clades and are registered for specimens nearest to Central America, region of the cladogenesis event between *Rhipidomys* and *Thomasomys* probably occurs which presents some species showing 2n similar to 44, including 2n=44, and low FN. In addition to the 2n=44 and low FN karyotypes group, a single clade includes the other two groups: the group presenting 2n=48 e 50, which currently only includes *R. nitela*, but presented five distinct complements that can possibly comprise three taxonomic entities or distinctive populations; and a group with 2n=44 and high FN, that currently includes *R. ipukensis* and *R. mastacalis*. Molecular data, using two mitochondrial and four nuclear markers, associated with karyotype data, revealed two clades in *R. mastacalis*: one north of the Jequitinhonha river and another to the south. These clades correspond to two distinct species: *R. mastacalis* (2n=44, FN=74) and probably *R. cearanus* (2n=44, FN=72), a taxon name currently available but not current recognized. Within the clade characterized by high FN is *R. emiliae* that presents karyotype with 2n=44, FN=52, due to an introgression event confirmed by nuclear concatenated analysis. While karyotype analyzed by conventional staining does not

distinguish well species with low FN, banding patterns suggest distinctions. We could not differentiate the main cause of variation in FN: centromeric repositioning or pericentric inversion. The explanation for the appearance of  $2n=48$  and  $50$  karyotype is more complex than a simple fission. In the present study the karyotype of *Rhipidomys emiliae*, *R. ipukensis* and *R. tribei* was described for the first time. Based on the molecular analysis, there is also the indication of possible new species.

**Keywords:** introgression, geographic distribution, taxonomy, *Rhipidomys cearanus*, molecular phylogeny, mitochondrial marker, nuclear marker, karyotype.

## APRESENTAÇÃO

Os roedores sigmodontíneos, originários da América Central, encontraram na América do Sul quando aqui chegaram, provavelmente antes do completo fechamento do istmo do Panamá, muitos nichos disponíveis ou ocupados por animais em desvantagem adaptativa. Oportunamente, irradiaram-se, dando origem à segunda subfamília mais especiosa de roedores murídeos e a mais diversa de mamíferos neotropicais, com cerca de 400 espécies viventes e 86 gêneros (Parada, 2015; Musser e Carleton, 2005; Woodburne, 2010; Leite *et al.*, 2014). As adaptações foram as mais variadas para os mais diversos nichos: terrestre, fossorial, semiaquático e arbóreo (Smith e Patton, 1999). E, é no estrato arbóreo que vive o gênero *Rhipidomys*, um roedor arborícola com olhos grandes assim como as vibrissas, rabo com pincel na ponta e mancha escura na parte superior das patas traseiras e, caracteres estes importantes para a identificação taxonômica do gênero, com exceção a distinção de outro gênero de roedores arborícolas, *Oecomys*, que, provavelmente, por convergência adaptativa adquiriu características morfológicas semelhantes, dificultando a distinção entre eles.

Apesar do gênero apresentar caracteres taxonômicos bem peculiares, suas espécies não são de fácil distinção. Um grande trabalho de revisão do gênero, como enfoque predominantemente morfológico, mas com informações de citogenéticas compiladas da literatura disponível, foi realizado em 1996 por Tribe. O mesmo autor, recentemente, atualizou algumas informações do gênero (Tribe, 2015). No entanto, muitos dos dados citogenéticos publicados até o presente momento carecem de reanálise e reinterpretação, o que é complicado de se fazer quando o gênero apresenta muitos cariótipos similares, a maioria apenas com dados de coloração convencional, e a contagem de braços cromossômicos pode ficar comprometida devido a compactação cromossômica.

Em, 2003 e 2011, foram realizados três estudos utilizando dados moleculares de sequências de Citocromo B Oxidase (CitB) (Costa, 2003; Costa *et al.* 2011; Rocha *et al.*, 2011), até o presente momento nenhum outro trabalho apresentou dados filogenéticos com outros genes. Com estes estudos foi possível a identificação de quatro novas espécies, três descritas e uma terceira carecia de mais exemplares para a descrição, mostrando que, apesar dos esforços com a identificação morfológica, os dados moleculares demonstram que parte da diversidade do gênero ainda permanece oculta.

As coleções carecem de uma amostra bem distribuída desses roedores que, por seu hábitos arborícolas, costumam ser mais difíceis de coletar e, em algumas coleções só estão disponíveis a pele e o esqueleto do espécime, não possuindo tecido para identificação molecular e suspensão citogenética, para a análise cromossômica. Este trabalho foi realizado na tentativa de melhor correlacionar os dados citogenéticos e com os táxons, através de dados moleculares.

## Referências

- Costa BM de A, Geise L, Pereira LG, et al (2011) Phylogeography of *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) and description of two new species from southeastern Brazil. *J Mammal* 92:945–962.
- Costa LP (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals *Journal of Biogeography* 30:71–86.
- Leite RN, Kolokotronis S-O, Almeida FC, et al. (2014) In the Wake of Invasion: Tracing the Historical Biogeography of the South American Cricetid Radiation (Rodentia, Sigmodontinae). *PLoS ONE* 9(6): e100687.
- Musser GG, Carleton MD (2005) Family Muridae. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 2ed, Smithsonian Press, Washington.
- Parada A, D'Elía G, Palma RE (2015) The influence of ecological and geographical context in the radiation of Neotropical sigmodontine rodents. *BMC Evolutionary Biology* 15:172
- Rocha RG, Ferreira E, Costa BMA, et al (2011) Small mammals of the mid-Araguaia River in central Brazil, with the description of a new species of climbing rat. *Zootaxa* 34:1–34.
- Smith M, Patton JL (1999) Phylogenetics Relationships and the Radiation of Sigmodontinae Rodents in South America: Evidence from Cytochrome b. *J Mamm Evol* 6(2): 89-128.
- Tribe CJ (1996) The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision. Tese. University College London, Londres. 313.
- Tribe CJ (2015) Genus *Rhipidomys* Tschudi, 1945. In: Patton JL, Pardiñas UFJ, D'Elía G (Eds) *Mammal of South America*, volume 2 – Rodents. Chicago and London: The University of Chicago Press, 583–617.
- Woodburne MO (2010) The Great American Biotic Interchange: dispersals, Tectonics, Climate, Sea Level and Holding Pens. *J Mamm Evol* 17:245–264.

## Capítulo 1 – Caracterização Cariotípica em *Rhipidomys*

*A ser submetido na revista Hereditas – fator de impacto 1.118.*

### Resumo

*Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) é um gênero de fácil identificação, porém a diferenciação das suas espécies não é tão simples. Tradicionalmente, muitos dos cariótipos descritos na literatura para o gênero não estão identificados a nível específico e, quando estão, a identificação da espécie foi morfológica ou por associação à área de ocorrência. No presente estudo, a associação do cariótipo encontrado em uma localidade foi realizada pela similaridade da sequência do gene Citocromo B, de ao menos um indivíduo cariotipado desta localidade, com as sequências disponíveis no banco de dados do Genbank, utilizando a ferramenta Blast (Basic Local Alignment Search Tool). Embora hajam vários estudos com descrições cariotípicas no gênero, nenhum se propôs a verificar a distinção entre aqueles com os mesmos  $2n$  e NF, a fim de verificar a possibilidade de ocorrência de cariótipos espécie-específicos. No intuito de entender a diversidade cariotípica no gênero, o presente estudo teve como objetivo avaliar a diferenciação cariotípica em *Rhipidomys* e verificar a possibilidade do uso dos cariótipos como caracteres auxiliares na taxonomia do gênero. Para tanto, foi realizada uma revisão bibliográfica dos registros e descrições cariotípicas disponíveis, além da análise de novos exemplares e novas localidades e, quando necessário, os cariótipos já descritos foram reinterpretados. Houve a necessidade de padronizar as descrições dos cariótipos para o gênero, uma vez que alguns eram montados com pares acrocêntricos antes e cromossomos de dois braços depois e outros, ao contrário.

Foram observados três grupos de cariótipos: com  $2n$  diferente de 44; com  $2n=44$  e NF alto e com  $2n=44$  e NF baixo. No primeiro grupo se encontram cinco cariótipos associados a três taxons: *R. nitela* com  $2n=48$ , NF=68 de Surumú, RR (e sua variante  $2n=48$ , NF=66 de Bolívar, Venezuela); *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 com  $2n=50$ , NF=72 (e sua variante  $2n=50$ , NF=71 com um par heteromórfico) de Manaus, AM; e *Rhipidomys* aff. *nitela* 2 com  $2n=48$ , NF=67 de La Trinité na Guiana Francesa. O segundo grupo, com  $2n=44$  e NF alto, foi formado por *R. ipukensis* com  $2n=44$ , NF=80 de Peixe, Tocantins e norte de Goiás (associado pela primeira vez a essa espécie); *R. mastacalis* com  $2n=44$ , NF=74 de Minas Gerais

(incluindo a localidade-tipo); *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 com  $2n=44$ ,  $NF=72$  da Bahia, Ceará e Pernambuco; e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2 com  $2n=44$ ,  $NF=74$  do Espírito Santo e Rio de Janeiro. O terceiro grupo é composto por: *R. leucodactylus* do Amazonas e Rondônia, *R. coesi* de Anzoátegui na Venezuela e *R. latimanus* de Valle na Colômbia, com  $2n=44$ ,  $NF=48$ ; *R. cariri* de Pernambuco e Ceará, *R. gardneri* do Acre, *R. macconnelli* de Bolívar na Venezuela, *R. tribei* do Espírito Santo e Minas Gerais, com  $2n=44$ ,  $NF=50$ ; *R. macrurus* de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Tocantins e Bahia e *R. itoan* de Rio de Janeiro e São Paulo, com  $2n=44$ ,  $NF=48$ , 49 e 50; *R. emiliae* de Mato Grosso e Goiás, com  $2n=44$ ,  $NF=52$ ; e duas espécies ainda não descritas, uma com  $2n=44$ ,  $NF=50$  de Minas Gerais, Tocantins, Piauí e Bahia e outra com  $2n=44$ ,  $NF=52$  de Mato Grosso. Confirmamos associações cariotípicas para espécies que não apresentavam cariótipos conhecidos: *R. ipukensis* ( $2n=44$ ,  $NF=80$ ), *R. emiliae* ( $2n=44$ ,  $NF=52$ ) e *R. tribei* ( $2n=44$ ,  $NF=50$ ).

Existem algumas áreas de aparente sobreposição na distribuição das espécies, mas registros de simpatria confirmados ocorrem para *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2,  $2n=44$ ,  $NF=74$ , e *R. tribei*,  $2n=44$ ,  $NF=50$  (Muqui - ES) e *R. emiliae*,  $2n=44$ ,  $NF=52$ , e *R. macrurus*,  $2n=44$ ,  $NF=48-50$  (Serra da Mesa - GO), há ainda o registro de um cariótipo de híbrido de *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 e *Rhipidomys* sp.1, apresentando  $2n=44$ ,  $NF=61$  (Morro do Chapéu - BA). Esses dados demonstram uma tendência das espécies simpátricas possuírem cariótipos distintos.

No grupo com  $2n=44$ ,  $NF$  baixo, nem sempre é possível relacionar o cariótipo (coloração convencional) à espécies de *Rhipidomys*, podendo o mesmo complemento ser encontrado em outra espécie, porém padrões de bandeamentos (C e Ag-RON) demonstram algumas diferenças entre os cariótipos, é o caso de *R. macrurus* e *R. tribei*. Também observamos espécies com mais de um cariótipo como *R. itoan* e *R. macrurus*, que possuem um par que podem se apresentar com ambos cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos ou, ainda, heteromórficos. Não sabemos se esse heteromorfismo são populacionais ou indícios de hibridação entre espécies com cariótipos discretamente diferentes, *R. macrurus*, por exemplo, tem área de ocorrência sobreposta com outras três espécies e, um indivíduo identificado neste trabalho com *R. cariri*, pode ser um híbrido destas duas espécies.

Palavras-chave: taxonomia, cariótipo espécie-específico.

## Introdução

*Rhipidomys* é um gênero de roedor sigmodontíneo da tribo Thomasomyini que apresenta hábito arborícola e, embora de difícil captura, é facilmente identificável, com exceção à distinção de *Oecomys*, outro gênero arborícola da mesma família, porém da tribo Oryzomyini. Algumas características são marcantes em *Rhipidomys*, como a presença de mancha escura sobre o metatarso das patas traseiras, o tamanho maior do pincel na ponta da cauda e três pares de mamas. Ocorre na América do Sul, do norte da Venezuela até o Noroeste da Argentina, leste do Paraguai e São Paulo no Brasil, desde terras baixas até 3000 m de altitude. Na América Central ocorre no leste do Panamá e na ilha de Trindade (Tribe, 2015).

Se por um lado a distinção do gênero é fácil, a diferenciação das 23 espécies válidas para o gênero não é simples e é baseada principalmente em caracteres de variação contínua e, em alguns casos, a variação intraespecífica parece ser maior que a variação entre as espécies (Tribe, 1996).

O cariótipo tem sido uma ferramenta valiosa para a identificação de espécies de roedores, e no gênero *Rhipidomys* se mostra bastante conservado, apresentando uma característica bastante peculiar, a conservação do número diploide ( $2n$ ), igual a 44 cromossomos na maioria das espécies, com exceção à *R. nitela* que apresenta  $2n=48$  e 50 (Tribe, 1996; Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev e Catzeflis, 2000; Andrades-Miranda, 2002; Carvalho, 2009; Thomazini, 2009; Costa *et al.*, 2011).

A conservação do  $2n$  contrasta com a variação do número de braços autossômicos (NF), que subdivide as espécies do gênero que possuem número diploide igual a 44 em dois grupos: indivíduos com  $2n=44$  e NF alto que contém a espécie *R. mastacalis* e *R. cf. mastacalis* variando entre  $NF=70, 72, 74, 76$  e 80 (Gardner e Patton, 1976; Zanchin *et al.*, 1992; Andrades-Miranda, 2002; Paresque *et al.*, 2004; Sousa, 2005; Thomazini, 2009) e indivíduos com  $2n=44$  e NF baixo, variando entre 46, 48, 49, 50 e 52 (Zanchin *et al.* 1992; Svartman e Almeida, 1993; Aguilera *et al.*, 1994; Geise, 1995; Silva e Yonenaga-Yassuda 1999; Patton *et al.*, 2000; Andrades-Miranda, 2002; Lima e Kasahara, 2003; Sousa, 2005; Pereira e Geise, 2007; Saranholi *et al.*, 2008; Carvalho, 2009; Thomazini, 2009; Geise *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011; Di-Nizo *et al.*, 2014).

Verifica-se que há mais de uma espécie associada a um mesmo cariótipo, como por

exemplo o caso de  $2n=44$  e  $NF=52$  em *R. cf. mastacalis* (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999), *R. leucodactylus* (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999, Andrades-Miranda *et al.*, 2002); *R. macrurus* (Carvalho, 2009; Thomazini, 2009), *R. gardneri* (Patton *et al.*, 2000), *R. macconelli* (Aguilera *et al.*, 1994), *R. itoan* (Costa *et al.* 2011; Di-Nizo *et al.* 2014) e *R. cariri* (Thomazini, 2009).

Foram poucos os trabalhos que compararam os cariótipos (Zanchin *et al.* 1992; Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev e Catzefflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002), mas nenhum se propôs a verificar a distinção entre aqueles com mesmo  $2n$  e  $NF$ , a fim de verificar a possibilidade de ocorrência de cariótipos espécie-específicos. Nesse sentido, embora haja um grande número de espécies com cariótipos disponíveis, pouco se pode falar da importância do cariótipo em auxiliar na caracterização dos táxons.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a diferenciação cariotípica em *Rhipidomys* e verificar a possibilidade do uso dos cariótipos como caracteres auxiliares na taxonomia do gênero.

## **Material e Métodos**

Foram obtidos material citogenético de 50 exemplares do gênero *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae), procedentes de nove estados brasileiros: Bahia, Ceará, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pernambuco, São Paulo, Tocantins ([Apêndice](#)). Para identificação ao nível específico dos exemplares foram analisados os caracteres morfológicos dos espécimes e/ou realizada uma análise de similaridade de sequência de 801 pb do gene citocromo b (Cit B) após extração de DNA a partir de músculo, fígado ou medula óssea (Bruford *et al.* 1992) e amplificação com os primers MVZ5 e MVZ16 (Smith e Patton, 1993), finalizando com a comparação com os dados do Genbank, utilizando a ferramenta BLAST – Basic Local Alignment Search Tool (Altschul *et al.*, 1990).

As preparações cromossômicas foram obtidas através da preparação direta de células de medula óssea e coradas com a técnica de coloração convencional. Alguns espécimes foram submetidos às técnicas de bandeamento C (Sumner, 1972) e coloração das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-RON) (Howell e Black, 1980).

Foi feito um levantamento de todos os cariótipos disponíveis na literatura, que em seguida foram analisados e reinterpretados, baseando-se nas figuras originais dos artigos.

Quando necessário, foi redefinido o NF e a morfologia dos cromossomos. A identidade dos espécimes foi confirmada ao se comparar o cariótipo e a localidade de coleta.

## **Resultados**

Para a apresentação dos dados cariotípicos, a amostra de *Rhipidomys* foi organizada em três grupos: os cariótipos com  $2n$  diferente de 44; os cariótipos com  $2n=44$  e NF alto e, por último, os cariótipos com  $2n=44$  e NF baixo.

### **Rhipidomys de número diplóide diferente de 44**

Nesse grupo se encontram três estruturas cariotípicas com cinco cariótipos:  $2n=50/NF=72$  e sua variante  $2n=50/NF=71$ , associados a *Rhipidomys* aff. *nitela* 1;  $2n=48/NF=68$  e sua variante  $2n=48/NF=66$ , associados a *R. nitela* e;  $2n=48/NF=67$  associado a *Rhipidomys* aff. *nitela* 2 ([Figura 1](#), [Tabela 1](#)).

#### **$2n=50, NF=72$ – *Rhipidomys* aff. *nitela* 1**

Foi descrito para um espécime macho proveniente de Manaus, AM (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999), com 12 pares de meta/submeta/subtelocêntricos de grandes a pequenos e 12 pares de acrocêntricos médios a pequenos. O cromossomo X é submetacêntrico grande e o Y é acrocêntrico médio, cerca de dois terços do comprimento do braço longo do cromossomo X (Xq). A heterocromatina constitutiva (HC), visualizada após a técnica de bandeamento C, foi evidenciada na região pericêntrica de alguns autossomos, no braço curto e em duas bandas intersticiais no braço longo do cromossomo X e, em todo cromossomo Y, com destaque para a parte distal. A banda R evidenciou regiões de replicação tardia nos cromossomo Y e no braço curto do X. Marcações de Ag-RON foram registradas em um dos homólogos dos cromossomos 4 e 17 e em ambos os pares do 10 e 12. As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos.

2n=50, NF=71 – *Rhipidomys aff. nitela* 1

Variante do 2n=50, NF=72, foi descrito para um exemplar macho de Manaus, AM (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999), o cariótipo apresentou 12 pares de meta/submeta/subtelocêntricos de grandes a pequenos, sendo um par heteromórfico formado por um submetacêntrico e um acrocêntrico (par 20) e 12 pares de acrocêntricos médios a pequenos e um. O cromossomo X é submetacêntrico grande e o Y é acrocêntrico pequeno. Regiões de HC foram observadas na região pericêntrica de alguns autossomos, inclusive no braço curto do homólogo do par 20, no braço curto e em duas bandas intersticiais no braço longo do cromossomo X e em todo cromossomo Y. A banda R evidenciou regiões de replicação tardia nos cromossomo Y e no braço curto do X. Marcações de Ag-RON em um dos homólogos dos cromossomos 4 e 17 e em ambos os pares do 10 e 12. As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos.

2n=48 e NF=68 – *R. nitela*

Este cariótipo foi descrito para dois espécimes de Surumú, RR (Andrades-Miranda *et al.*, 2002), que possuem 11 pares de autossomos meta/submeta/subtelocêntricos de grande a pequenos e 12 pares de acrocêntricos médio a pequenos, com cromossomo X submetacêntrico grande e Y acrocêntrico pequeno. No bandejamento C, a maioria dos autossomos apresentou HC pericentromérica, bem como no braço curto do cromossomo X. As Ag-RONs se localizaram no braço curto dos pares 17 submetacêntrico e 4 e 10 acrocêntricos (identificados originalmente como 8, 16 e 22 pelos autores). As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos.

2n=48 e NF=66 – *R. nitela*

Variante do 2n=48/NF=68, foi observado em quatro espécimes (2 fêmeas e 2 machos) coletados em San Ignacio, no distrito de Bolivar, na Venezuela (Thomazini, 2009), e apresentou 10 pares de autossomos meta/submeta/subtelocêntricos de grande, sendo um par pequeno heteromórfico, formado por um metacêntrico e um subtelocêntrico (par 20) e 13 pares de acrocêntricos médio a pequenos. O cromossomo X é submetacêntrico grande e Y acrocêntrico pequeno.

#### 2n=48, NF=67 – *Rhipidomys aff. nitela 2*

Forma distinta do 2n=48/NF=68 e 66, foi descrito para uma fêmea das montanhas La Trinité na Guiana Francesa (Volobouev e Catzeflis, 2000), e apresentou 11 pares de autossomos meta/submeta/subtelocêntricos de grande a pequenos, sendo um par heterozigoto (par 18) e 12 pares de acrocêntricos, sendo um par grande (par 1) e 11 pares médio a pequenos (pares 2 a 12). O cromossomo X é um metacêntrico grande, o maior par do complemento, com o braço curto inteiramente heterocromático, superando o tamanho do braço longo eucromático. Os autossomos apresentaram HC pericentromérica, com heteromorfismos de quantidade, especialmente em pares com dois braços. O cromossomo X, além do braço curto heterocromático, apresenta duas bandas de HC intersticiais no braço longo. A banda R evidenciou replicação tardia em um dos cromossomo X.

#### Análise comparativa dos cariótipos de *Rhipidomys aff. nitela 1*, *Rhipidomys aff. nitela 2* e *R. nitela*

A variante de *Rhipidomys aff. nitela 1* (2n=50, NF=71) difere de 2n=50, NF=72 pela morfologia do par 20, que é heteromórfico, formado por um subtelocêntrico e um acrocêntrico, e com HC no braço curto do subtelocêntrico, enquanto o acrocêntrico não apresenta HC. As autoras (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999) mencionaram que provavelmente a diferença cromossômica não esteja restrita ao heteromorfismo do par 20 (referido como par 8 pelas autoras) e destacam a marcação diferencial de Ag-RON em dois pares cromossômicos, sendo o par 22 no NF=72 e par 10 no NF=71 e a diferença no tamanho do cromossomo Y. No entanto, interpretamos que esses pares são idênticos, sendo o par 10 em ambos os cariótipos. Com a reinterpretação dos cariótipos, não há diferença no cromossomo Y.

A variante de *R. nitela* com 2n=48, NF=66 difere de 2n=48, NF=68 pela morfologia do par 19, que é homomórfico subtelocêntrico (NF=68) e heteromórfico (metacêntrico e subtelocêntrico) em NF=66 (par 20). Além disso, há um par acrocêntrico médio a mais no NF=66 e um metacêntrico médio a mais (par 20) no NF=68, podendo ser o mesmo par, resultado de um processo de inversão pericêntrica/reposicionamento centromérico.

O cariótipo de *Rhipidomys aff. nitela 2* (2n=48, NF=67) difere de *R. nitela* (2n=48, NF=68) pela presença de um par acrocêntrico grande no 2n=48, NF=67 (par 1, correspondente em tamanho ao submetacêntrico grande 13 do 2n=48, NF=68), que pode ser decorrente de um

processo de inversão pericêntrica/reposicionamento centromérico; além da morfologia de um par heteromórfico (par 18 no NF=67) subtelocêntrico e acrocêntrico médios, correspondente em tamanho ao par 1 acrocêntrico médio do  $2n=48/NF=68$ . Assim, dadas as variações observadas, considera-se a forma  $2n=48, NF=67$  distinta das formas com  $FN=68$  e  $66$ .

Comparando os cariótipos de *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 ( $2n=50, NF=72$ ) e *R. nitela* ( $2n=48, NF=68$ ) observamos que ambos os cariótipos possuem o mesmo número de pares acrocêntricos (13 pares), porém  $2n=50, NF=72$  possui um par a mais de metacêntrico médio (par 19), cuja diferença não pode ser explicada por um rearranjo simples do tipo inversão pericêntrica/reposicionamento centromérico ou fusão (cêntrica ou em tandem). Aparentemente há correspondência entre os pares 4, 10 e 17 marcados por Ag-ROn em ambos os cariótipos, sendo que o  $2n=50, NF=72$ , teve um par a mais (par 12) com marcação. Assim, dadas as variações observadas, considera-se a forma  $2n=48, NF=68$  e  $66$  distintas das formas com  $2n=44, NF=72$  e  $71$ .

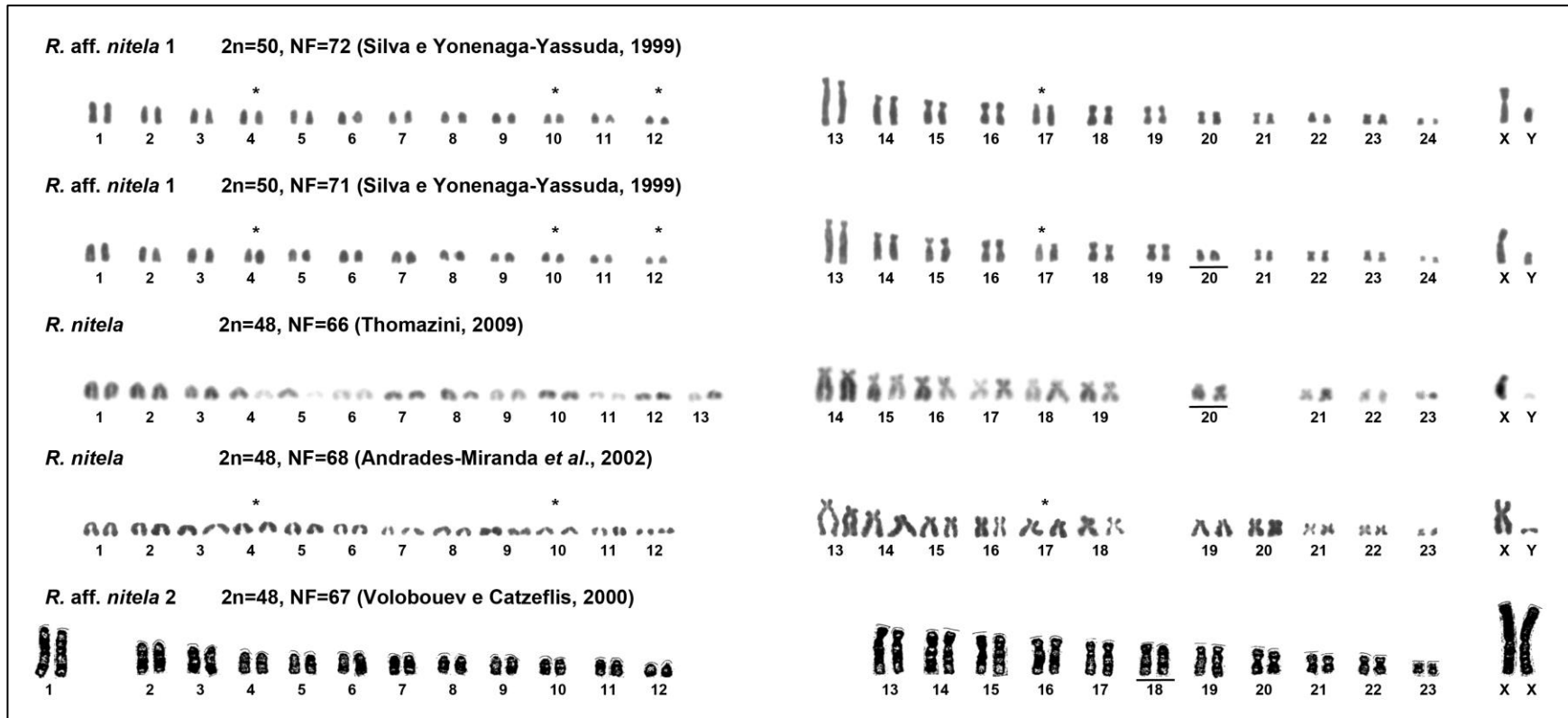
Além das distinções entre as três estruturas cariotípicas, observa-se que cada uma apresenta distribuição geográfica distinta ([Figura 2](#)), com os espécimes de  $2n=50, NF=71$  e  $72$  ocorrendo na mesma localidade (Manaus); os espécimes de Roraima e Bolívar (Venezuela)  $2n=48, NF=66$  e  $68$  distam apenas cerca de 150 km um do outro e mais de 750 km dos demais; e o de La Trinité (Guiana Francesa) encontra-se afastado cerca de 900 km das demais carioformas. A localidade-tipo da espécie *R. nitela* é em Takutu-Upper Essequibo (Guiana), aproximadamente a 200 km do espécime de  $2n=48, NF=68$  e 300 km do  $2n=48, NF=66$  e afastado no mínimo 650 km das demais.

**Tabela 1** – Cariótipos de *Rhipidomys* analisados e da literatura.

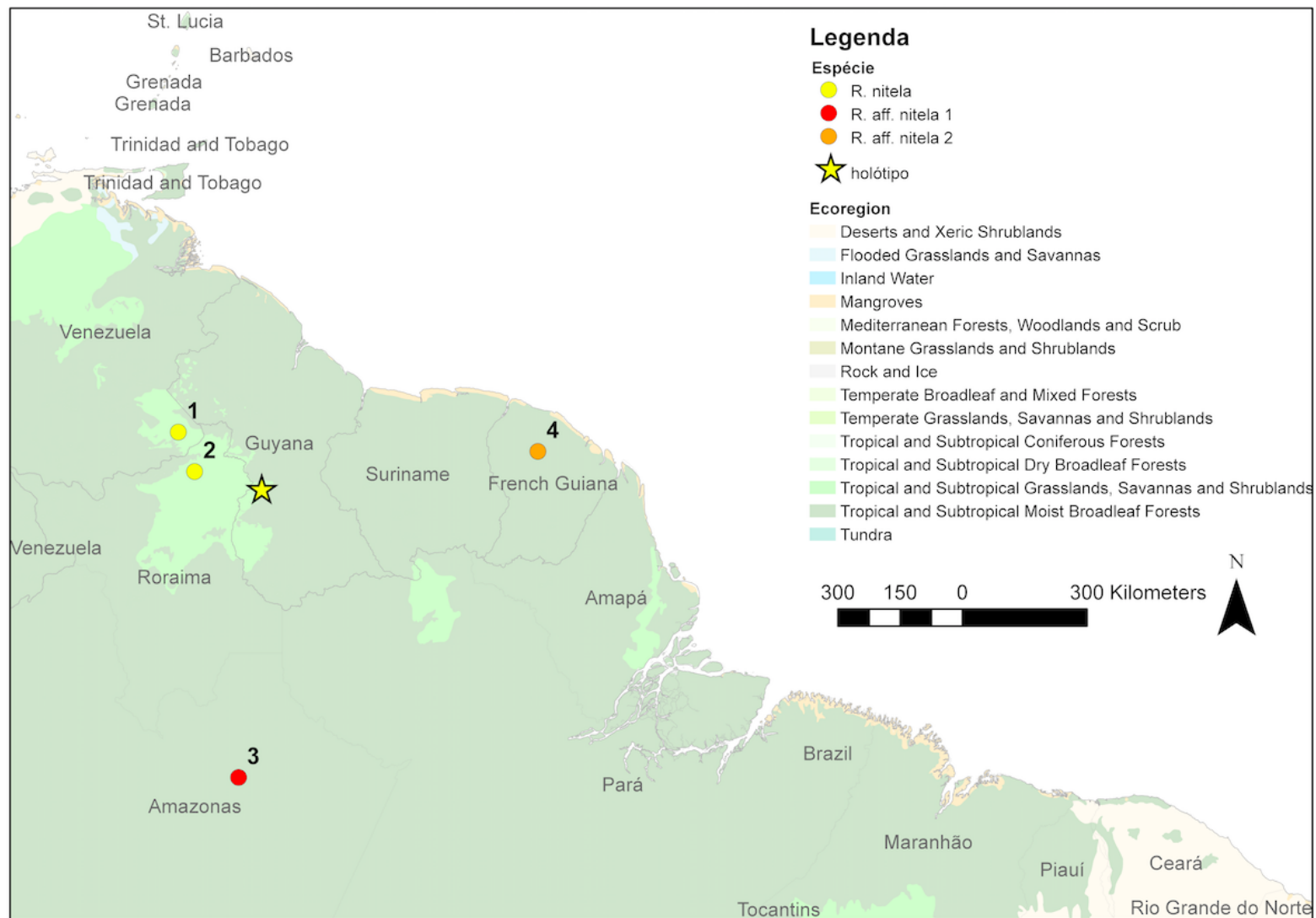
Revisado no presente estudo							Conforme autor original							n	Colorações	Localidade	N	Referências
Espécie	Morfologia dos Cromossomos						Espécie	Morfologia dos Cromossomos										
	2N	NF	M/SM/ST	A	X	Y		2N	NF	M/SM/ST	A	X	Y					
<i>R. nitela</i>	48	66	10	13	SM g	A p	<i>R. nitela</i>	48	66	10	13	SM g	A p 2f, 2m	Convencional	Venezuela, Bolívar, San Ignacio	1	Thomazini, 2009	
<i>R. nitela</i>	48	68	11	12	SM g	A p	<i>R. nitela</i>	48	68	11	12	SM g	A p	Convencional, C, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, RR, Surumú	2	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002	
<i>R. aff. nitela</i> 1	50	72	12	12	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp. B	50	72	12	12	SM g	A m	1m	Convencional, C, G, R, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, AM, Manaus	3	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999
<i>R. aff. nitela</i> 1	50	71	11,5	12,5	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp. B	50	71	11,5	12,5	SM g	A p	1m	Convencional, C, R, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, AM, Manaus	3	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999
<i>R. aff. nitela</i> 2	48	67	10,5	12,5	M g	ND	<i>R. nitela</i>	48	67	10,5	12,5	M g	ND	1f	C, G, R	Guiana Francesa, Saint-Élie	4	Volobouev e Catzeffis, 2000
<i>R. ipukensis</i>	44	80	19	2	A m	A p	<i>R. ipukensis</i>	44	80	19	2	A m	A p	1m	Convencional	Brasil, TO, Peixe	5	<b>Presente estudo</b>
<i>R. ipukensis</i>	44	80	19	2	A m	A p	<i>R. mastacalis</i> cit. 1	44	80	19	2	A m	A p	2	Convencional, C, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, GO, Colinas do Sul e Uruaçu	6,7	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
<i>R. ipukensis</i>	44	80	19	2	A m	A p	<i>R. mastacalis</i> cit. 2	44	76	17	4	A m	A p	12	Convencional, C, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, GO, Colinas do Sul, Uruaçu, Minaçu e Niquelândia	6,7,8,9	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
<i>R. mastacalis</i>	44	alto					<i>R. cearanus</i>	44	alto					3	(sem foto)	Brasil, PE, Serra dos Cavalos, São Caitano		Zanchin <i>et al.</i> , 1992
<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	Ap	3m	Convencional	Brasil, ES, Águia Branca	21	<b>Presente estudo</b>
<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A g	A p 4f, 1m	1m	Convencional, C, G, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, MG, Morro do Pilar e Rio Doce	10,11	Carvalho, 2009
<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A	A p	1f	(sem foto)	Brasil, MG, Lagoa Santa	12	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	15	6	A m	A p 3f, 4m	Convencional	Brasil, BA, Itajú do Colônia; Una	13,14	<b>Presente estudo</b>	
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A	A p	1f	Convencional, C, G	Brasil, BA, Una, Fazenda Unacau	14	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	-	44	72	15	6	A m	A p 7f, 6m	Convencional, C	Brasil, BA, Una	14	Thomazini, 2009	
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	70	14	7	SM g	A p 4f, 2m	Convencional, G	Brasil, BA, Ilhéus, Centro Experimental Almada; Jussari, RPPN	15,16	Sousa, 2005	
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	70	14	7	SM g	A p	1f	(sem foto)	Serra do Teimoso	17	Sousa, 2005
<i>R. aff. mastacalis</i> 1	44	72	15	6	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	70	14	7	SM g	A p	1f	(sem foto)	Brasil, PE, Brejo da Madre de Deus	18	Sousa, 2005
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	Ap	7f, 4m	Convencional, C, Ag-RON	Brasil, ES, Cariacica; Muqui; Santa Teresa	19,20,22	<b>Presente estudo</b>
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m/SM m	A p 7f, 6m	Convencional, C	Brasil, ES, Cariacica	19	Thomazini, 2009	
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	A p	ND	44	74	16	5	A m	A p	1m	(sem foto)	Brasil, ES, Itaguaçu	23	Thomazini, 2009
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	A p 2f, 3m	(sem foto)	Brasil, ES, Muqui; Águia Branca	20,21	Thomazini, 2009	
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	ND	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	ND	1f	(sem foto)	Brasil, ES, Cariacica	19	Paresque <i>et al.</i> , 2004
<i>R. aff. mastacalis</i> 2	44	74	16	5	A m	A p	<i>R. mastacalis</i>	44	74	16	5	A m	A p 1f, 3m	Convencional	Brasil, RJ, Cabo Frio, Casimiro de Abreu	24,25	Geise, 1995	
<i>R. leucodactylus</i>	44	48	3	18	A m	A p	<i>R. leucodactylus</i>	44	48	3	18	A	A p	1m	Convencional	Brasil, RO, Candeias do Jamari, Rio Jamari	26	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
<i>R. leucodactylus</i>	44	48	3	18	A m	A p	<i>R. leucodactylus</i>	44	46	2	19	A m	A p	7	Convencional	Brasil, AM, Rio Jurua	27	Patton <i>et al.</i> , 2000
<i>R. coesi</i>	44	48	3	18	SM m	A p	<i>R. sclateri</i> ( <i>coesi</i> )	44	48	3	18	SM m	A p 1f, 4m	Convencional	Venezuela, Anzoátegui, Cueva Del Agua	28	Aguilera <i>et al.</i> , 1994	
<i>R. latimanus</i>	44	48	3	18	A	A	<i>R. latimanus</i>	44	48	3	18	A	A	ND	(sem foto)	Colômbia, Valle, Peñas Blancas	29	Gardner e Patton, 1976
<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p	1f	Convencional	Brasil, PE, Buique	30	<b>Presente estudo</b>
<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p 2f, 2m	Convencional, Ag-RON	Brasil, CE, Crato	31	<b>Presente estudo</b>	
<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	ND	-	44	50	4	17	SM g	ND	1f	(sem foto)	Brasil, PE, Buique	30	Thomazini, 2009
<i>R. cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. cariri cariri</i>	44	50	4	17	SM g	A p 2f, 1m	(sem foto)	Brasil, CE, Crato	31	Thomazini, 2009	
<i>R. gardneri</i>	44	50	4	17	SM g	ND	<i>R. gardneri</i>	44	50	4	17	ST m	ND	1f	Convencional	Brasil, Porto Walter, AC	33	Patton <i>et al.</i> , 2000
<i>R. itoan</i>	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. itoan</i>	44	50	4	17	SM g	A p 1f, 2m	Convencional	Brasil, SP, Cotia	34	<b>Presente estudo</b>	
<i>R. itoan</i>	44	50	4	17	SM g	A p	-	44	50	4	17	SM m	A m 2f, 1m	Convencional	Brasil, SP, Cotia	34	Thomazini, 2009	
<i>R. itoan</i>	44	48	3	18	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	48	3	18	SM g	A p 1f, 1m	Convencional	Brasil, RJ, Magé, Garrafão	35	Geise, 1995	
<i>R. itoan</i>	44	49	3,5	17,5	SM g	ND	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	49	3,5	17,5	SM g	ND	1f	C, G, R, Ag-RON	Brasil, SP, Casa Grande	36	Svartman e Almeida, 1993
<i>R. itoan</i>	44	50	4	17	SM g	ND	<i>R. itoan</i>	44	50	4	17			1f	Convencional	Brasil, SP, Parque estadual Serra do 37		Di-Nizo <i>et al.</i> , 2014

Revisado no presente estudo							Conforme autor original							n	Colorações	Localidade	N	Referências
Espécie	Morfologia dos Cromossomos						Espécie	Morfologia dos Cromossomos										
	2N	NF	M/SM/ST	A	X	Y		2N	NF	M/SM/ST	A	X	Y					
<i>R. itoan</i>	44	50	4	17	SM g/ A m	A p	<i>R. itoan</i>	44	48-50	3-4	18-17	SM g	A p	26	Convencional	Mar		Costa <i>et al.</i> , 2011
<i>R. macconnelli</i>	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. macconnelli</i>	44	50	4	17	SM g	A p	1f, 2m	(sem foto)	Venezuela, Bolivar, La Escalera	38	Aguilera <i>et al.</i> , 1994
<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	1m	Convencional	Brasil, MS, Dourados	39	<b>Presente estudo</b>
<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	1f, 1m	Convencional	Brasil, MG, Nova Ponte	40	<b>Presente estudo</b>
<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	1f, 1m	(sem foto)	Brasil, MG, Nova Ponte, Mata do Vasco	40	Thomazini, 2009
<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	A p	-	44	50	4	17	A m	A p	1m	(sem foto)	Brasil, TO, Jalapão	41	Thomazini, 2009
<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	A p	-	44	48	3	18	A m	A p	ND	(sem foto)	Brasil, MG, Formoso	42	Thomazini, 2009
<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	A p	-	44	48	3	18	A m	A p	ND	(sem foto)	Brasil, TO, Ponte Alta do Tocantins	43	Thomazini, 2009
<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	A p	<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	A p	1m	(sem foto)	Brasil, BA, Lençóis, Remanso	44	Pereira e Geise, 2007
<i>R. macrurus</i>	44	49	3,5	17,5	A m	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	49	3,5	17,5	A g	A p	1m	C, G, R, Ag-RON	Brasil, GO, Distrito Federal, Granja do Ipê	45	Svartman e Almeida, 1993
<i>R. macrurus</i>	44	49	3,5	17,3	A m	A p	<i>R. macrurus</i> (m)	44	49	3,5	17,5	A m	A p		Convencional, C, G, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, MG, Vargem Bonita	46	Carvalho, 2009
<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	ND	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	48	3	18	A g	ND	1f	C, G, R, Ag-RON	Brasil, GO, Distrito Federal, Reserva Biológica Águas Emendadas	47	Svartman e Almeida, 1993
<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	A m	A p	<i>R. leucodactylus</i>	44	48	3	18	A m	A p	5	Convencional, C, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, GO, Serra da Mesa; Ipameri/Caldas Novas/Corumbaíba	48,49,50	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	2f, 1m	Convencional, Ag-RON	Brasil, ES, Ibitirama; Muqui	51,52	<b>Presente estudo</b>
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	ND	<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	A m	ND	2f	(sem foto)	Brasil, ES, Ibitirama	51	Thomazini, 2009
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	-	44	50	4	17	A m	A p	1m	Convencional	Brasil, ES, Muqui	52	Thomazini, 2009
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	50	4	17	A m	A p	1m	Convencional, C, G	Brasil, ES, Venda Nova, Monte Verde	53	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>R. macrurus</i> (f)	44	50	4	17	A m	A p	1f	Convencional, C, G, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, MG, Santa Barbara	54	Carvalho, 2009
<i>R. tribei</i>	44	50	4	17	A m	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	50	4	17	A m	A p	2	Convencional	Brasil, MG, Lavras	55	Gouveia, 2007
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g/ A m	A p	<i>R. macrurus</i>	44	50	4	17	ST g	A p	4f, 2m	Convencional, G	Brasil, PI, Bom Jesus; Caracol	32	Sousa, 2005
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	ND	<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	16	SM g	ND	1f	Convencional, C	Brasil, MG, Coronel Murta	56	<b>Presente estudo</b>
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	16	SM g	A p	2m	Convencional	Brasil, BA, Andaraí	57	<b>Presente estudo</b>
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	A p	<i>R. cariri</i>	44	48	3	18	SM g	A p	3f, 2m		Brasil, MG, Berilo	58	Carvalho, 2009
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.3	44	50	4	17	SM g	ND	1f	(sem foto)	Brasil, MG, Coronel Murta	56	Thomazini, 2009
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.3	44	50	4	17	SM g	A m	1m	(sem foto)	Brasil, BA, Andaraí	57	Thomazini, 2009
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	50	4	17	SM g	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.3	44	50	4	17	SM g	A p	1f, 1m	Convencional	Brasil, BA, Andaraí	57	Thomazini, 2009
<i>Rhipidomys</i> sp.1	44	48	3	18	SM g	A p	<i>R. macrurus</i>	44	48	3	18	SM g	M p	1m	(sem foto)	Brasil, TO, Ipueiras; Lajeado	58	Saranholi BH <i>et al.</i> , 2008; Lima e Kasahara, 2003
<i>R. emiliae</i>	44	52	5	16	A m	A p	<i>R. emiliae</i>	44	52	5	16	A m	A p	4f, 4m	Convencional	Brasil, MT, Ribeirãoascalheira; Barra do Garças	59,6	<b>Presente estudo</b>
<i>R. emiliae</i>	44	52	5	16	A m	A p	<i>Rhipidomys</i> sp.	44	50	4	17	SM g	A p	5f, 1m	(sem foto)	Brasil, MT, Ribeirãoascalheiras	59	Thomazini, 2009
<i>R. emiliae</i>	44	52	5	16	A m	A p	<i>R. leucodactylus</i> cit. 1	44	52	5	16	A m	A p	6	Convencional, C, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, GO, Serra da Mesa	61	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
<i>R. emiliae</i>	44	52	5	16	A m	A p	<i>R. cf. mastacalis</i>	44	52	5	16	A m	A p	4f, 2m	Convencional, C, G, R, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, MT, Vila Rica	62	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999
<i>Rhipidomys</i> sp.2	44	52	5	16	A m	A p	<i>R. cf. mastacalis</i>	44	52	5	16	A m	ND	1f	Convencional, C, G, R, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, MT, Aripuanã	63	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999
Híbrido <i>R. aff. mastacalis</i> 1 x <i>Rhipidomys</i> sp.1	44	61	9,5	11,5	A m/ SM g	ND	<i>Rhipidomys</i> sp. A	44	61	9,5	11,5	A m/ SM g	ND	1f	Convencional, C, G, R, Ag-RON, telomeric FISH	Brasil, BA, Morro do Chapéu	64	Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999

2n – número diploide, NF – número fundamental; Número de pares: M – metacêntricos, SM – submetacêntricos, ST – subtlocêntricos, e A – acrocêntricos; Morfologia dos cromossomos: X – cromossomo X, Y – cromossomo Y; Tamanhos dos cromossomos: p – pequeno, m – médio, g – grande; n – número de espécimes amostrados; f – fêmea, m – macho; C, G e R – bandeamentos C, G e R, respectivamente; Ag-RON – coloração das Regiões Organizadoras de Nucléolo pelo Nitrato de Prata; Telomeric FISH – hibridação fluorescente *in situ* com sondas teloméricas.



**Figura 1.** Cariótipos reinterpretados de *Rhipidomys nitela*: 2n=50, NF=72 e 71 (retirado de Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999); 2n=48, NF=66 (retirado de Thomazini, 2009); 2n=48, NF=68 (retirado de Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 2n=48, NF=67 (retirado de Volobouev e Catzefflis, 2000). Os pares foram reorganizados conforme sua equivalência em tamanho e morfologia. Sublinhados estão os pares heteromórficos. Os asteriscos sinalizam os pares portadores de Ag-RONs (reinterpretadas a partir da figura original).



**Figura 2.** Mapa da distribuição de *Rhipidomys nitela*: 2n=50, NF=72 e 71 (ponto 3) (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999); 2n=48, NF=66 (ponto 1) (Thomazini, 2009); 2n=48, NF=68 (ponto 2) (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 2n=48, NF=67 (ponto 4) (Volobouev e Catzefflis, 2000). A estrela amarela indica a localidade do holótipo da espécie (Takutu-Upper Essequibo, Guiana). Localidades numeradas conforme Tabela 1.

### **Rhipidomys de 2n= 44 e NF alto**

Nesse grupo se encontram os espécimes associados a *R. ipukensis* com 2n=44/NF=80 de Tocantins e Goiás (associado pela primeira vez a essa espécie); *R. mastacalis* com 2n=44/NF=74 de Minas Gerais (incluindo a localidade-tipo); *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 com 2n=44 e NF=72 da Bahia, Ceará e Pernambuco; e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2 com 2n=44 e NF=74 do Espírito Santo e Rio de Janeiro ([Figura 3](#), [Tabela 1](#)).

#### 2n=44, NF= 80 – *Rhipidomys ipukensis*

O cariótipo de um macho coletado em Peixe, TO, presente estudo, apresentou 2n=44, NF=80 composto por 19 pares de cromossomos meta/submeta/subtelocêntricos com variação gradativa de tamanho, incluindo o menor par do complemento, e dois pares de cromossomos acrocêntricos, 1 grande, maior par do complemento, e 1 pequeno. O cromossomo X é acrocêntrico médio e o cromossomo Y um acrocêntrico pequeno, com tamanho próximo ao menor par do complemento ([Figura 3](#)). Este exemplar mostrou 100% de similaridade da sequência CitB com *R. ipukensis*, essa é a primeira descrição cariotípica para a espécie recém descrita por Rocha *et al.* (2011).

O cariótipo é idêntico a um cariótipo descrito para dois espécimes de Goiás referido como *R. mastacalis* citótipo 1 e para outros 12 espécimes, *R. mastacalis* citótipo 2, também de Goiás, porém descritos como 2n=44 e NF=76 (Andrades-Miranda *et al.*, 2002). Essa identificação equivocada da morfologia dos cromossomos pode ser explicada pela grande condensação dos cromossomos.

Os dados do presente estudo confirmam o sugerido por Tribe (2015) de que se tratava de *R. ipukensis*. Andrades-Miranda *et al.* (2002) descrevem poucas regiões heterocromáticas evidenciadas pelo bandeamento C, região pericentromérica do cromossomo X e de acrocêntricos; que cinco pares metacêntricos pequenos (7, 9, 13, 15 e 19) e o par acrocêntrico pequeno (21) são portadores de RON e que as regiões teloméricas estão localizadas nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos pela técnica de FISH.

Baseado no cariótipo encontrado e nos disponíveis na literatura, amplia-se a distribuição geográfica da espécie, que antes possuía registros apenas no Tocantins, para o norte de Goiás ([Figura 4](#)).

2n=44, NF=74 – *Rhipidomys mastacalis*

No presente estudo encontramos este cariótipo em três indivíduos machos de Águia Branca no Espírito Santo. O cariótipo apresentou 16 pares de meta/submeta/subtelocêntricos com variação gradual de tamanho e 5 pares acrocêntricos, sendo o maior par de complemento e quatro pequenos. O cromossomo X é acrocêntrico médio e cromossomo Y acrocêntrico pequeno. A banda C mostrou HC nas regiões pericentroméricas em metade dos cromossomos, inclusive no maior acrocêntrico, no braço curto do cromossomo X e no cromossomo Y inteiro. O mesmo cariótipo foi descrito para Lagoa Santa (localidade tipo de *Rhipidomys mastacalis*), Rio Doce e Morro do Pilar em Minas Gerais (Zanchin *et al.*, 1992 e Carvalho, 2009)., Marcações por Ag-RON foram registradas em pelo menos seis pares autossômicos: um dos maiores pares submetacêntricos (par 8) com marcação terminal no braço curto; em três pares meta/submetacêntricos médios (pares 12, 14 e 15), com marcação terminal em um dos braços; o menor par do complemento (par 21), que apresentou marcação na região terminal de um dos braços (Carvalho, 2009). As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos (Carvalho, 2009).

2n=44, NF=72 – *Rhipidomys aff. mastacalis* 1

Este cariótipo foi encontrado para o sul da Bahia (Una e Itajú do Colônia) em três fêmeas e quatro machos, com 15 pares de cromossomos meta/submeta/subtelocêntricos com variação gradual de tamanho e 6 pares acrocêntricos, sendo incluídos o maior e menor par do complemento. O cromossomo X é um acrocêntrico médio e cromossomo Y um acrocêntrico pequeno (presente estudo e Thomazini, 2009). A HC foi observada nas regiões pericentroméricas de metade dos cromossomos, inclusive no maior par acrocêntrico, no braço curto do cromossomo X e no cromossomo Y inteiro (Thomazini, 2009).

Esse cariótipo já havia sido descrito para Una (BA) com 2n=44 e NF=74 (Zanchin *et al.*, 1992), e para Bahia, Ceará e Pernambuco 2n=44, NF=70 (Sousa, 2005), porém no primeiro caso a morfologia do menor par foi equivocadamente identificada como metacêntrico e no segundo foi a determinação do cromossomo X.

### 2n=44, NF=74 – *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2

Quatorze espécimes (7 fêmeas e 7 machos) das localidades de Cariacica, Muqui e Santa Teresa no Espírito Santo apresentaram 16 pares de cromossomos meta/submeta/subtelocêntricos com variação gradual de tamanho e 5 pares acrocêntricos, incluindo o maior e menor pares do complemento. O cromossomo X é acrocêntrico médio e o cromossomo Y um acrocêntrico pequeno. Este cariótipo é o mesmo encontrado por Paresque *et al.* (2004) para Cariacica (ES) e Geise (1995) para Casimiro de Abreu (RJ). A banda C evidenciou HC na região pericentromérica de alguns pares, especialmente os acrocêntricos, no braço curto do cromossomo X e cromossomo Y inteiro. Marcações de Ag-RON foram registradas na região terminal de 2 a 3 pares de meta e submetacêntricos médios ([Figura 5](#)).

### Análise comparativa de *Rhipidomys* de 2n=44 e número fundamental alto

Anteriormente costumavam tratar o cariótipo com NF=74 de Minas Gerais (*R. mastacalis*) e os do Espírito Santo e Rio de Janeiro (*Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2), como sendo um único cariótipo, 2n=44, NF=74 (Zanchin *et al.*, 1992; Paresque *et al.* 1994; Geise, 2005, Carvalho, 2009). Porém, a reinterpretação desses cariótipos permitiu concluir que se tratam de dois cariótipos discretamente distintos em relação à dois pares cromossômicos: os cariótipos do Espírito Santo e Rio de Janeiro apresentam um par minúsculo acrocêntrico (par 5) enquanto os de Minas Gerais apresentam esse par metacêntrico (par 21); além disso os cariótipos do Espírito Santo e Rio de Janeiro apresentam um par metacêntrico médio (par 16) enquanto os de Minas Gerais apresentam esse par como acrocêntrico (par 3). Assim, embora os dois cariótipos sejam distintos por provavelmente dois eventos de inversão pericêntrica/reposicionamento centromérico, o NF se manteve igual.

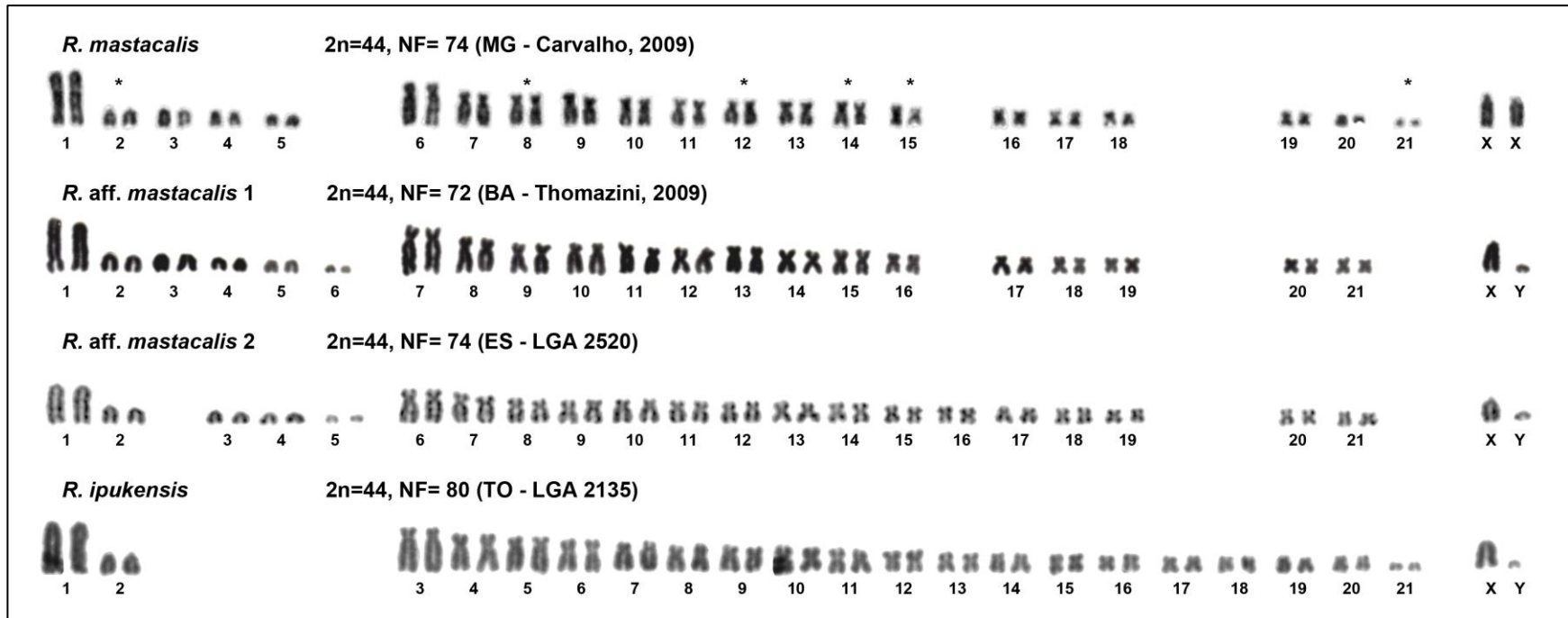
O cariótipo de *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 (2n=44, FN=72) é inédito na literatura e não está associado a uma espécie. Difere das formas com NF=74 de *R. mastacalis* por não possuir o menor par como metacêntrico, similar a *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2.

O cariótipo com 2n=44, FN=80 de *R. ipukensis* parece ser o mais derivado de todos desse grupo, por possuir o menor número de pares acrocêntricos e maior número de pares meta/submeta/subtelocêntricos, sugerindo a ocorrência de vários eventos de inversão pericêntrica/reposicionamento centromérico.

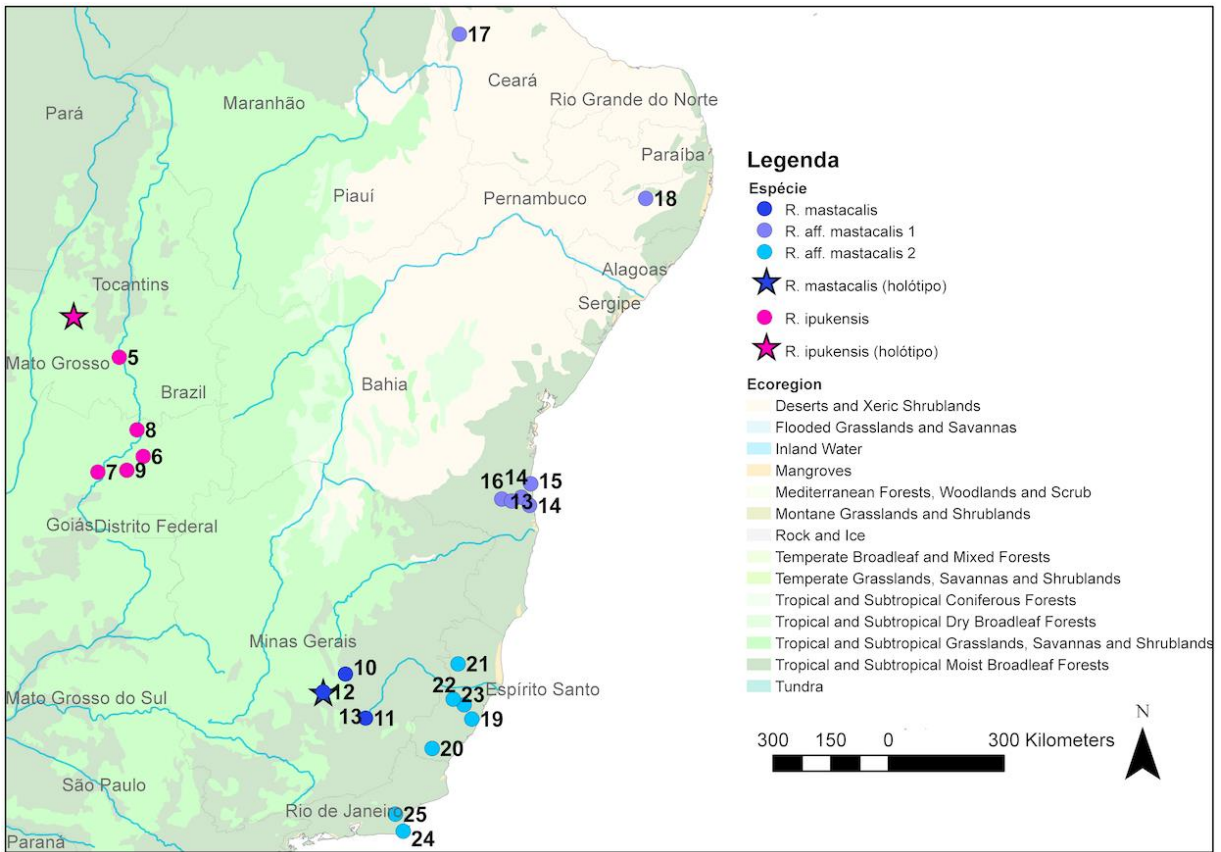
Todos os cariótipos possuem cromossomo X acrocêntrico médio com um discreto

braço curto e o cromossomo Y, quando presente, acrocêntrico pequeno de tamanho entre o menor e o segundo menor par cromossômico do complemento.

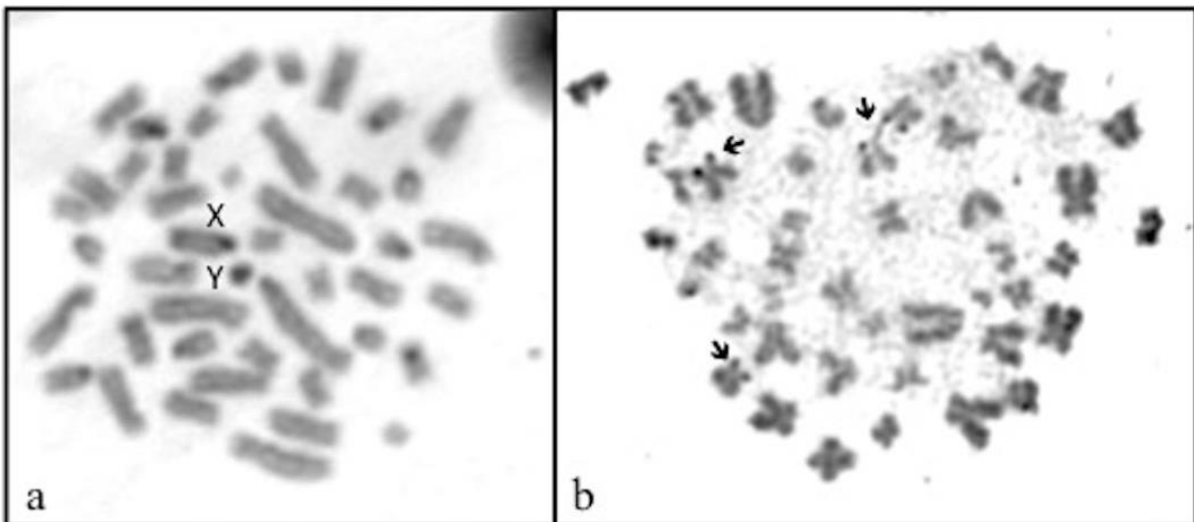
Geograficamente, as espécies desse grupo possuem preferência por ambientes florestais, com *R. ipukensis* ocorrendo na Floresta Amazônica e *R. mastacalis*, *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 e 2 na Mata Atlântica. *R. mastacalis* e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2 são separados pela Serra do Espinhaço, enquanto o rio Jequitinhonha, que tem origem em Minas Gerais e atravessa o sul da Bahia até desaguar no oceano Atlântico separa *R. mastacalis* e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 ([Figura 4](#)).



**Figura 3.** Cariótipos das espécies com 2n=44, NF alto. *Rhipidomys mastacalis* 2n=44, NF=74 (MG) (retirado de Carvalho, 2009), *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 2n=44, NF=72 (BA) (Thomazini, 2009); *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2 2n=44, NF=74 (ES, presente estudo); e *Rhipidomys ipukensis* 2n=44, NF=80 (TO, presente estudo). Os pares foram reorganizados conforme sua equivalência em tamanho e morfologia. Os asteriscos sinalizam os pares portadores de Ag-RONs (reinterpretadas a partir da figura original).



**Figura 4.** Mapa da distribuição de *Rhipidomys ipukensis*, 2n=44, NF=80; *R. mastacalis*, 2n=44, NF=74; *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1, 2n=44, NF=72; e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2, 2n=44, NF=74.



**Figura 5.** Pranchas dos bandeamentos de *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2, 2n=44, NF=74 (ES- LGA 2520) (a) bandas C e (b) Ag-RON, com setas indicando quatro marcações de Ag-RONS.

### **Rhipidomys de 2n=44 e NF baixo**

Foram observadas 11 espécies com NF variando de NF= 48 (*R. leucodactylus*, *R. coesi* e *R. latimanus*), NF=50 (*R. cariri*, *R. gardneri*, *R. macconnelli*, *R. tribei* e *Rhipidomys* sp.1), NF=48, 49 e 50 (*R. macrurus*, *R. itoan*) e NF=52 (*R. emiliae*, *Rhipidomys* sp.2) ([Figuras 6 e 7](#), [Tabela 1](#)).

#### 2n=44, NF=48 – *Rhipidomys leucodactylus*

Os cariótipos associados à esta espécie são de um exemplar macho do Rio Jamari (RO) (Zanchin *et al.*, 1992) e sete espécimes de Rio Juruá (AM) (Patton *et al.*, 2000), com 18 pares acrocêntricos e os três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é um acrocêntrico médio e o Y um acrocêntrico pequeno.

Outros cariótipos foram associados a *R. leucodactylus* na literatura, com NF variando de 46 a 52. Tribe (2015) associou NF=52 de Aripuanã, MT (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1992) e de Serra da Mesa, GO (Andrades-Miranda *et al.*, 2002) a *R. leucodactylus*, porém sua forma cariotípica foi associado no presente estudo a *R. emiliae*, que ocorre em Mato Grosso. Andrades-Miranda *et al.* (2002) associaram NF=48 de Serra da Mesa (GO) a *R. leucodactylus*, porém esse cariótipo foi associado a *R. macrurus*.

#### 2n=44, NF=48 – *Rhipidomys coesi*

Aguilera *et al.*, (1994) descreveram esse cariótipo para 4 machos e 1 fêmea de Cueva del Agua, Anzoátegui na Venezuela, sendo posteriormente foi atribuído à *R. coesi* (Tribe, 2015), com 18 pares acrocêntricos e os três pares meta/submetacêntricos, cromossomo X submetacêntrico e cromossomo Y acrocêntrico pequeno.

#### 2n=44, NF=48 – *Rhipidomys latimanus*

O cariótipo foi mencionado para a localidade de Peñas Blancas, Valle del Cauca na Colômbia (Gardner e Patton, 1976) com cromossomos X e Y acrocêntricos.

#### 2n=44, NF=50 – *Rhipidomys cariri*

É descrito para duas fêmeas e dois machos de Crato (CE) e uma fêmea de Buíque (PE) no presente estudo, com 17 pares acrocêntricos com variação gradual de tamanho, um par subtelocêntrico médio, e os três pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é

submetacêntrico grande e o Y acrocêntrico pequeno. Após análise da sequência do gene CitB, os espécimes foram associados a *R. cariri*, concordando com Tribe (2015) e, portanto ampliando a distribuição da espécie para Pernambuco. Apresentou marcações de Ag-RON em três pares de autossomos acrocêntricos pequenos e em um par grande, par 3 ([Figura 9](#)).

2n=44, NF=50 – *Rhipidomys gardneri*

Foi descrito para uma fêmea de Porto Walter (AC) por Patton *et al.* (2000) e a partir da reinterpretção do cariótipo verificou-se que apresenta NF=50, com 17 pares acrocêntricos de grande a pequenos, um par subtlocêntrico médio e os três menores pares metacêntricos/submetacêntricos. O cromossomo X é subtlocêntrico grande. A morfologia do cromossomos X foi identificada incorretamente no artigo original como um submetacêntrico, porém não altera a contagem do número fundamental.

2n=44, NF=48, 49 e 50 – *Rhipidomys itoan*

É descrito no presente estudo para uma fêmea e dois machos de Cotia (SP) com NF=50, sendo 17 pares acrocêntricos com variação gradual de tamanho, grandes a pequenos, um par subtlocêntrico médio e os três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é submetacêntrico grande e o Y um acrocêntrico pequeno. Svartman e Almeida (1993) descrevem esse cariótipo com NF=49 e o par 18 (par 10 para as autoras) heteromórfico, formado por um acrocêntrico e um subtlocêntrico, para Casa Grande (SP), sem identificar a nível específico. Geise (1995) com NF=48 descreveu o cariótipo, com par 18 homomórfico subtlocêntrico, para Majé (RJ). Cariótipos iguais com NF=48 foi descrito para o Parque Estadual Serra do Mar (SP) e (Di-Nizo *et al.*, 2014). Costa *et al.* (2011) descreveram *R. itoan* associando um cariótipo com NF=48-50, mas esses cariótipos foram reinterpretados e correspondem ao com NF=50.

2n=44, NF=50 – *Rhipidomys macconnelli*

Um único cariótipo foi mencionado por Aguilera *et al.* (1994) para três espécimes, uma fêmea e dois machos de La Escalera, Bolivar, na Venezuela. O cariótipo é composto por 17 pares acrocêntricos, um par subtlocêntrico médio e os três menores pares meta/submetacêntricos. Cromossomo X é um submetacêntrico médio e o cromossomo Y acrocêntrico pequeno.

2n=44, NF=48, 49 e 50 – *Rhipidomys macrurus*

É descrito no presente estudo o cariótipo observado para uma fêmea e um macho de Nova Ponte (MG) e um macho de Dourados (MS) apresentando NF=50, com 17 pares acrocêntricos grandes a pequenos, 1 par submetacêntrico médio e os 3 três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é acrocêntrico médio e cromossomo Y um acrocêntrico pequeno.

O cariótipo é semelhante ao descrito por Svartman e Almeida (1993) para o Distrito Federal (GO) com NF=48 e 49, porém reinterpretao que o par 10 assumo a forma homomórfica subteloentríca. No referido trabalho, foi constatada a presença de pouca HC na região pericentromérica de alguns pares de autossomos, além de uma marcação intersticial na região proximal do par 1, região pericêntrica do cromossomo X e todo o cromossomo Y. As marcações de Ag-RON foram observadas no braço curto dos cromossomos acrocêntricos do macho, tendo até seis cromossomos marcados.

O cariótipo com 2n=44, NF=48 descrito para Serra da Mesa e Ipameri (GO) e identificado como *R. leucodactylus* (Andrades-Miranda *et al.*, 2002) foi reinterpretao e pertence à *R. macrurus*, pois os cromossomos apresentam morfologia semelhante ao descrito por Svartman e Almeida (1993), ocorrem no mesmo estado, além de apresentarem as mesmas marcações no bandeameto C em poucos pares autossômicos (4 pares acrocêntricos, cromossomo Y totalmente heterocromático), e por Ag-RON em pares acrocêntricos (pares 8 e 11).

*R. macrurus* macho de Vargem Bonita (MG) descrito por Carvalho (2009) com NF=49 apresentou o par 10 heteromórfico, e os mesmos registros de HC em cerca de metade dos cromossomos incluindo o braço curto do cromossomo X e o cromossomo Y inteiro. As marcações de Ag-RON desse espécime, assim como as demais, foram restritas aos pares acrocêntricos médios, um a cinco pares. As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos (Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

2n=44, NF=50 – *Rhipidomys tribei*

Este estudo atribui pela primeira vez um cariótipo à esta espécie, para duas fêmeas e um macho de Muqui (ES), com 17 pares acrocêntricos grandes a pequenos, um par subteloentríco médio e os três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é

acrocêntrico médio e o cromossomo Y um acrocêntrico pequeno. Nossos dados confirmam a ampliação da distribuição da espécie para o Espírito Santo, sugerida por Tribe (2015).

Cariótipos que provavelmente são de *R. tribei* foram descritos para Lavras (Gouveia, 2007) e Santa Bárbara (Carvalho, 2009) como *Rhipidomys* sp. e *R. macrurus*, respectivamente, e para outros indivíduos do Espírito Santo não identificados (Zanchin *et al.*, 1992, Thomazini, 2009). A fêmea de Santa Bárbara (MG) (Carvalho, 2009) revelou a presença de HC apenas na região pericêntrica dos cromossomos X. As marcações por Ag-RON foram bem características, e segundo nossa reinterpretação ocorrem em cinco pares: um par acrocêntrico de tamanho aproximado aos pares 5-9 no braço curto, o par 18 com marcação no braço curto, um par acrocêntrico pequeno (provavelmente o 17) com marcação no braço longo, o par 19 com marcação no braço longo e o par 21, metacêntrico e o menor par cromossômico, que apresentou marcações nas extremidades de ambos os braços. Indivíduos de Muqui, apresentaram a mesma marcação dupla no menor par metacêntrico, que é exclusiva desta espécie (Figura 9). As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos (Carvalho, 2009).

#### 2n=44, NF=50 – *Rhipidomys* sp.1

É espécie não descrita mas reciprocamente monofilética à *Rhipidomys cariri* (Costa *et al.*, 2011). Indivíduos dessa espécie, dois machos de Andaraí (BA) e uma fêmea de Coronel Murta (MG), apresentaram, no presente estudo, NF=50 com 17 pares autossômicos acrocêntricos variando gradativamente de tamanho, de grandes a pequenos, um par subtelocêntrico médio e os três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é submetacêntrico grande e Y o acrocêntrico pequeno. Regiões de HC foram visualizadas no braço curto do cromossomo X e 3 pares acrocêntricos pequenos (Figura 9).

Sousa (2005) descreveu, para quatro fêmeas e dois machos de Bom Jesus e Caracol (PI), um cariótipo similar, porém na fotografia o par de cromossomos X apresenta-se heteromórfico, submetacêntrico e acrocêntrico, podendo se tratar de um heteromorfismo em *Rhipidomys* sp.1 ou ser um híbrido de *Rhipidomys* sp.1 com uma espécie de cariótipo similar e cromossomo X acrocêntrico, como por exemplo *R. macrurus*.

#### 2n=44, NF=52 – *Rhipidomys emiliae*

Pela primeira vez um cariótipo é atribuído à espécie (presente estudo). Quatro fêmeas e os

quatro machos coletados em Ribeirão Cascalheiras e Barra dos Garças (MT), apresentaram NF=52, 16 pares acrocêntricos variando gradativamente de tamanho, dois subtelocêntricos médios, e os três menores pares meta/submetacêntricos. O cromossomo X é acrocêntrico médio e cromossomo Y, acrocêntrico pequeno. É a primeira vez que um cariótipo é associado formalmente à esta espécie.

Os cariótipos descritos na literatura que apresentaram  $2n=44$ , NF=52 e morfologia cromossômica similar, como *R. cf. mastacalis* de Vila Rica (MT) (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999) e *R. leucodactylus* citótipo 1 de Caxiuanã (PA) e Serra da Mesa (GO) (Andrades-Miranda *et al.*, 2002), devem ser referentes a indivíduos desta espécie. Regiões de HC foram visualizadas nas regiões pericentroméricas da maioria dos cromossomos, incluindo os 5 pares com dois braços e no X, bem como o Y inteiro. Marcações por Ag-RON em 5 pares (3, 9, 12, 14 e 15). As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

#### $2n=44$ , NF=52 – *Rhipidomys* sp.2

Uma fêmea de Aripuanã (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999) também apresentou 16 pares acrocêntricos variando gradativamente de tamanho, dois subtelocêntricos médios, porém os pares com dois braços distinguem-no de *R. emiliae*: um par subtelocêntrico médio e 4 meta/submetacêntricos pequenos, indicando ser outra espécie. Cromossomo X acrocêntrico médio e Y acrocêntrico pequeno. Pouca HC pericentromérica nos autossomos se sexuais. Marcações por Ag-RON foram registradas no braço curto de um par grande e alguns pares pequenos, inclusive no menor par, com até 12 marcações por metáfase. As regiões teloméricas estão localizadas pela técnica de FISH nas extremidades de ambos os braços de todos os cromossomos (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999).

#### $2n=44$ , NF=61 – *Rhipidomys* híbrido

Uma fêmea coletada para a localidade de Morro do Chapéu (BA) (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999), apresentou um cariótipo com vários pares heteromórficos e NF intermediário, indicando tratar de um híbrido. Considerando a localidade e a morfologia dos cromossomos, inclusive sexuais, provavelmente se trata de um híbrido resultante do cruzamento entre *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1,  $2n=44$ , NF=72, e *Rhipidomys* sp.1,  $2n=44$ , NF=50 (ou *R. cariri*,

mesmo cariótipo).

#### Análise comparativa de *Rhipidomys* de $2n=44$ e número fundamental baixo

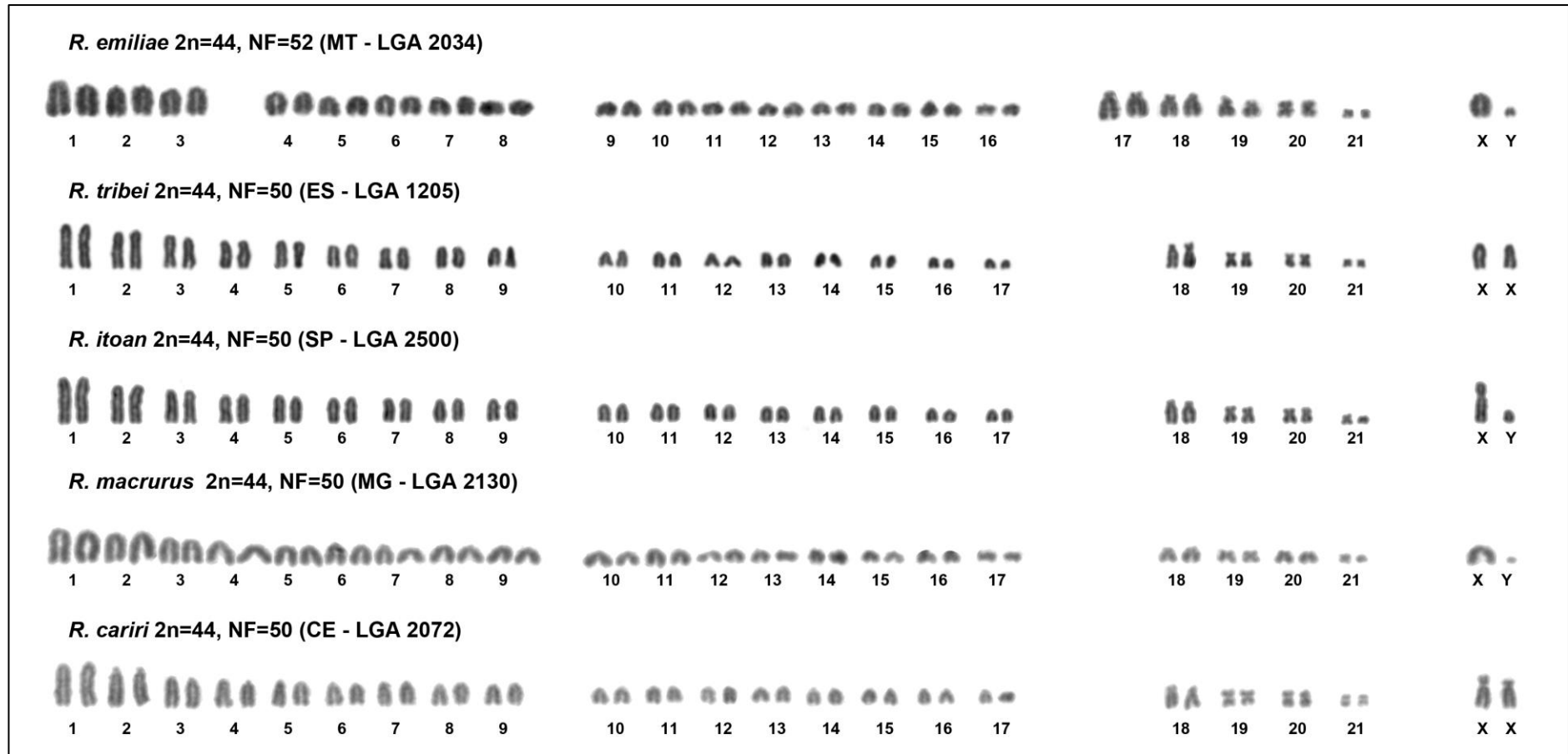
Os cariótipos com  $2n=44$ , NF baixo (NF=52, 50, 49, 48), apresentam uma conservação morfológica incomum em Roedores, se tratando de várias espécies do gênero (11 espécies). Por coloração convencional, leva-se a crer que, os pares que apresentam variação morfológica entre as espécies são sempre os mesmos e que, cariótipos descritos para diferentes espécies, podem ser idênticos, como o caso de *Rhipidomys* sp.1, *R. gardneri*, *R. cariri* e *R. itoan*, que possuem cromossomos autossômicos e sexuais com mesma morfologia, bem como *R. tribei* e *R. macrurus*.

Os três menores pares cromossômicos de dois braços, dois de tamanhos próximos e o menor par do complemento, são comuns a todos os cariótipos, podendo ser adicionado de um cromossomo levemente maior submetacêntrico, deste e de outro submetacêntrico ainda maior (somente em *R. emiliae*).

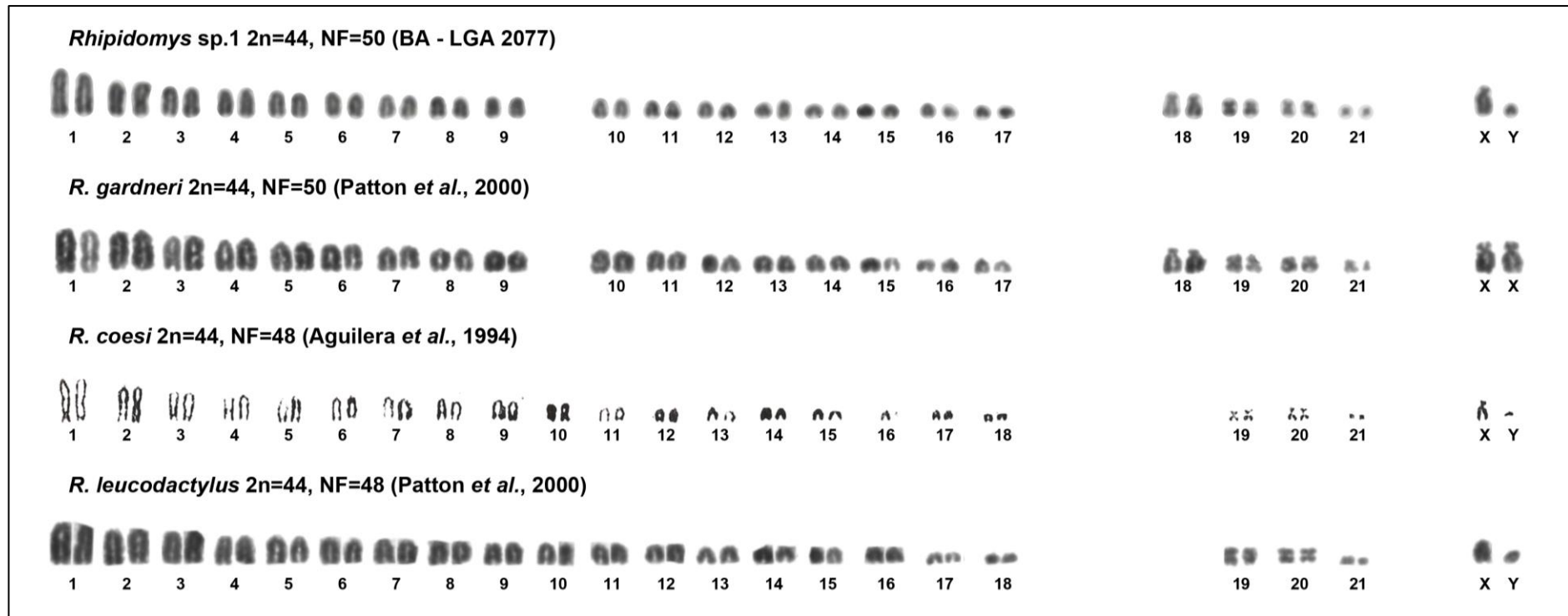
O cromossomo X pode ser acrocêntrico médio ou submetacêntrico grande, equivalente ao acrocêntrico médio acrescido de braço curto heterocromático. O cromossomo Y é sempre pequeno e todo heterocromático.

Em *R. macrurus* e *R. itoan* podemos observar ainda pares heteromórficos, que resultam na variação do número fundamental, NF=48, 49 e 50, logo, essas espécies possuem mais de um cariótipo. A variação no NF dentro dessas espécies está associada a mudança da morfologia do par subteloacêntrico médio, apresentando-se acrocêntrico em dose simples ou dupla.

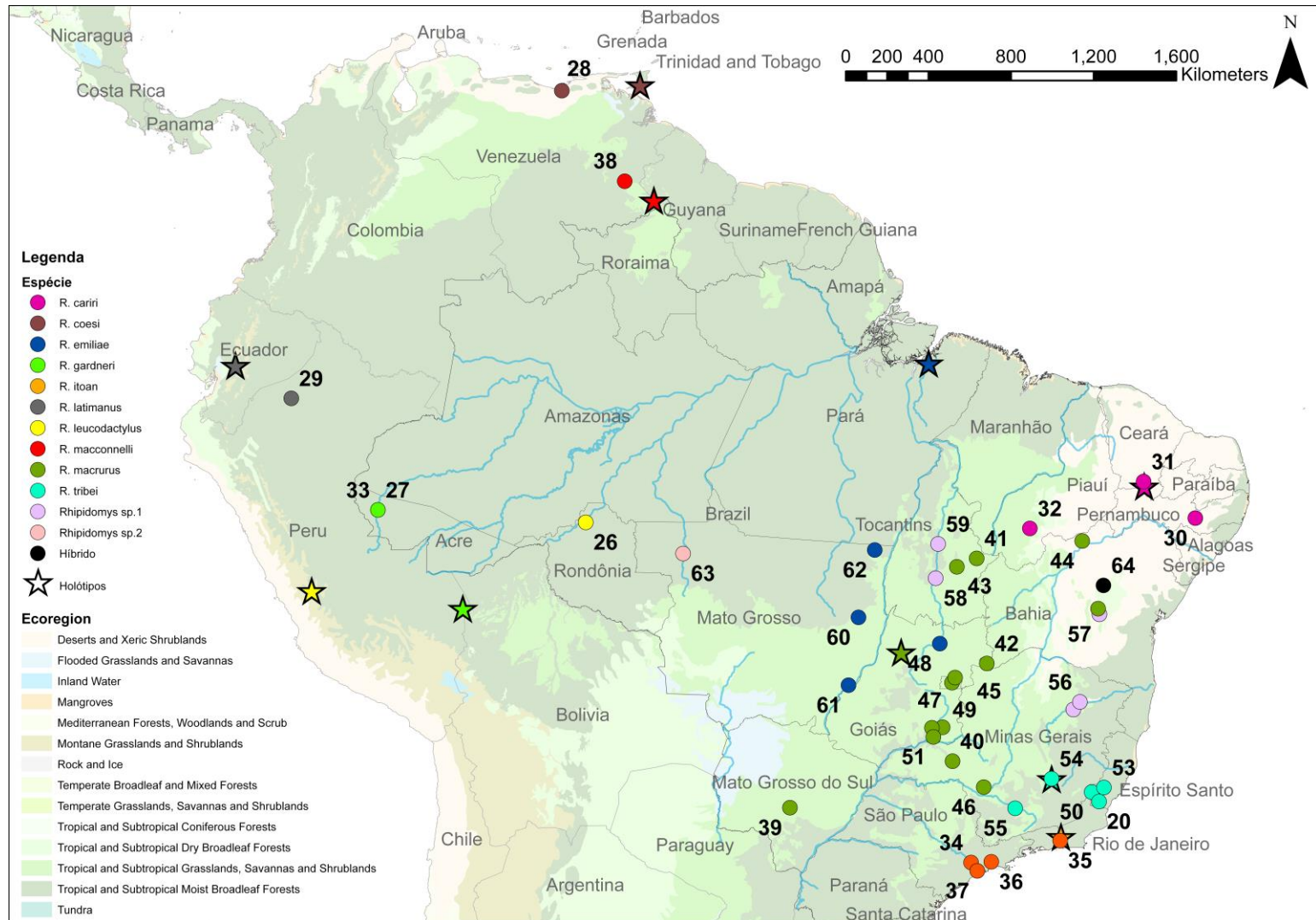
As espécies desse grupo ocupam os mais diversos biomas. Além das espécies de regiões florestais, *R. emiliae*, *R. macrurus* e *Rhipidomys* sp.1 ocorrem no Cerrado e *R. cariri* na Caatinga ([Figura 8](#)). Essas espécies ocupam toda a distribuição do gênero na América do Sul.



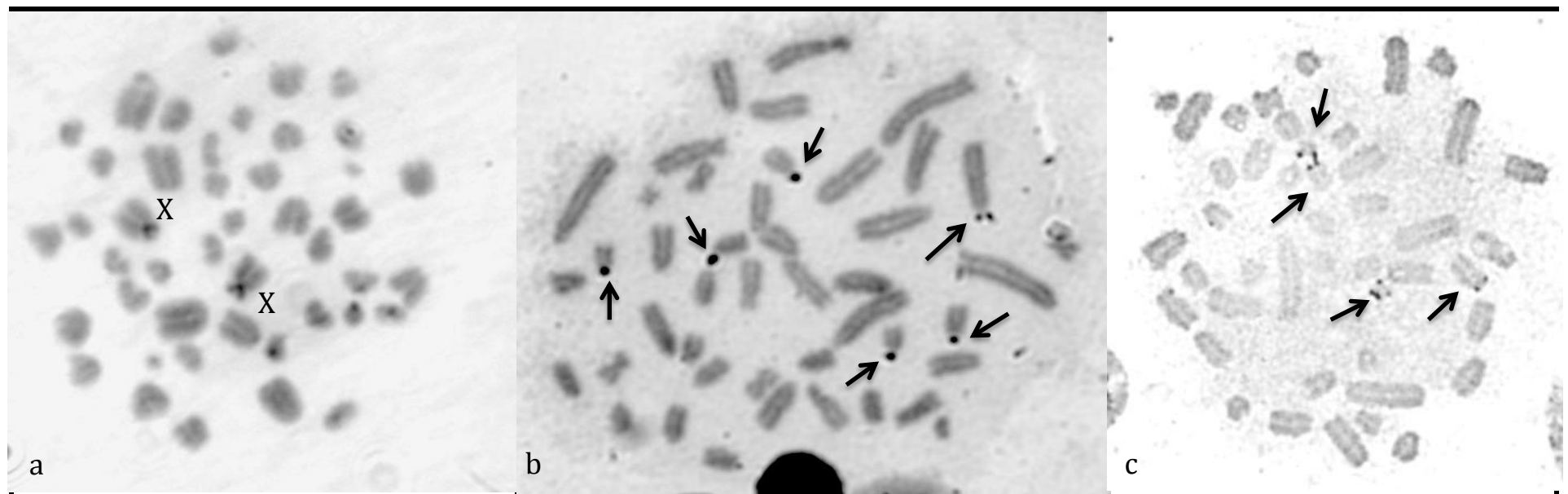
**Figura 6.** Cariótipos das espécies com 2n=44, NF baixo. *Rhipidomys emiliae* 2n=44, NF=52 (MT); *R. tribei* 2n=44, NF=50 (ES); *R. itoan* 2n=44, NF=50 (SP); *R. macrurus* 2n=44, NF=50 (MG); *R. cariri* 2n=44, NF=50 (CE).



**Figura 7.** Cariótipos das espécies com 2n=44, NF baixo. *Rhipidomys* sp.1 2n=44, NF=50 (BA); *R. gardneri* 2n=44, NF=50 (retirado de Patton *et al.*, 2000); *R. coesi* 2n=44, NF=48 (retirado de Aguilera *et al.*, 1994); *R. leucodactylus* 2n=44, NF=48 (retirado de Patton *et al.*, 2000).



**Figura 8.** Mapa da distribuição dos espécimes cariotipados de *Rhipidomys* com  $2n=44$ , NF baixo (círculos), presente estudo e literatura. As estrelas representam os holótipos das espécies de cor correspondente.



**Figura 9.** Pranchas dos bandeamentos de (a) *Rhipidomys* sp. 1,  $2n=44$ ,  $NF=50$  (MG - LGA 1977) banda C; (b) *R. cariri*,  $2n=44$ ,  $NF=50$  (CE- LGA 2072) Ag-RON e; (c) *R. tribei*  $2n=44$ ,  $NF=50$  (ES- LGA 1818) Ag-RON. As marcações de Ag-RON estão indicadas com setas.

## Discussão

Desde 1976, quando o primeiro cariótipo de uma espécie de *Rhipidomys* foi citado por Gardner e Patton (1976), este é o primeiro estudo que procurou identificar as espécies e associar os dados cariotípicos utilizando como ferramenta a sequência de DNA, associando-se as localidades de ocorrência. Nessas quatro décadas, cerca de 50 registros de cariótipos foram feitos para o gênero, muitos sem relacioná-los as espécies ou relacionando-os equivocadamente. Nesse estudo, os dados cariotípicos disponíveis na literatura foram revisados e reinterpretados. As reinterpretações foram feitas de descrições baseadas em fotografias originais, buscando um método de padronização dos cariótipos desse gênero.

Algumas dessas reinterpretações foram decorrentes da necessidade de corrigir a identificação do par sexual, como por exemplo *R. mastacalis*  $2n=44$ ,  $NF=70$  em Sousa (2005) e *R. gardneri*  $2n=44$ ,  $NF=50$  em Patton *et al.* (2000); as descrições ou legendas que não correspondem ao observado nas fotografias, como em *R. itoan*  $2n=44$ ,  $NF=48-50$  em Costa *et al.* (2011); descrições equivocadas ocasionadas por compactação excessiva dos cromossomos impedindo a correta identificação morfológica, como *R. mastacalis* em Zanchin *et al.* (1992) e *R. mastacalis* citótipo 2 em Andrades-Miranda *et al.* (2002).

Historicamente os cromossomos de *Rhipidomys* são dispostos na montagem dos cariótipos da seguinte maneira: para os complementos com  $2n$  diferente de 44 e  $2n=44$  e  $NF$  alto, primeiro os pares meta/submeta/subtelocêntricos e por último os acrocêntricos, sempre em ordem de tamanho e, para os complementos com  $NF$  baixo, o inverso, primeiro os pares acrocêntricos e por último os meta/submeta/subtelocêntricos. Optamos por padronizar a montagem para facilitar as futuras comparações entre os cariótipos e sugerimos que todos os futuros cariótipos descritos para o gênero sejam montados dispendo primeiro os cromossomos acrocêntricos seguidos pelos cromossomos com dois braços, meta/submeta/subtelocêntricos. Os pares heteromórficos sugiro que sejam alocados junto aos cromossomos com dois braços, por haver uma tendência ao ganho de braços no gênero.

Grande parte da dificuldade de se entender as variações cariotípicas em *Rhipidomys* se deve à grande variação entre o número de pares com um e dois braços; ao tamanho diminuto de alguns pares ou braços cromossômicos; à alta compactação dos cromossomos em algumas metáfases e, conseqüentemente; à dificuldade de se aplicar padrões de bandeamentos

longitudinais nesses cromossomos diminutos. Porém, ao se utilizar de um método buscando comparar os cromossomos entre os cariótipos dentro e entre grupos, foi possível identificar a variabilidade cariotípica no gênero e, inclusive, identificar alguns pares que se tornam característicos de *Rhipidomys*.

Percebeu-se, portanto, algumas características peculiares nas 14 espécies de *Rhipidomys* com cariótipos descritos, como a conservação do número diplóide  $2n=44$  na maioria das espécies, com exceção de *R. nitela* e *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2. O NF também foi marcador em alguns grupos, alterando-se pouco dentro deles. Pôde-se verificar a presença de três grupos cariotípicos, como também observado por Andrades-Miranda *et al.* (2002). Os agrupamentos são: um com  $2n=44$  e número fundamental alto, formado por *R. mastacalis*, *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 e 2 e *R. ipukensis* (4 carioformas, duas com  $NF=74$ , uma com 76 e outra com 80); outro com número diploide diferente de 44, que também apresenta número fundamental relativamente alto, mas possui algumas peculiaridades sendo, portanto, mantido separado, formado pela espécie *R. nitela* e *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2 (5 carioformas,  $2n=48$ ,  $NF=66$ ;  $2n=48$ ,  $NF=67$ ;  $2n=48$ ,  $NF=68$ ;  $2n=50$ ,  $NF=71$  e;  $2n=50$ ,  $NF=72$ ); e o grupo com  $2n=44$  e número fundamental baixo, formado pelo restante das espécies (11 espécies, 4 cariótipos básicos, com variações na morfologia do cromossomo X,  $2n=44$ ,  $NF=48$ , 49, 50, 52).

Constata-se que apesar do cariótipo geralmente ser uma boa ferramenta para a identificação de alguns roedores como *Akodon* (Ventura *et al.*, 2009) e *Ctenomys* (Freitas, 1997), para *Rhipidomys* os cariótipos se mostram espécie-específicos para os grupos com  $2n$  diferente de 44 e  $2n=44$ , NF alto no entanto, para o grupo com número fundamental baixo, não se mostram espécie-específicos. Algumas espécies como *Rhipidomys* sp. 1, *R. cariri*, *R. itoan* e *R. gardneri* apresentam o mesmo complemento por coloração convencional, inclusive os cromossomos X compartilham a mesma morfologia, o mesmo acontece entre *R. tribei* e *R. macrurus*. A distinção dos complementos pode ser possível através de padrões de bandeamento (C e Ag-RON) como é o caso de *R. macrurus* e *R. tribei*, o primeiro apresenta marcações de Ag-RON no braço curto de cromossomos acrocêntricos enquanto o segundo apresenta em apenas dois pares acrocêntricos e em três pares de dois braços, no braço curto do par 18, no longo do 19 e o par 21, menor metacêntrico, com marcações terminais em ambos os braços (Svartman e Almeida, 1993; Andrades-Miranda *et al.* 2002; Carvalho, 2009). No

entanto, padrões de bandeamento para o gênero são historicamente pouco descritos, apenas 19 dos registros apresenta ao menos um padrão de bandas descritos (C, G, R ou Ag-RON). A escassez de registros de padrões de bandeamento pode ser decorrente da qualidade das preparações obtidas.

Boas metáfases são raramente conseguidas a partir de preparação direta de medula óssea feitas em campo, sendo necessário controlar o tempo de colchicina no animal *in vivo*, de hipotonização, a realização da pré-fixação e o número de lavagens em fixador, para se obter um material de qualidade e evitar que os cromossomos fiquem muito compactados, impedindo a contagem dos braços cromossômicos curtos ou favorecendo metáfases com muito citoplasma, o que dificulta a realização de técnicas de bandeamento. Muito tempo de armazenamento das lâminas também diminui a qualidade do material.

Apesar da grande diferença de NF entre os grupos com  $2n=44$ , sendo, um grupo com quase todos os cromossomos com dois braços e, outro com quase todos acrocêntricos, alguns cromossomos parecem se manter mais conservados. É o caso do maior par cromossômico do complemento que se apresenta acrocêntrico em todos os grupos, com exceção à algumas carioformas do grupo com número diplóide diferente de 44. Os três menores pares de cromossomos com dois braços presentes nos grupos com  $2n=44$ , NF baixo, também aparecem conservados nos demais grupos, com exceção aos cariótipos de *Rhipidomys aff. mastacalis* 1 e *Rhipidomys aff. mastacalis* 2. Os quatro pares acrocêntricos pequenos observados em *Rhipidomys aff. mastacalis* 1 também são observados em todos os grupos com exceção de duas espécies do grupo com  $2n=44$ , NF alto que podem apresentar algum(ns) desses com dois braços.

O cromossomo X apresenta variações no comprimento do braço curto heterocromático. Mostrando-se sempre acrocêntricos nas espécies do grupo com NF alto, acrocêntricos e submetacêntricos no grupo com NF baixo, e submetacêntricos ou metacêntrico, com braço curto superando ligeiramente em tamanho o braço longo, em espécies com  $2n$  diferente de 44. Não conseguimos observar nenhuma tendência evolutiva ao se comparar as morfologias desse cromossomo e a árvore filogenética do gênero (Rocha *et al.*, 2011). O cromossomo Y se mostrou conservado na forma de acrocêntrico pequeno em todas as espécies do gênero.

No grupo com  $2n=44$ , NF alto, observamos 17 pares autossômicos conservados, o maior par do complemento e um par pequeno, acrocêntrico, além de 15 cromossomos de dois

braços variando de grande à pequenos. O cromossomo X se mostrou sempre acrocêntrico médio e o Y acrocêntrico pequeno. Entre os indivíduos com  $2n$  diferente de 44, observamos a manutenção de 19 pares autossômicos, 11 pares de cromossomos acrocêntricos de médios à pequenos e 8 cromossomos de dois braços de grande à pequenos, o cromossomo X não mantém sua morfologia conservada, mas o Y é sempre acrocêntrico pequeno. E, no grupo com  $2n=44$ , NF baixo, 19 pares de autossomos são conservados, 16 acrocêntricos de grandes à pequenos e os três menores pares de dois braços, o cromossomo X não se mantém conservado, porém o Y se mantém acrocêntrico pequeno.

O grupo com  $2n$  diferente de 44, com as carioformas associadas à espécie *R. nitela* ou *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2, apresentou formas cariotípicas bem distintas entre si, considerando-se as demais espécies de *Rhipidomys*. Logo, sugerimos manter apenas os espécimes com  $2n=48$ , NF=66 e 68 referentes à *R. nitela*, por estarem mais próximas à localidade-tipo. Os dois outros grupos,  $2n=48$ , NF=67 e  $2n=50$ , NF=71 e 72, devem, provavelmente, pertencer a outra entidade taxonômica.

O espécime, originalmente com cariótipo atribuído a *R. cf. mastacalis* de Aripuanã (MT) descrito por Silva e Yonenaga-Yassuda (1999), não possui semelhança cariotípica com nenhum outro cariótipo descrito, não podendo, portanto, ser atribuído a nenhuma outra espécie. Duas espécies que ocorrem em localidades próximas, porém, são *R. austrinus*, na região central da Bolívia, e *R. ochrogaster*, no sudeste do Peru, fazendo necessária a reavaliação morfológica e/ou molecular do espécime.

Existem registros de simpatria para espécies de *Rhipidomys* para Muqui (ES), *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2,  $2n=44$ , NF=74, e *R. tribei*,  $2n=44$ , NF=50; Serra da Mesa (GO), *R. emiliae*,  $2n=44$ , NF=52, e *R. macrurus*,  $2n=44$ , NF=48-50 (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); além do cariótipo de híbrido de Morro do Chapéu (BA), apresentando  $2n=44$ , NF=61 (Silva e Yonenaga-Yassuda 1999), provavelmente resultante do cruzamento *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 e *Rhipidomys* sp.1. Aparentemente há uma tendência de espécies simpátricas possuírem cariótipos distintos.

Algumas espécies apresentaram indivíduos com pares cromossômicos heteromórficos, *R. itoan*, *R. macrurus*, *R. nitela*, *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2, (Svartman e Almeida, 1993; Silcva e Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev e Catzflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002 Carvalho, 2009; Thomazini, 2009) indicando mais de um cariótipo para a mesma

espécie, com esses heteromorfismos fixados nas populações ou, talvez, hibridização entre espécies de cariótipos discretamente distintos. Considerando a existência do híbridos entre espécies com número fundamental alto e outra com número fundamental baixo (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999) como indicativo da viabilidade de hibridização entre espécies mais distintas cariotipicamente, seria provável haver hibridização entre espécies com cariótipos semelhantes em zonas de contato. *R. macrurus*,  $2n=44$ ,  $NF=50$ , cromossomo X acrocêntrico, é uma espécie que aparentemente tem sobreposição de ocorrência com *R. emiliae*,  $2n=52$ ,  $NF=52$ , cromossomo X acrocêntrico, e com *Rhipidomys* sp.1 e *R. cariri*, ambos com  $2n=44$ ,  $NF=50$  e cromossomo X submetacêntrico. Há a possibilidade do cariótipo de *Rhipidomys* sp.1 descrito para o Piauí (Sousa, 2005), ser um indivíduo híbrido decorrente de um cruzamento entre *R. macrurus* e *Rhipidomys* sp.1, por dispor de par cromossômico X heteromórfico concordante com as duas espécies que ocorrem na região. No entanto, devido a variabilidade da morfologia do cromossomo X no gênero, a semelhança cariotípica entre essas espécies, assim como nas demais espécies desse grupo ( $2n=44$  e  $NF$  baixo), e dado o baixo número de indivíduos analisados e as grandes lacunas de amostragem, muito há de se investir para se conhecer mais profundamente as forças evolutivas impostas pelo cariótipo nesse grupo.

Pela primeira vez descrevemos os cariótipos de *R. ipukensis*, *R. emiliae*, *R. tribei* e confirmamos as associações de cariótipos feitas por Tribe (2015) para essas espécies.

## Referências

- Aguilera M, Pérez-Zapata A, Martino A, et al (1994) Karyosystematics of *Aepomys* and *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). *Acta Científica Venezolana*, 45: 247–248.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, et al (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403-410.
- Andrades-Miranda J, de Oliveira LFB, Lima-Rosa CAV, et al (2002) Genetics studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. *Acta Theriologica*, 47 (2): 125–135.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T (1992) Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: *Molecular genetics analyses of populations*. 225–269
- Carvalho AH (2009) Caracterização citogenética de espécies de *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) de Minas Gerais. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 69.
- Costa BM de A, Geise L, Pereira LG, et al (2011) Phylogeography of *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) and description of two new species from southeastern Brazil. *J Mammal* 92:945–962.
- Di-Nizo CB, Neves CL, Vilela JF, de Silva MJJ (2014) New karyological data and cytotaxonomic considerations on small mammals from Santa Virgínia (Parque estadual da Serra do Mar, Atlantic Forest, Brazil). *Comp Cytogenet* 8:11–30.
- Freitas, Thales Renato O. de. (1997). Chromosome polymorphism in *Ctenomys minutus* (Rodentia-Octodontidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 20 (1)
- Geise L (1995) Os roedores Sigmodontinae (Rodentia, Muridae) do estado do Rio de Janeiro. Sistemática, citogenética, distribuição e variação geográfica. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.
- Geise L, Paresque R, Sebastião H, et al (2010) Non-volant mammals, Parque Nacional do Catimbau, Vale do Catimbau, Buíque, state of Pernambuco, Brazil, with karyologic data. *Check List* 6:180–186.
- Gouveia AL (2007) Pequenos mamíferos não voadores no sul de Minas Gerais com caracterização cromossômica das espécies de roedores da sub-família Sigmodontinae. Monografia. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 44.
- Howell WM, Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleous organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015.

- Lima JFS, Kasahara S (2003) Contribuição da citotaxonomia para o conhecimento da fauna de roedores do Tocantins, Brasil. *Revista Estudos de Biologia-PUCPR. Estudos de biologia, Curitiba, Brasil*, 25: 29–38.
- Paresque R, Souza WP, Mendes S, Fagundes V (2004) Composição cariotípica da fauna de roedores e marsupiais de duas áreas de Mata Atlântica do Espírito Santo, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão. Bol do Mus Biol Mello Leitão* 17:5–33.
- Patton JL, da Silva MNF, Malcolm RJ (2000) Mammals of Rio Juruá, Western Amazonian Brazil: Evolutionary and Ecological Diversification. *Bulletim American Museum Natural History*, 244: 1–306.
- Pereira LG, Geise L (2007) Karyotype composition of some rodents and marsupials from Chapada Diamantina (Bahia Brasil). *Brazilian Journal of Biology*, 67 (3): 509–518.
- Rocha RG, Ferreira E, Costa BMA, et al (2011) Small mammals of the mid-Araguaia River in central Brazil, with the description of a new species of climbing rat. *Zootaxa* 34:1–34.
- Saranholi BH, Fonseca RCB, Lima JFS (2008) Karyologic survey of not flying small mammals from Tocantins, Brazil. *Revista Estudos de Biologia-PUCPR. Estudos de biologia, Curitiba, Brasil*, 30: 91–97.
- Silva MJJ, Yonenaga-Yassuda Y (1999) Autosomal and sex chromosomal polymorphisms with multiple rearrangements and a new karyotype in the genus *Rhipidomys* (Sigmodontinae, Rodentia). *Hereditas*, 131: 211–220.
- Smith MF, Patton JL (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 50: 149–177.
- Sousa MANS (2005) Pequenos mamíferos (Didelphimorphia, Didelphidae e Rodentia, Sigmodontinae) de algumas áreas da Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Brejo de Altitude do Brasil: considerações citogenéticas e geográficas. Tese. Universidade de São Paulo, São Paulo. 143.
- Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. *Exp Cell Res* 75:305–306.
- Svartman M, de Almeida EJC (1993) Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Brazil. *Caryologia*, 46(2-3): 219–225.
- Thomazini NB (2009) Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil. Dissertação. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. 97.
- Tribe CJ (1996) The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision. Tese. University College London, Londres. 313.

- Tribe CJ (2015). Genus *Rhipidomys* Tschudi, 1945. In: Patton JL, Pardiñas UFJ, D'Elía G (Eds) Mammal of South America, volume 2 – Rodents. Chicago and London: The University of Chicago Press, 583–617.
- Ventura K, O'Brien PCM, Yonenaga-Yassuda Y, Ferguson-Smith MA (2009) Chromosome homologies of the highly rearranged karyotypes of four *Akodon* species (Rodentia, Cricetidae) resolved by reciprocal chromosome painting: the evolution of the lowest diploid number in rodents. *Chrom Res.*, 17: 1063-1078.
- Volobouev VT, Catzefflis FM (2000) Chromosome banding analysis (G-, R- and C-bands) of *Rhipidomys nitela* and a review of the cytogenetics of *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Mammalia*, 64(3): 353–360.
- Zanchin NIT, Langguth A, Mattevi MS (1992) Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). *Journal of Mammalogy*, 73(1): 120–122.

## Apêndice

Tabela – Espécimes de *Rhipidomys* analisados no presente estudo.

Espécie	Estado	Cidade	Sexo	Número da Coleção	Número de Coletor	Número CTA - UFES	Outras numerações
<i>Rhipidomys cariri</i>	CE	Crato	F	LGA 1979	LPC 0291		
<i>Rhipidomys cariri</i>	CE	Crato	F	LGA 2072	LPC 0267	CTA 1225	
<i>Rhipidomys cariri</i>	CE	Crato	M	LGA 1975	LPC 0288	CTA 1246	
<i>Rhipidomys cariri</i>	CE	Crato	M	LGA 1978	LPC 0245	CTA 1204	
<i>Rhipidomys cariri</i>	PE	Buíque	F	LGA 1793	LEM 22		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	M	LGA 2076	LPC 0483	CTA 1436	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2035	LPC 0733		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2080	LPC 0763	CTA 1706	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2081	LPC 0771	CTA 1714	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2136	LPC 0757	CTA 1700	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2033	LPC 0728	CTA 1676	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2034	LPC 0731	CTA 1679	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2041	LPC 0740	CTA 1687	
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	TO	Peixe	M	LGA 2135	LPC 0691	CTA 1639	
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Cotia	F	LGA 2499	B 367		
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Cotia	M	LGA 2500	B 364		
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Cotia	M	LGA 2557	B 796		
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Nova Ponte	F	LGA 1976	LPC 0312	CTA 1267	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Nova Ponte	M	LGA 2130	LPC 0373	CTA 1328	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MS	Dourados	M	LGA 2071	LPC 0670	CTA 1618	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1472	YL 378	CTA 849	LGA 1272
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1474	YL 433	CTA 853	LGA 1261
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1475	YL 435	CTA 855	LGA 1268
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	?	UFES-MAM 603	LPC 1054	CTA 552	LGA 1885
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	LGA 0329			
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 604	LPC 1053	CTA 553	LGA 1884
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 607	LPC 1067	CTA 556	LGA 1892
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 609	LPC 1055	CTA 558	LGA 1886
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 615	LPC 1150	CTA 564	LGA 2197
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 602	LPC 1051	CTA 551	LGA 1882
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 605	LPC 1252	CTA 554	LGA 2520
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 606	LPC 1083	CTA 555	LGA 1969
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Muqui	F	UFES-MAM 1946	BAC 246		LGA 1808
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Muqui	F	UFES-MAM 1661	BAC 255		LGA 1816
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Santa Teresa	M	UFES-MAM 1636	DMR 25		LGA 2365
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Itajú do Colônia	F	UFES-MAM 2340	YL 753		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Itajú do Colônia	F	UFES-MAM 2342	YL 761		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Itajú do Colônia	M	UFES-MAM 2341	YL 757		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Itajú do Colônia	M	UFES-MAM 2343	YL 762		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Itajú do Colônia	M	UFES-MAM 2344	YL 763		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Una	F	LGA 2037	RM 102		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Una	M	LGA 2036	LPC 0112	CTA 1145	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Turmalina	F	LGA 2032	YL 078	CTA 943	
<i>Rhipidomys sp.1</i>	BA	Andaraí	M	LGA 2077	LPC 0204	CTA 1164	
<i>Rhipidomys sp.1</i>	BA	Andaraí	M	LGA 2129	LPC 0203	CTA 1163	
<i>Rhipidomys sp.1</i>	MG	Coronel Murta	F	LGA 1977	LPC 0191	CTA 1152	
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Ibitirama	F	UFES-MAM 1471	YL 326		LGA 1202/CP 49
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Ibitirama	F	UFES-MAM 1892	YL 329	CTA 1023	LGA 1205/CP 52
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Muqui	M	UFES-MAM 1663	BAC 257		LGA 1818

## Capítulo 2 – Evolução Molecular e Citotaxonomia em *Rhipidomys*

### Resumo

A identificação das espécies de *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) é complexa, sendo geralmente embasada em caracteres morfológicos contínuos. Estudos filogenéticos utilizando sequências do gene Citocromo B (CitB) amostraram 12 das 23 espécies reconhecidas; três destas últimas foram identificadas e descritas após estes estudos e outra ainda não foi formalmente descrita, indicando que a variação morfológica pode subestimar a diversidade do gênero. Assim como os dados moleculares consistem em bons auxiliares na taxonomia do grupo, cariótipos podem auxiliar na identificação das espécies. O gênero apresenta três grupos cariotípicos: o grupo com número diplóide ( $2n$ ) diferente de 44,  $2n=48$  e 50, com Número Fundamental (NF) variando de 66 à 72; o grupo com  $2n=44$  com NF alto, variando de 72 à 80 e; o grupo com  $2n$  igual a 44 com NF baixo variando de 48 à 52. Os grupos com  $2n$  diferente de 44 e o com  $2n=44$ , NF alto, apresentam maior variação cariotípica entre suas espécies, inclusive com algumas espécies apresentando mais de um cariótipo como, por exemplo, *R. nitela* e *R. mastacalis*. No grupo com  $2n=44$ , NF baixo os cariótipos se mostram bem conservados e, por coloração convencional, o mesmo cariótipo (morfologia dos autossomos e alossomos) pode ser registrado em mais de uma espécie, não sendo um bom auxiliar na taxonomia do grupo. No entanto, padrões de bandas sugerem variações nesses cariótipos. Neste grupo, há uma sutil tendência de espécies mais basais apresentarem menor NF.

A compreensão dos mecanismos de evolução dos cariótipos no gênero permanecem incógnitos, a variação no número fundamental indica ser principalmente decorrente de eventos de inversão pericêntrica e/ou reposicionamento centromérico. Os rearranjos envolvidos na variação do número diplóide aparentam ser mais complexos. O provável cariótipo ancestral de *Rhipidomys* possuía  $2n=44$  com número fundamental baixo, possivelmente semelhante à algum complemento do agrupamento atual apresentando  $2n=44$ , NF baixo (NF=48–52). Este grupo deu origem aos outros dois agrupamentos que são aparentados e possuem número fundamental alto: grupo com  $2n=44$ , NF alto e grupo com número diplóide diferente de 44; o cariótipo ancestral desses dois grupos provavelmente possuía  $2n=44$ , NF=60.

Nas análises que envolvem genes mitocondriais, *R. emiliae*, com  $2n=44$ , NF=52,

aparece dentro do clado com os grupos com  $2n$  diferente de 44 e  $2n=44$ , NF alto indicando um provável evento de introgressão.

Muito há ainda para se compreender sobre a evolução dos cariótipos em *Rhipidomys*, é importante aumentar a amostragem do gênero, especialmente para as áreas de lacuna amostral; sempre que possível realizar preparações citogenéticas de qualidade, para proceder técnicas de bandejamento e citogenética molecular. Essas técnicas permitem identificar as dissimilaridades dos cariótipos e os rearranjos envolvidos na evolução cariotípica.

Palavras-chave: evolução cariotípica, cariótipo ancestral, marcador mitocondrial, marcador nuclear, introgressão.

## Introdução

O gênero *Rhipidomys* foi descrito em 1845 e no presente momento são reconhecidas 23 espécies, sendo 20 delas com descrição baseada apenas em caracteres morfológicos. Em 2003, foi realizado o primeiro estudo com dados moleculares, utilizando filogenias com sequencia do gene Citocromo B (CitB), com o intuito de analisar como a diversidade de alguns gêneros de pequenos mamíferos está distribuída na Floresta Amazônica e na Mata Atlântica (Costa, 2003). Duas novas entidades taxonômicas, *R. itoan* e *R. tribei*, foram descritas em 2011 a partir de dados morfológicos e moleculares (CitB) (Costa *et al.*, 2011). Ainda em 2011, Rocha *et al.* (2011) usando dados moleculares reconheceu a espécie *R. ipukensis*. Esses dados demonstram que as filogenias moleculares são um bom indicativo da diversidade que pode estar escondida em gêneros como *Rhipidomys*, onde a distinção de espécies é predominantemente baseada em caracteres morfológicos de variação contínua.

Tribe (1996), realizou uma grande revisão do gênero, com enfoque especialmente em caracteres morfológicos, e destacou a importância de adicionar caracteres taxonômicos alternativos como sequências de DNA e cariótipos nas investigações taxonômicas. As filogenias moleculares auxiliam a identificar as relações entre os indivíduos e indicam onde procurar a diversidade morfológica e ecológica dos táxons, é claro que, como qualquer outra ferramenta, deve ser utilizada com senso crítico pois, por exemplo, processos de hibridação podem ocultar as reais relações entre os indivíduos, se analisada somente sequências mitocondriais. Além das sequências de CitB desses estudos, existem, para *Rhipidomys*, sequências de Citocromo Oxidase I (COI) de um estudo de identificação das espécies por “código de barras” (Borisenko *et al.*, 2008) e algumas poucas sequências de outros genes de estudos que não tiveram como intuito conhecer a filogenia do gênero.

Tribe (1996) além de sugerir o uso de caracteres taxonômicos não morfológicos, enfatiza a importância dos cariótipos para distinguir espécies-irmãs presentes no sudeste do Brasil e para compreender se a variação cariotípica em *R. nitela* reflete táxons distintos. No capítulo 1 (presente estudo) foi apresentada a revisão dos dados cariotípicos disponíveis para *Rhipidomys*, associado à identificação morfológica e/ou molecular dos espécimes, o que aumentou a confiabilidade da identificação dos indivíduos e da associação dos cariótipos. *Rhipidomys*, de acordo do o atual conhecimento, apresenta como forma cariotípica

plesiomórfica o Número Diplóide ( $2n$ ) igual à 44, Número Fundamental (NF) baixo (NF=48-50), podendo apresentar espécies com cariótipos idênticos por coloração convencional, e duas espécies apresentam mais de um cariótipo associado decorrente da variação de um par, que pode se apresentar, inclusive, heteromórfico. Um cariótipo deste grupo,  $2n=44$ , NF=52 de Aripuanã (MT) não foi relacionado à nenhuma espécie (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999).

Em um único clado é observada a maior parte da variação cariotípica do gênero: *R. nitela* com  $2n$  diferente de 44, que os dados cariotípicos indicaram tratar de três entidades distintas:  $2n=48$ , NF=66,68;  $2n=48$ , NF=67;  $2n=50$ , NF=71,72; e as espécies de  $2n=44$ , NF alto (NF=72-80): *R. ipukensis* (NF=80) e *R. mastacalis* (NF=72,74), que é composta por três cariótipos distintos, podendo representar mais de uma entidade taxonômica: *R. mastacalis* ( $2n=44$ , NF=74), *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 2 ( $2n=44$ , NF=74, porém com um par acrocêntrico distinto do complemento anterior) e *Rhipidomys* aff. *mastacalis* 1 ( $2n=44$ , NF=72).

A associação dos dados cariotípicos e moleculares pode permitir compreender as relações entre os cariótipos e seu papel nos processos de especiação, se a variação é uma causa ou uma consequência deste processo. Também podemos observar se há uma tendência evolutiva nos cariótipos, por exemplo, se espécies irmãs ou simpátricas tendem a possuir cariótipos distintos ou se espécies localizadas em maior altitude possuem número diplóide mais elevado. Desta forma, o presente estudo pretendeu recuperar as relações filogenéticas entre as espécies de *Rhipidomys* e avaliar se há uma tendência evolutiva dos cariótipos no gênero.

## Material e Métodos

A presente amostra é composta por 125 exemplares do gênero *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae), destes 40 cariotipados, procedentes de 13 estados brasileiros: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, Piauí, São Paulo, Tocantins ([Apêndice 1](#)). As amostras de tecidos (fígado, músculo ou suspensão citogenética) foram provenientes das coleções do Laboratório de Mastozoologia e Biogeografia (LaMaB) e do Laboratório de Genética Animal (LGA) da UFES, além de coleções das instituições parceiras Universidade Federal do Pará (UFPA) e Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica (MCN-PUC MG). Também foram utilizadas sequências disponíveis no Genbank para *Rhipidomys* e grupos externos ([Apêndices 2 e 3](#)).

A extração de DNA seguiu o protocolo de extração salina de DNA (SDS/NaCl/Proteinase K) descrito por Bruford *et al.* (1992). Seis fragmentos de genes foram utilizados para a construção das árvores filogenéticas, dois mitocondriais e quatro nucleares, respectivamente: citocromo b (CitB, primers MVZ05-MVZ16, 801pb, Smith e Patton, 1993), citocromo oxidase I (COI, primers HCO-LCO e Coquetel B (CoqB), 657pb, Messing, 1983; Folmer *et al.*, 1994), intron 7 de beta-fibrinogênio (  $\int$  fib, primers  $\int$  17-mammL-  $\int$  fib-mammU, 698pb, Matocq *et al.*, 2007), exon 10 do gene receptor de hormônio do crescimento (GHR, 4F-3R, 402pb, Upham *et al.*, 2013), gene ativador da recombinase (RAG1, F17-R28, 1062pb, Teeling *et al.*, 2000) e exon 1 da proteína ligante do fotorreceptor retinóide (IRBP, F217-R1531, 1245pb, Stanhope *et al.*, 1992). O material amplificado foi sequenciado no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems) seguindo protocolo do fabricante. Os eletroferogramas foram analisados e as sequências foram alinhadas usando o algoritmo de alinhamento do Geneious R 7.1.8 (Biomatters) (Kearse *et al.*, 2012) e, posteriormente editadas manualmente e conferida a tradução. A fim de detectar saturação de substituições nas diferentes posições dos códons foi realizado o teste de Xia *et al.* (2003) no DAMBE5 (Xia, 2013).

Os modelos de evolução para cada partição foram determinados no jModelTest 2.1.4 (Guindon e Gascuel, 2003; Darriba *et al.*, 2012), com cinco esquemas de substituição e utilizando o Critério de Informação Bayesiana (BIC). Os modelos de substituição para a

construção da árvore com todos os genes (CitB, COI,  $\int$  fib, RAG, IRBP e GHR), somente os genes mitocondriais (Cit B e COI), somente os genes nucleares (  $\int$  fib, RAG, IRBP e GHR) e a árvore de entrada para a datação molecular (CitB e IRBP) foram calculados no PartitionFinder 1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012), que permite obter modelos para cada um dos genes e para cada uma das posições dos códons das sequências ([Apêndice 4](#)).

Foram inferidas as árvores de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) para a matriz individual dos genes CitB e COI com sequências produzidas no estudo e sequências disponíveis do GenBank para *Rhipidomys* e grupos externos. Foram geradas matrizes concatenadas dos seis fragmentos (CitB, COI,  $\int$  fib, RAG, GHR e IRBP), somente dos genes mitocondriais (Cit B e COI) e somente dos genes nucleares (  $\int$  fib, RAG, IRBP e GHR). Para a obtenção destas árvores foram selecionados de três a quatro espécimes por espécie, quando disponíveis, privilegiando a representação dos intraclados e distribuição geográfica das espécies observadas nas árvores CitB e COI ([Apêndice 1](#)). As árvores de MV foram inferidas no programa RaxML 8.2.4 (Stamatakis, 2006) sediado no servidor CIPRES (Miller *et al.*, 2010) e as árvores de IB foram inferidas no MrBayes 3.2.3 (Ronquist e Huelsenbeck, 2003). Os valores de bootstrap para suporte dos clados na análise de MV foram calculados usando 1000 pseudoreplicações e, considerados significativos somente agrupamentos com valores de bootstrap maiores ou iguais a 75. As árvores de haplótipos da IB foram amostradas a cada 500 gerações em 500.000 percorridas e as árvores consenso foram obtidas após um burn-in de 25%. Foram considerados significativos agrupamentos com probabilidade posterior Bayesiana (PPB) maiores ou iguais a 0,95. O programa FigTree foi utilizado para visualização e edição das árvores.

A árvore de entrada para datação molecular foi produzida a partir de fragmentos de CitB e IRBP pelo método filogenético de IB, uma árvore similar foi inferida pelo método de MV. A datação foi feita no Beast 1.8.0 (Drummond e Rambaut, 2007) adotando o algoritmo MCMC e empregando o método de relógio molecular relaxado com distribuição lognormal para cada partição. Para a construção da árvore foi aplicado prior do modelo de Yule e assumimos priors uniformes. Utilizamos cinco dos pontos de calibração utilizados em Leite *et al.* (2015), nós B, C, D, E e F do trabalho em questão, com distribuição lognormal, média zero e desvio padrão igual a um. O monofiletismo foi forçado apenas para o clado com *Auliscomys micropus* e *Calomys callosus* (parte do grupo externo) e o clado irmão, de forma a recuperar a

topologia da árvore de referência.

## Resultados e Discussão

Nenhum dos alinhamentos apresentou saturação. As árvores de CitB em relação as de COI apresentaram mais suporte nas análises, provavelmente decorrentes do tamanho das sequências, 801pb de CitB e 657pb de COI, e do número de sítios variáveis (analisados em ambas sequências para os 25 indivíduos do gênero *Rhipidomys* utilizados nas análises concatenadas), 251 sítios variáveis em 801 pb do CitB (31,34%) e 150 sítios variáveis em 657 pb do COI (22,83%). As árvores de bayesiana tiveram sempre maior ou igual número de relações com suporte que as árvores de máxima verossimilhança.

A apresentação dos resultados serão baseadas nas árvores de CitB, COI, concatenada mitocondrial, concatenada total e datação (IRBP e CitB) pelos métodos de máxima verossimilhança (CitB1-V; COI-V; M-V – [Apêndice 6](#); T-V – [Apêndice 8](#)) e de inferência bayesiana (CitB1-B; CitB2 – [Figura 1](#); COI-B; M-B – [Apêndice 5](#); T-B – [Apêndice 7](#); D – [Figura 3](#)); As árvores concatenadas de sequências nucleares, tanto pelo método de máxima verossimilhança (N-V – [Apêndice 9](#)), tanto pela inferência bayesiana (N-B – [Figura 2](#)), tiveram poucas relações com suporte logo só as abordarei quando pertinente.

*Rhipidomys emiliae* agrupou com *R. ipukensis* com alto suporte (CitB1-B, CitB2 – [Figura 1](#), D – [Figura 3](#), [T-B](#), [M-B](#), [M-V](#)) ou em politomia com *R. mastacalis* (COI-B, COI-V, [T-V](#)), espécie que geralmente aparece como irmã de *R. emiliae* e *R. ipukensis* (CitB1-B, D – [Figura 3](#), [T-B](#)). Quando adicionada a espécie *R. nitela* (CitB1, CitB2 – [Figura 1](#), COI), *R. mastacalis* pode aparecer como irmã à ela (CitB2– [Figura 1](#)), ou *R. nitela* como irmã do clado que agrupa *R. emiliae*, *R. ipukensis* e *R. mastacalis* (CitB1-B, COI-B, COI-V).

Foi formado um clado com um indivíduo de Marabá-PA, não referente a nenhuma das espécies sequenciadas e/ou conhecidas para a localidade que ele ocorre, que de agrupa monofileticamente recíproco à *R. emiliae*, *R. ipukensis*, *R. mastacalis* e *R. nitela* (CitB2– [Figura 1](#), [T-B](#), [T-V](#), [M-B](#), indivíduo não presente nas análises CitB1, COI e D) sugerindo se tratar de uma espécie nova, tratada aqui como *Rhipidomys* sp.2. Nas análises com a espécie *R. gardneri* (CitB1, CitB2), ela aparece com suporte como irmã de *Rhipidomys* sp.2, *R. emiliae*, *R. ipukensis*, *R. mastacalis* e *R. nitela* (CitB2 – [Figura 1](#)).

*Rhipidomys cariri* e *Rhipidomys* sp.1 (conforme Costa *et al.*, 2011), espécie ainda não

formalmente descrita, são irmãs (CitB1, CitB2 – [Figura 1](#), COI, D – [Figura 3](#), T-[B](#) e [V](#), M-[B](#) e [V](#)). Nas análises nucleares onde o monofiletismo das espécies nem sempre é recuperado (N-B – [Figura 2](#), N-[V](#)), *R. cariri* e *Rhipidomys* sp.1 se agrupam juntas à *R. macrurus* (CitB1-B, T-[B](#) e [V](#), M-[B](#) e [V](#)).

*Rhipidomys itoan* e *R. tribei* aparecem sempre como espécies irmãs (CitB1, COI, CitB2 – [Figura 1](#), D – [Figura 3](#), T-[B](#) e [V](#), N-B – [Figura 2](#), N-[V](#)), ou em politomia com as todas as espécies de *Rhipidomys* nas análises concatenadas mitocondriais (M). *Rhipidomys leucodactylus* agrupa à *R. itoan* e *R. tribei* (CitB1-B, CitB2 – [Figura 1](#)) ou em politomia com *R. emiliae*, *R. ipukensis*, *R. mastacalis*, *R. nitela*, *R. itoan*, *R. tribei*, *Rhipidomys* sp.1, *R. cariri*, *R. macrurus* (CitB1-V, COI). Esta espécie não apresenta suporte para seu monofiletismo na árvore de máxima verossimilhança com sequências de COI.

*Rhipidomys latimanus* aparece como irmão à *R. emiliae*, *R. ipukensis*, *R. mastacalis*, *R. nitela*, *R. itoan*, *R. tribei*, *Rhipidomys* sp.1, *R. cariri*, *R. macrurus* e *R. leucodactylus* (COI-B), ou numa politomia com estas além de *R. macconneli* e *R. wetzeli* (COI-V). Estas últimas também se mostram politômicas com as demais em outras análises (CitB1 e CitB2 – [Figura 1](#)), exceto em uma na qual *R. wetzeli* aparece externo as demais (COI-B).

As incongruências (com suporte) encontram-se em relação a posição de *R. macrurus*, que aparece na maioria das vezes como irmã à *Rhipidomys* sp.1 e *R. cariri* (CitB1-B, , T-[B](#) e [V](#), M-[B](#) e [V](#)), em politomia em um clado com essas duas espécies e outro com *R. mastacalis*, *R. emiliae* e *R. ipukensis* (D – [Figura 3](#)) ou, externo à *R. macrurus*, *Rhipidomys* sp.1, *R. cariri*, *R. mastacalis*, *R. emiliae* e *R. ipukensis*, *R. itoan*, *R. tribei* e *R. leucodactylus* (CitB2 – [Figura 1](#)) e; em relação a posição de *R. nitela*, aparece como irmã de *R. mastacalis* (CitB2 – [Figura 1](#)), mas geralmente irmã à *R. nitela*, *R. emiliae* e *R. ipukensis* (CitB1-B, COI).

Como pudemos notar, as relações mais basais não foram muito bem recuperadas. No entanto, as sequência do gene COI, especialmente a análise bayesiana, talvez devido sua taxa de mutação menor que a de CitB, parece ter recuperado com suporte essas relações. Para as espécies envolvidas nessas relações, como *macconneli*, *R. wetzeli*, *R. latimanus*, só dispúnhamos de sequências de CitB e COI (genbank) não podendo testar os marcadores nucleares. Tribe (1996) sugeriu que *R. macconneli* poderia se tratar de um novo gênero, por apresentarem características cranianas de *Rhipidomys* e morfologia externa semelhante à *Thomasomys*, espécie irmã de *Rhipidomys*. Caso *R. macconneli* seja elevado à categoria de

gênero, segundo a inferência bayesiana com sequências de COI, *R. wetzeli* também deverá ser considerado outro gênero. Nossos resultados são congruentes às filogenias moleculares apresentadas em trabalhos anteriores (Costa, 2003; Costa *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2011).

Apenas 13 das 23 espécies reconhecidas para o gênero (Tribe, 2015) foram sequenciadas neste estudo e em estudos prévios. Para compreender melhor a filogenia do gênero há a necessidade de ampliar os estudos com filogenias moleculares, tanto na quantidade de espécies, quanto na diversidade delas, com amostras de diferentes localidades, e, também, utilizar sequências com diferentes taxas de evolução, de DNA mitocondrial e nuclear e, matrizes maiores.

*Rhipidomys* sp.2, como já foi dito, não é irmã à nenhuma outra espécie, de forma a poder ser considerada parte dela, ela agrupa externamente ao clado com *R. ipukensis*, *R. emiliae*, *R. mastacalis* e *R. nitela*. Logo os dados mitocondriais e nucleares indicam que seja uma espécie nova, porém nossa amostra consiste em um único indivíduo proveniente de Marabá, no Pará, dificultando a descrição da espécie. Morfologicamente o espécime se assemelha à *R. emiliae*, porém o holótipo desta espécie consiste apenas em uma pele tombada no American Museum of Natural History (Nova Iorque, EUA), analisamos a morfologia através de fotos e julgamos bem semelhantes. Considerando a localidade tipo de *R. emiliae*, Rio Mojú (PA), a localização de *Rhipidomys* sp. 2, Estrada de Ferro Carajás, em Marabá (PA) e as localidades dos espécimes de *R. emiliae* molecularmente identificados, Vila Rica, Ribeirão Cascalheiras e Barra do Garças (MT) e Altamira e Parauapebas (PA), ambas espécies parecem ocorrer próximo à localidade tipo, sendo necessária uma reavaliação do que realmente consiste a espécie *R. emiliae*.

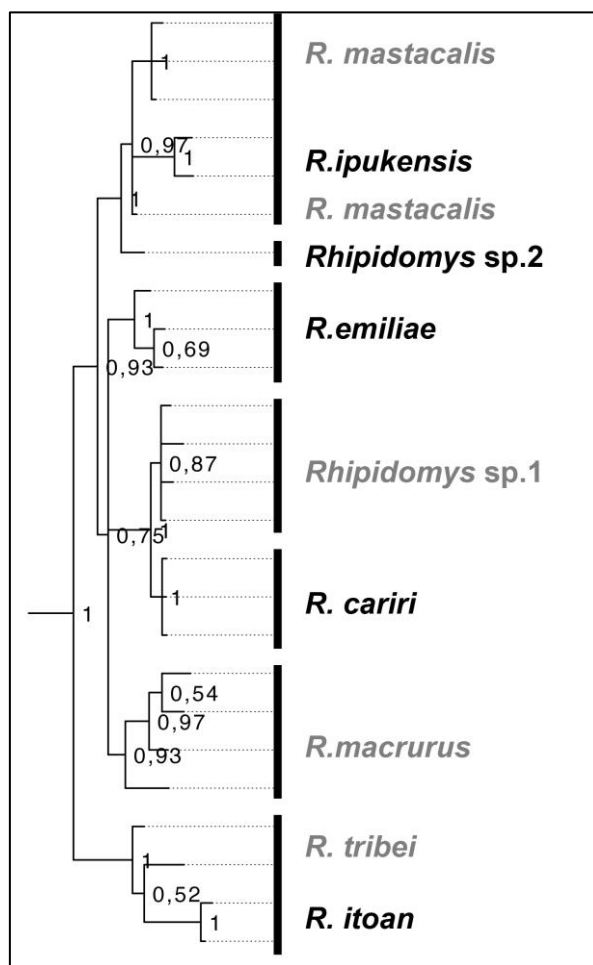
A estabilidade do atual táxon *R. emiliae* já havia sido colocada em dúvida com a descrição de *R. ipukensis* (Rocha *et al.*, 2011), irmã de *R. emiliae* nas análises mitocondriais. Segundo Tribe (2015), *R. ipukensis* ocorre a leste do Rio Araguaia e *R. emiliae* a oeste, como a localidade tipo de *R. emiliae* é a oeste, no Rio Mojú (PA), há novamente há a necessidade de reanalisar o que realmente compreende *R. emiliae*.

As filogenias geradas da análise concatenada de quatro sequências nucleares (N-[B](#) e [V](#)) não foram muito esclarecedora recuperando as apenas as relações de *Rhipidomys* sp.1 e *R. cariri* (N-[B](#) – [Figura 2](#) e [V](#)); *R. tribei* e *R. itoan* (N-[B](#) e [V](#)); *R. mastacalis* e *R. ipukensis* (N-[B](#)), e destas com *Rhipidomys* sp.2 (N-[B](#) e [V](#)). É interessante destacar que o clado formado por *R.*

*mastacalis*, *R. ipukensis* e *Rhipidomys* sp.2, não contempla *R. emiliae*, que nas demais análises é irmã à *R. ipukensis*. Esse fato caracteriza o processo de introgressão. *R. emiliae* agrupa com suporte à *Rhipidomys* sp.1, *R. cariri*, *R. macrurus*, *R. mastacalis*, *R. ipukensis* e *Rhipidomys* sp.2 (N-B) e, caso dispuséssemos de mais sequências nucleares, talvez conseguiríamos recuperar com suporte a relação da espécie com *Rhipidomys* sp.1, *R. cariri* e *R. macrurus* (ppb=0,75, N-B).

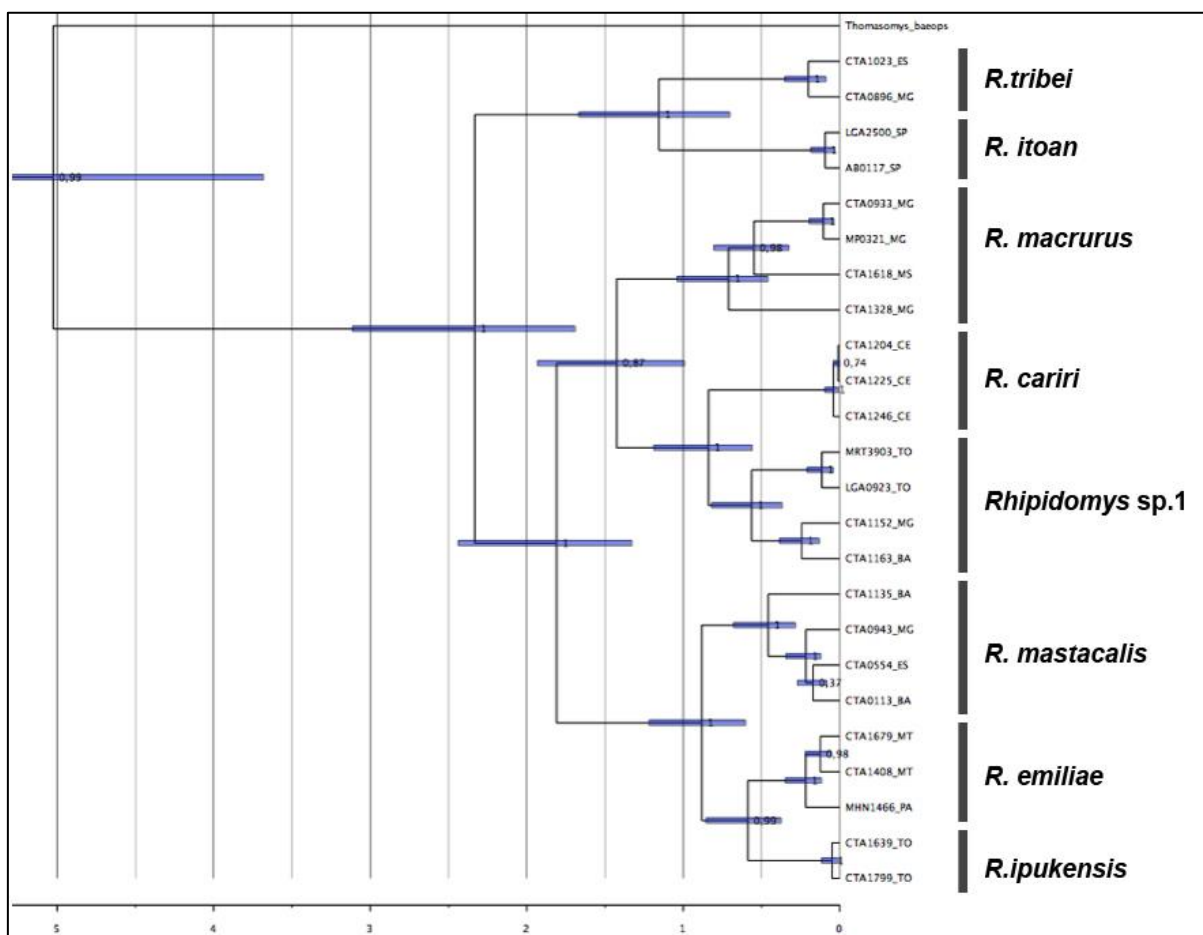
Nenhuma outra espécie, atualmente, apresenta sobreposição de distribuição geográfica à *R. emiliae*, Mato Grosso e leste do Pará (Tribe, 2015), exceto o espécime de *Rhipidomys* sp.2, em uma localidade no leste do Pará, como também nenhuma sequência de DNA mitocondrial (DNAMt) de outra espécie foi amostrado nas localidades onde foram amostrados os 26 indivíduos desta espécie. *R. ipukensis*, Tocantins e Goiás (Rocha *et al.*, 2011, Capítulo 1 do presente estudo), também não apresenta DNAMt de outra espécie. Logo, se todo o DNAMt amostrado em *R. emiliae* é relacionado à *R. ipukensis* e não encontramos DNAMt relacionado a outro clado em *R. ipukensis*, temos forte indícios de uma hibridação unidirecional. Provavelmente, ao ocorrer a hibridação no passado, havia compatibilidade apenas do gameta feminino de uma espécie relacionada à *R. ipukensis* e o gameta masculino de outra espécie, provavelmente alguma na linhagem de *R. macrurus*, *Rhipidomys* sp.1 e *R. cariri*; ou, alternativamente, o DNAMt de *R. ipukensis* era mais apto e foi selecionado, o que justifica também a “captura mitocondrial”, quando há a troca completa da mitocôndria de uma espécie por a de outra espécie (Toews *et al.*, 2012), esta troca pode ter ocorrido também por deriva genética.





**Figura 2-** Análise bayesiana de seqüências nucleares concatenadas (Ífib, RAG, GHR, IRBP). Espécies com nome em cinza encontram-se sem suporte (ppb).

A datação da matriz concatenada de CitB e IRBP (Figura 3) indicou a separação dos gêneros-irmãos *Rhipidomys* e *Thomasomys* aproximadamente entre 7 e 3,5 milhões de anos e a origem do ancestral comum às oito espécies amostradas aproximadamente entre 1,7 e 3,2 milhões de anos, não dispúnhamos de seqüências de IRBP disponíveis para as espécies mais distantemente relacionadas para utilizá-las na datação. A diversificação da maioria das espécies amostradas ocorreu aproximadamente entre 0,25 e 1,25 milhão de anos.



**Figura 3-** Árvore de datação da análise bayesiana da matriz concatenada com seqüências do gene CitB e IRBP. Valores de Probabilidade Posterior Bayesiana (ppb) e escala em milhões de anos. Os grupos externos utilizados para a calibração dos nós estão especificados no [Apêndice 2](#).

Para discutir sobre aspectos da distribuição da diversidade genética em um contexto geográfico foi utilizada como referência a árvore de CitB (CitB2 – [Figura 4](#)). As localidades para espécies já descritas estão conforme Tribe (2015).

A subfamília Sigmodontinae colonizou a América do Sul através da América Central, ainda é incerto se esses eventos ocorreram antes ou depois do fechamento do istmo do Panamá (Leite *et al.*, 2014). Irmão à *Rhipidomys*, há o gênero *Thomasomys*, que ocorre na América do Sul, desde próximo à América Central, indo à sul pela costa oeste.

*Rhipidomys wetzeli* e *R. macconnelli*, são os espécimes basais de *Rhipidomys* na filogenia, ambos ocorrem principalmente na Venezuela e Guiana. Considerando que existem espécies de *Rhipidomys* mais próximas à América Central, como *R. caucensis* na Colômbia e *R. coesi* na Colômbia, Venezuela e Trinidad; e na costa oeste, como *R. modicus* e *R. ochrogaster*, no Peru, locais de proximidade com *Thomasomys*, é possível que existam espécies mais basais no gênero que as amostradas no presente estudo.

Provavelmente a separação desses dois gêneros ocorre nas proximidades da América Central e *Thomasomys* se diversificou à oeste da América do Sul enquanto *Rhipidomys* se diversificou em todo o continente, porém sem conseguir alcançar latitudes muito ao sul.

*Rhipidomys macconnelli* apresenta muita sobreposição de distribuição com *R. wetzeli*. A diversificação dessas espécies pode ter sido simpátrica ou decorrente de contato secundário. Provavelmente mais espécies não amostradas devem estar nas linhagem de diversificação de *R. wetzeli* e *R. macconnelli*.

Internamente encontra-se, *R. macrurus*, distribuído no Cerrado e reciprocamente monofilético a linhagem que se bifurca em dois clados: o primeiro com as espécies *R. cariri*, que ocorre na Caatinga (CE e PE), e *Rhipidomys* sp.1, que ocorre na Bahia, Minas Gerais, Goiás e Tocantins; e o outro com as espécies: *R. leucodactylus*, *R. tribei*, *R. itoan*, *R. gardneri*, *Rhipidomys* sp2, *R. mastacalis*, *R. emiliae*, *R. nitela* e *R. ipukensis*. Aparentemente há sobreposição na área de distribuição de *Rhipidomys* sp.1 e *R. macrurus*, provavelmente resultante de contato secundário.

O clado irmão as espécies *R. cariri* e *Rhipidomys* sp1 se divide, no clado composto por *R. leucodactylus*, com distribuição bem ampla na floresta Amazônica, e irmã às espécies *R. tribei*, Sul de Minas e Espírito Santo, e *R. itoan*, Rio de Janeiro e leste de São Paulo; e no clado que apresenta *R. gardneri*, Peru e Bolívia, como espécie basal, seguida por *Rhipidomys*

sp2, um único exemplar proveniente de Marabá, PA. Irmã à *Rhipidomys* sp2 apresenta-se as linhagens de *R. ipukensis*, TO e norte de GO, e a que *R. nitela*, norte do Brasil até a Venezuela, é irmã de *R. mastacalis*, que ocorre na Mata Atlântica no leste do Brasil e provavelmente ocupou esta área no sentido norte-sul até o Rio de Janeiro. A relação entre *R. mastacalis* e *R. nitela* como espécies irmãs não se repete nas demais filogenias. Após a diversificação entre *R. mastacalis* e *R. ipukensis*, aproximadamente entre 0,7 e 1,25 milhão de anos ([Figura 3](#)), que *R. ipukensis* hibridiza com um ancestral de outra espécie, muito provavelmente da linhagem *R. cariri* e *Rhipidomys* sp. 1, provavelmente a última pela sobreposição na área de ocorrência, dando origem à atual espécie *R. emiliae*.

Conclui-se que houve três frentes de colonização do leste do Brasil, uma ao sul, *R. leucodactylus*, *R. itoan*, *R. tribei*; uma ao norte, *Rhipidomys* sp.2, *R. nitela*, *R. mastacalis*, *R. ipukensis* e; uma central, *Rhipidomys* sp.1 e *R. cariri*.

#### Evolução cariotípica

Andrades-Miranda (2002), separou *Rhipidomys* em três grupos, o que contém a espécie *R. nitela*,  $2n=48$ ,  $NF=66-68$  e  $2n=50$ ,  $NF=71-72$ , e outros dois grupos para incluir as espécies com número diplóide igual à 44, o primeiro com número fundamental baixo (NF),  $NF=48-52$ , o segundo com número fundamental alto,  $NF=72-80$ . Considerando a presente filogenia do grupo, percebemos que o  $2n=44$ , NF baixo, é plesiomórfico no gênero, e seu agrupamento não é monofilético. O grupo contendo a espécie *R. nitela* ao que tudo indica é monofilético, mesmo, cariologicamente (Capítulo 1 do presente estudo), aparentando ser composto por mais de uma entidade. As sequências utilizadas no presente trabalho (genbank) são provenientes da Guiana Francesa, provavelmente possuem cariótipos similares aos indivíduos classificados no Capítulo 1 como *Rhipidomys* aff. *nitela* 2. Há necessidade de aumentar a amostra desta espécie para conhecer melhor a diversidade.

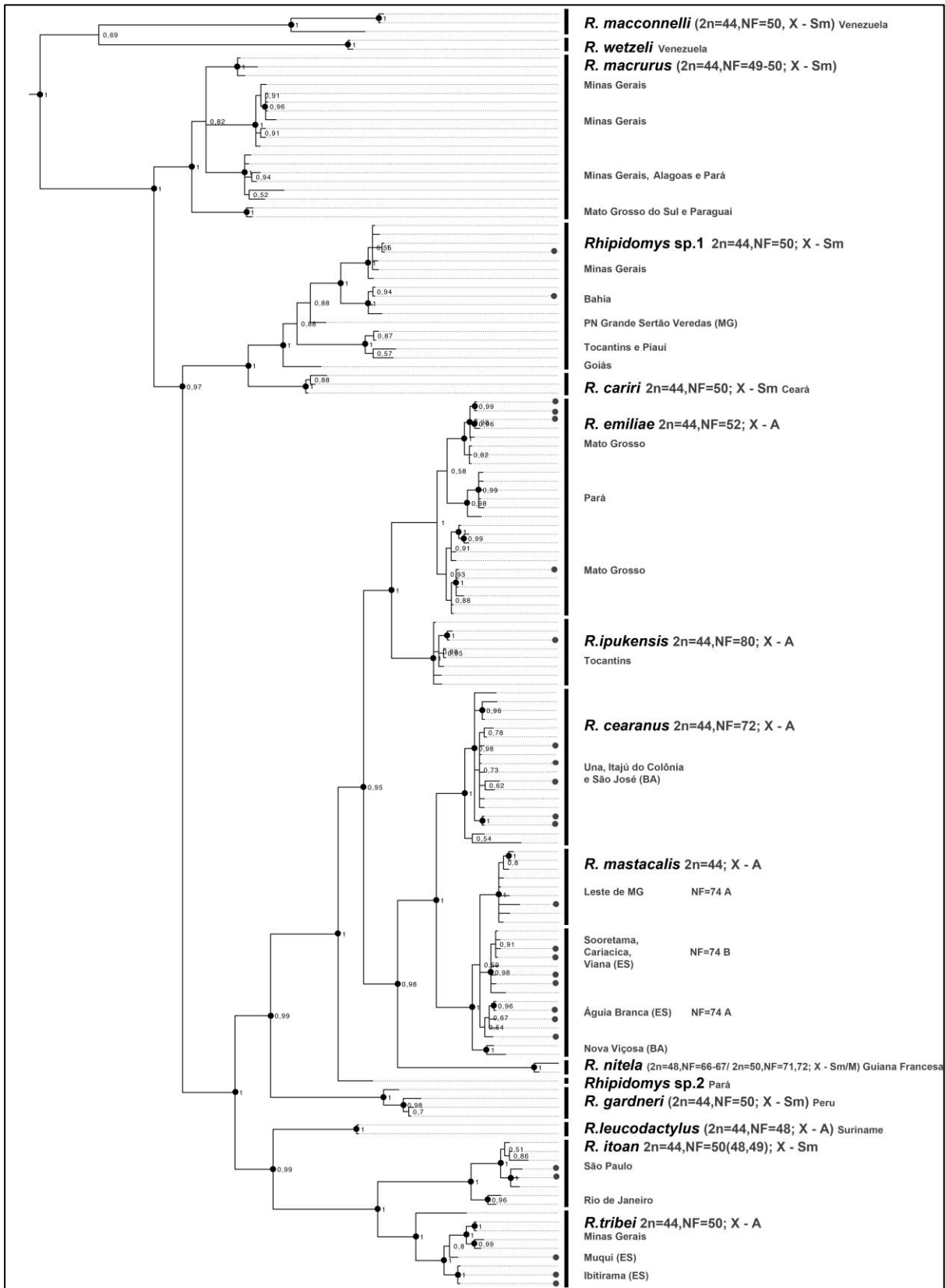
O grupo com  $2n=44$ , NF alto é reciprocamente monofilético ao grupo contendo *R. nitela* (desconsiderando uma única análise em que *R. nitela* aparece como irmã à *R. mastacalis* – CitB2). É interessante destacar que pelas filogenias com sequências mitocondriais (CitB, COI, T-B e V, M-B e V, D – [Figura 3](#)) neste grupo está inclusa a espécie *R. emiliae*, que apresenta NF baixo,  $NF=52$ , que apresenta mais uma evidência do evento de introgressão, que provavelmente ocorreu entre uma espécie de  $2n= 44$ , NF alto (*R. ipukensis*) e outra com

$2n=44$ , NF baixo (provavelmente *Rhipidomys* sp.1). Ou seja, cruzamentos entre espécies de NF alto e baixo podem ser viáveis em *Rhipidomys*, assim como o que ocorreu em Morro do Chapéu (BA) gerando um indivíduo com  $2n=44$ , NF=61 (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999). *R. emiliae* apresenta o NF mais alto, NF=52, podendo ter retido a morfologia de algum par cromossômico de *R. ipukensis*.

Se cruzamentos entre indivíduos com NF alto e baixo são viáveis, havendo a possibilidade de introgressão, é também provável que ocorra hibridização entre os indivíduos de NF baixo ou alto entre si, que por coloração convencional apresentam cariótipos bem similares. Ou seja, é desaconselhável inferir filogenias no gênero baseadas apenas em sequências mitocondriais. Outro indício de que pode estar ocorrendo eventos de hibridização são o par de cromossomos X heteromórfico no indivíduo do Piauí, talvez decorrente de um cruzamento entre *Rhipidomys* sp.1 e *R. macrurus*, que apresentam o cromossomo X submetacêntrico grande e acrocêntrico médio, respectivamente (Sousa, 2005).

Porém a morfologia do cromossomo X não é um bom parâmetro, com exceção ao X metacêntrico grande presente apenas em um dos cariótipos de *R. nitela* (Volobouev e Catzeflis, 2000), todos três principais clados que ocorrem no Brasil (*R. leucodactylus*, *R. tribei* e *R. itoan*; *R. macrurus*, *R. cariri* e *Rhipidomys* sp.1; *R. mastacalis*, *R. ipukensis* e *R. nitela*) apresentam cromossomos X submetacêntrico grande e acrocêntrico médio, inclusive as espécies basais podem apresentar as duas morfologias, *R. latimanus*, cromossomo X acrocêntrico médio, *R. macconnelli*, cromossomo X submetacêntrico grande.

Existe uma aparente conservação cariotípica em *Rhipidomys* e somente um clado que apresenta os cariótipos distintos ao  $2n=44$ , NF baixo. Neste clado temos o grupo com  $2n=44$ , NF alto, NF=72-80 e  $2n=48$ , NF=66-68 e  $2n=50$ , NF=71-72, portanto, não há uma diferenciação gradual desses cariótipos. Os eventos ocorreram no máximo em um intervalo de 2,5 - 1,25 milhão de anos, considerando a separação com o clado que contém *R. macrurus*, *R. cariri* e *Rhipidomys* sp.1). Na base desse agrupamento encontra-se *Rhipidomys* sp.2, uma espécie que poderia auxiliar no esclarecimento da evolução cariotípica no gênero, uma vez que é irmã ao clado que agrupa as espécies apresentando  $2n=44$ , NF alto e  $2n$  diferente de 44, mas basal à ela está *R. gardneri* que apresenta  $2n=44$ , NF=50.



**Figura 4-** Análise bayesiana de seqüências do Citocromo B (CitB2). Nós com círculos, cladogramas com suporte. Nós terminais, espécimes cariotipados neste estudo. Dados cariotípicos em parênteses não foram obtidos neste estudo.

Aparentemente, entre o grupo com  $2n=44$ , NF baixo há uma tendência sutil das espécies mais basais apresentarem cariótipos com NF mais baixo, como é o caso de *R. leucodactylus* e *R. latimanus*, NF=48, e espécies em posições mais apicais apresentarem NF mais alto, como *R. emiliae*, NF=52.

Com exceção à *R. itoan* e *R. macrurus* que possuem  $2n=44$ , NF=48-50, um par que pode se apresentar acrocêntrico, subtlocêntrico ou heteromórfico, provavelmente decorrente adição de heterocromatina constitutiva (Svartman e Almeida, 1993), todas as demais espécies com NF baixo apresentam apenas um único cariótipo atribuídos à elas, inclusive com a morfologia do cromossomo X conservada (desconsiderados aqui o provável híbrido do Piauí anteriormente citado (Sousa, 2005) e havendo necessidade de revisar os cariótipos de *R. itoan* (Costa *et al.*, 2011)). No entanto, cariótipos idênticos por coloração convencional podem corresponder a mais de uma espécie, por exemplo:  $2n=44$ , NF=50 com cromossomo X metacêntrico, é observado em *R. itoan*, *R. cariri*, *Rhipidomys* sp.1, *R. gardneri* e;  $2n=44$ , NF=50 com cromossomo X acrocêntrico em *R. tribei* e *R. macrurus*. No entanto, dados de bandeamento sugerem distinções, *R. tribei*, por exemplo, apresenta marcações de Ag-RON distintas de *R. macrurus* (Svartman e Almeida, 1993; Carvalho, 2009)

Aparentemente em *Rhipidomys* o cariótipo não é um marcador espécie-específico no grupo com NF baixo, uma vez que espécies irmãs como *R. cariri* e *Rhipidomys* sp.1 podem apresentar cariótipo muito similar e, *R. itoan* e *R. tribei* podem se diferenciar apenas pela morfologia do X (adição de heterocromatina). Como os cariótipos são bem similares neste grupo e pares heteromórficos aparecem com frequência, fica difícil visualizá-los como agente de especiação.

Nos dois grupos remanescentes o cariótipo é mais variável, mesmo entre entidades taxonômicas atualmente consideradas como espécies, por exemplo *R. mastacalis* apresenta três cariótipos distintos e *R. nitela*, cinco. Pares heteromórficos são observados em três dos cinco cariótipos de *R. nitela*, talvez indicando uma instabilidade do cariótipo, que pode ser o fator que desencadeou o aumento do NF dentro de *Rhipidomys*.

Em *Rhipidomys*, a conservação do  $2n$  e a variação no NF entre e dentro dos agrupamentos, pode ser justificada principalmente por eventos de inversões pericêntricas e/ou reposicionamento centromérico e, em alguns casos adições de heterocromatina (Zanchin *et al.*, 1992; Svartman e Almeida, 1993; Silva e Yonenaga-Yassuda 1999; Volobouev e Catzflis,

2000; Carvalho, 2009). Translocações robertsonianas e em tandem, e outros rearranjos cromossômicos são utilizados para explicar a diferença no número diplóide (Silva e Yonenaga-Yassuda 1999; Volobouev e Catzflis, 2000). Todas as conclusões anteriores foram baseadas em técnicas de citogenética clássica e hibridações com sondas teloméricas e nenhum dos estudos indicou os trechos cromossômicos envolvidos nos rearranjos. Para uma análise mais detalhada e segura deve-se aplicar técnicas de pintura de cromossomos com sondas espécie-específicas. A diferenciação entre eventos de inversão pericêntrica e reposicionamento centromérico é ainda mais complexa, necessitando de sondas que mapeiem regiões de um mesmo cromossomo. Apesar da grande variação morfológica dos cromossomos entre as espécies do gênero indicando vários rearranjos, em nenhuma espécie que foi utilizada FISH com sondas teloméricas foram observadas marcações teloméricas intersticiais, as quais poderiam dar indícios do tipo de rearranjo ocorrido.

O cariótipo ancestral de *Rhipidomys* (Figura 5) provavelmente possuía  $2n=44$  e NF baixo, considerado por ser o mais basal em *Rhipidomys* e, porque os gêneros aparentados da tribo Thomazomyini possuem várias espécies que apresentam número diplóide próximo à 44 e número fundamental baixo, como as espécies *Aepeomys reigi*,  $2n=44$ , NF=46, *A. lugens*  $2n=28$ , NF=48, *Thomasomys laniger*  $2n=40$ , NF=40 e  $2n=42$ , NF=40, *T. monochromos*,  $2n=42$ , NF=42, *T. andersoni*,  $2n=44$ , NF=42 e *T. kalinoswskii*, *T. notatus* e *T. taczanowski*  $2n=44$ , NF=44 (Gardner e Patton, 1976; Aguilera *et al.*, 1994; 2000; Salazar-Bravo e Yates, 2007).

Os grupos com  $2n=44$ , NF alto (NF=74-80) e  $2n$  diferente de 44 (NF=66-72) se apresentam em um único clado e não é observada uma variação gradativa do NF, com diferentes espécies apresentando NFs intermediários, mas sim um evento que lembra o equilíbrio pontuado, no qual uma linhagem acumula vários rearranjos cromossômicos.

No grupo com  $2n$  diferente de 44, foram registrados cinco cariótipos distintos, que provavelmente retratam 3 entidades taxonômicas *R. nitela* com  $2n=44$ , NF=66 e 68, *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 com  $2n=50$ , NF=71-72, *Rhipidomys* aff. *nitela* 2 com  $2n=48$ , NF=67. Considerando a morfologia cromossômica desses cariótipos e a tendência de aumento do número diplóide e de braços cromossômicos no gênero, um provável cariótipo ancestral para este grupo, apresentaria  $2n=48$ , NF=64, composto pelo menor número diplóide presente no grupo, 14 pares acrocêntricos – 13 pares acrocêntricos apresentados pelo complemento de

$2n=48$ ,  $NF=66$  e o maior par do complemento, que se apresenta acrocêntrico em *Rhipidomys* aff. *nitela* 2 e nas espécies dos demais grupos –, e 9 pares meta/submeta/subtelocêntricos. Cromossomo X subtelocêntrico, morfologia presente em 4 dos 5 complementos conhecidos deste grupo e presente nos demais grupos. Cromossomo Y acrocêntrico pequeno. O complemento ancestral que deu origem aos grupos com  $2n$  diferente de 44 e  $2n=44$  e  $NF$  alto, apresentaria  $2n=44$ ,  $NF=60$ , com 12 pares acrocêntricos – equivalente à 12 dos 14 pares acrocêntricos do grupo de  $2n$  diferente de 44, menos os dois pares responsáveis pelo aumento no número diplóide– e os mesmos 9 pares meta/submeta/subtelocêntricos apresentados pelo cariótipo ancestral do grupo com  $2n$  diferente de 44. Cromossomo X subtelocêntrico ou acrocêntrico e cromossomo Y acrocêntrico pequeno (Figuras 5 e 6). Ao observarmos as distinções cromossômicas entre estes dois grupos (Figura 6) representados por um único cariótipo de cada, percebemos apenas 11 pares compartilhados entre *R. nitela* e *R. mastacalis*, porém o complemento cariotípico de *Rhipidomys nitela* que usamos na comparação apresenta  $2n=48$ ,  $NF=68$ , com um par de acrocêntrico a menos que o complemento de  $2n=44$ ,  $NF=66$ .

Grande parte da variação no número fundamental no gênero era tida como decorrente de eventos de inversão pericêntrica (Zanchin *et al.*, 1992; Svartman e Almeida, 1993; Silva e Yonenaga-Yassuda 1999; Volobouev e Catzflis, 2000), porém nenhum dos trabalhos buscou identificar os trechos rearranjados. Carvalho (2009), ao analisar o padrão de bandeamento G de espécies com  $2n=44$   $NF$  baixo e  $2n=44$   $NF$  alto, concluiu que os cromossomos aparentemente mantinham o mesmo padrão, apenas com alterações na posição centromérica, propondo o reposicionamento centromérico o principal evento responsável pela mudança da morfologia cromossômica. A autora destacou que a ausência de marcações teloméricas intersticiais dariam suporte a essa hipótese. Nossos dados não permitem concluir o rearranjo responsável por essas mudanças, mas sabemos que eles ocorrem com grande frequência em um clado específico do gênero e, aparentemente, em apenas um único sentido: cromossomos acrocêntricos se tornando meta/submeta/subtelocêntricos. A ausência de cariótipos com  $NF$  intermediários nos faz refletir se houve algum fator que desencadeou repentinamente essa grande mudança morfológica nos pares cromossômicos.

O gênero *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae) apresenta um padrão semelhante a *Rhipidomys*, com espécies apresentando  $2n=48$  e o número fundamental variando de 56 a 96, porém nesse gênero o padrão de bandas C revelou que todos os braços curtos, em indivíduos

com NF alto, eram heterocromáticos (Pathak, 1973). No entanto, em *Rhipidomys*, a presença de heterocromatina é normalmente pericentromérica, inclusive nos pares com dois braços não justificando o aumento no NF.

A presença de heterocromatina em *Rhipidomys* justifica as variações no NF (48, 49 e 50) dentro de espécies como *R. macrurus* e *R. itoan* que apresentam um par médio com duas morfologias distintas, acrocêntrico e subtelocêntrico. Svartman e Almeida (1993) verificaram que o braço curto deste cromossomo, quando subtelocêntrico, é heterocromático. Pares heteromórficos também são relatados em *R. nitela* e *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2,  $2n=48$ , NF=66,  $2n=48$ , NF=67 e  $2n=50$ , NF=71 (Silva e Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev e Catzflis, 2000; Thomazini, 2009), porém não há pares, com exceção aos alossomos, com braços completamente heterocromáticos e, os demais padrões de bandeamentos não são suficientes para identificar o rearranjo. Em *Rhipidomys* aff. *nitela* 2 (Volobouev e Catzflis, 2000), o par 18 é heteromórfico, composto por um cromossomo metacêntrico e outro submetacêntrico, o padrão de bandas G nos permite observar que não é uma simples adição de heterocromatina que ocorre neste par, mas não permite distinguir entre inversão pericêntrica e reposicionamento centromérico.

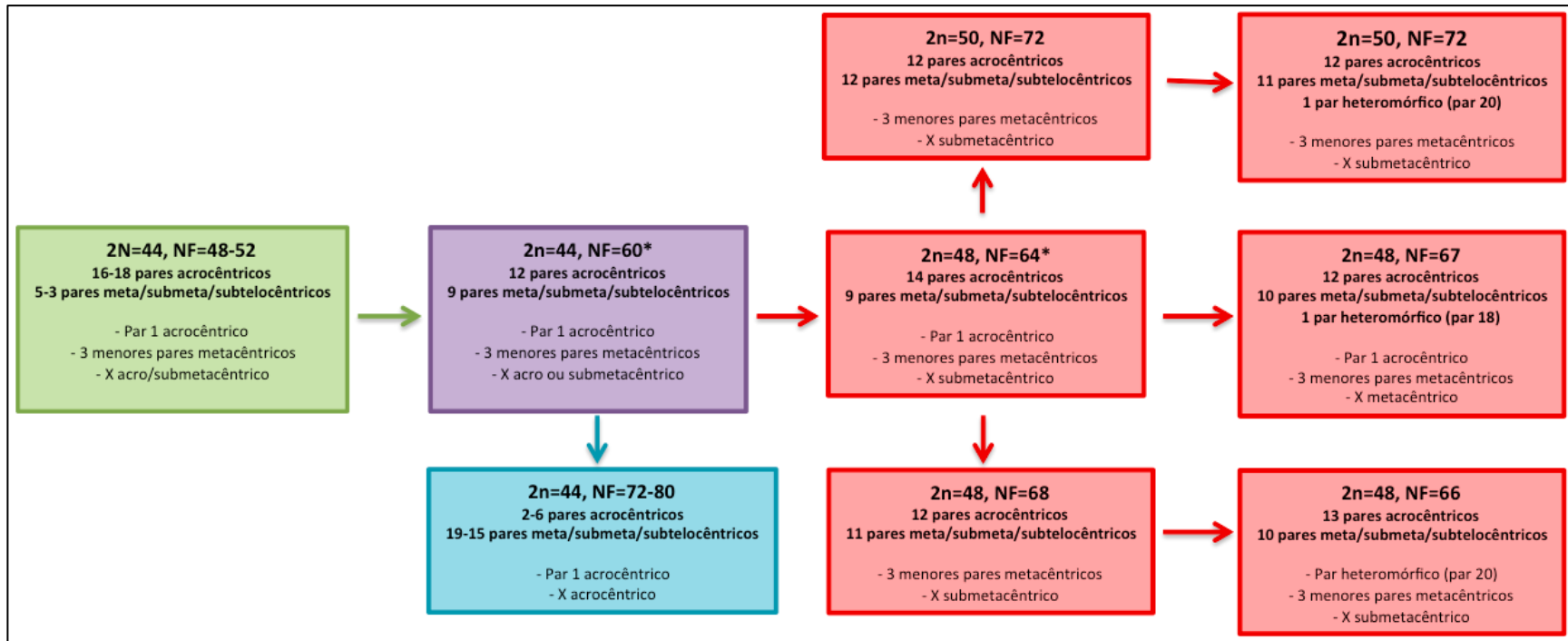
*Rhipidomys* apresenta  $2n=44$ , na maioria das espécies, e  $2n=48$  e 50 em *R. nitela*, *Rhipidomys* aff. *nitela* 1 e 2, normalmente rearranjos simples como fissões cromossômicas são a explicação mais parcimoniosa para essas variações, mas a comparação cariotípica (Figura 6) aparentemente não corrobora com este rearranjo e, novamente, a ausência de marcações teloméricas intersticiais não é elucidativa. A partir da comparação dos cariótipos (Figura 5), podemos supor surgiram dois cromossomos acrocêntricos pequenos ao longo da transformação do cariótipo com  $2n=44$ , NF baixo em um cariótipo com  $2n=48$  NF=68, porém nenhum par com dois braços desapareceu no segundo complemento, fato que indicaria fissão. Existe uma variação morfológica grande entre os cariótipos com NF alto, inclusive com a presença de pares heteromórficos em três dos cinco complementos, e o limite específico entre as carioformas ainda é incerto. Uma hipótese para a variação do número diplóide sem a presença de marcações intersticiais teloméricas pode ser o não pareamento correto dos homólogos na meiose resultando em gametas desbalanceados, podendo gerar indivíduos com cromossomos a mais, que podem ter se mantido na população.

Avaliando a evolução cariotípica em Cricetídeos com sondas fluorescentes de

cromossomos inteiros de *Mesocricetus auratus* e bandeamento G, Romanenko *et al.* (2007) concluíram que a variação entre os cariótipos desse grupo à partir de um provável cariótipo ancestral, envolvem fusões, fissões, adições de braços heterocromáticos e muitas inversões. Os autores nem comentam da possibilidade de reposicionamento centromérico, rearranjo que dependendo de como a sonda híbrida no cromossomo, pode não ser diferenciado de uma inversão.

O surgimento de novos centrômeros, decorrente do reposicionamento centromérico é relativamente frequente por exemplo, em macacos Rhesus, por exemplo, 9 de 20 cromossomos apresentam modificações da posição do centrômero decorrentes de reposicionamento; após a divergência das zebras, os burros tiveram 5 centrômeros com posição modificada (Rochi *et al.*, 2012). Em roedores, existem casos documentados para o cromossomo X de *Tokudaia* (Muridae) (Kobayashi *et al.*, 2008); em um único par cromossômico na diferenciação entre duas espécies do gênero *Ellobius* (Cricetidae, Rodentia), *E. talpinus* (2n=54, NF=54) e *E. tancrei* (2n=54, NF=56) (Bakloushinskaya *et al.*, 2012) e; alguns eventos na diferenciação entre ratos e camundongos (Zhao *et al.*, 2004; Veyrunes *et al.*, 2006; Mlynarski *et al.*, 2010; Trifinov *et al.*, 2010).

Para melhor esclarecer o processo de evolução cariotípica em *Rhipidomys* é necessária a realização de técnicas de citogenética molecular que permitem identificar os trechos rearranjados.



**Figura 5.** Esquema da evolução cariotípica no gênero *Rhipidomys*, com cariótipos do grupo 2n=44, NF baixo representados em verde, um destes dando origem ao provável cariótipo ancestral, com 2n=44, NF=60 (lilás) dos outros dois grupos, com 2n=44, NF alto (azul) e 2n diferente de 44 (vermelho). Os complementos marcados com asteriscos (\*) são cariótipos ancestrais putativos.



### *Rhipidomys mastacalis*

Em *R. mastacalis*, ocorre no leste do Brasil da Bahia ao Rio de Janeiro, alocando também a localidade tipo do holótipo de *R. cearanus* (nome disponível), Serra do Ipiapaba, CE (Tribe, 2015; excluí as localidades Goiás, que são ocorrências de *R. ipukensis*). Observamos em nossas análises três complementos distintos: o primeiro com  $2n=44$ ,  $NF=72$ , com seis pares de cromossomos acrocêntricos, o maior par autossômicos, dois conjuntos com dois pares pequenos cada apresentando tamanhos semelhantes entre si e, o menor par do complemento, para o sul da Bahia acima do Rio Jequitinhonha; o segundo com  $2n=44$ ,  $NF=74$ , com todos esse pares exceto o menor par do complemento, que se apresentou com dois braços, para indivíduos de Minas Gerais e Águia Branca no norte do Espírito Santo, e; o terceiro com  $2n=44$ ,  $NF=74$  também, mas apresentando os mesmos pares do complemento de  $NF=72$  exceto um par da maior dupla de cromossomos pequenos, para a região central e sul do Espírito Santo. A árvore CitB2 ([Figura 4](#)), separou o clado ao norte do Jequitinhonha,  $NF=72$ , do clado ao sul, com  $NF=74$ . No clado ao norte ocorrem as localidades de Una e Itajú do Colônia (BA) e, ao sul, Nova Viçosa (BA) divisa com ES, localidades do Espírito Santo, e do leste de Minas Gerais. No clado Sul, as relações entre os indivíduos de Minas Gerais apresentaram suporte, bem como entre os do Espírito Santo (Cariacica, Muqui, Viana, Sooretama), exceto os de Águia Branca. Os dados morfológicos também corroboram a diferenciação desses clados (comm. pers Roberta Paresque). É possível sugerir a divisão de *R. mastacalis* em duas espécies, uma ao sul do Jequitinhonha, *R. mastacalis*, por compreender a localidade tipo da espécie que é Lagoa Santa (MG) e outra ao norte do Rio Jequitinhonha.

Com a disponibilidade do nome *R. cearanus* Thomas, 1910 atualmente sinônimo de *R. mastacalis*, cuja a localidade tipo é Serra do Ipiapaba (CE), que apresenta um cariótipo idêntico aos espécimes atualmente identificados com *R. mastacalis* encontrados acima do Jequitinhonha (Sousa, 2005; revisado no Capítulo 1 do presente estudo), sugiro elevá-lo à espécie válida, destacando a necessidade da avaliação morfológica.

Com nossas considerações *R. mastacalis* passaria a apresentar dois citótipo diferentes com  $2n=44$ ,  $NF=74$ , porém ambos estão diretamente relacionado ao cariótipo com  $NF=72$ , logo é provável que nesta espécie também ocorra esta última carioforma. *R. cearanus* apresenta, até o momento, apenas a carioforma com  $NF=72$ .

A análise cariotípica e molecular parece corroborar com o fato de que a colonização de

*R. mastacalis* na Mata Atlântica, se deu no sentido Norte-Sul.

*Rhipidomys* sp.1

*Rhipidomys* sp. 1 indica ser uma espécie válida conforme demonstrado pela análise mitocondrial ([Figura 4](#)), o clado se diversificou ainda na região central do Brasil (Goiás, Tocantins, Piauí e noroeste de Minas Gerais), para depois colonizar mais a leste (Minas e Bahia). Este clado se separou de sua espécie irmã, *R. cariri*, provavelmente próximo a época de separação de *R. mastacalis* de *R. ipukensis*. Há a necessidade de reavaliar os espécimes de coleção identificados como *R. macrurus*, pois podem ser representantes desta espécie.

Molecularmente identificamos uma possível espécie nova, *Rhipidomys* sp. 2, e propomos a revalidação da espécies *R. cearanus* a partir de dados moleculares e citogenéticos. Registramos um evento de introgressão genética no gênero o que enfatiza a importância de usarmos outros marcadores não só os mitocondriais para conhecer as relações em *Rhipidomys*. Alguns cariótipos de *Rhipidomys*, especialmente os do grupo de  $2n=44$ , NF baixo, por coloração convencional, podem ocorrer em mais de uma espécie, não sendo um bom auxiliar na taxonomia do gênero. No entanto, padrões de bandas sugerem variações. Aparentemente há uma sutil tendência de espécies mais basais apresentarem menor NF. O gênero *Rhipidomys* costuma ser pouco coletado, muito provavelmente em decorrência dos seu hábitos arborícolas. Atualmente amostras moleculares tem sido conservadas rotineiramente, no entanto, preparações citogenéticas dos espécimes são raras, como Tribe (1996) enfatizou, há a necessidade coletar também essas amostras, que podem ser bons auxiliares na taxonomia.

## Referências

- Aguilera M, Pérez-Zapata A, Martino A, et al (1994) Karyosystematics of *Aepomys* and *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). *Acta Científica Venezolana*, 45: 247–248.
- Aguilera M, Pérez-Zapata A, Ochoa J, Soriano P (2000) Karyology of *Aepeomys* and *Thomasomys* (Rodentia: Muridae) from the Venezuelan Andes. *J. Mamm.*, 81(1): 52-58.
- Bakloushinskaya IYu, Matveevsky SN, Romanenko SA et al (2012) A comparative analysis of mole voles sibling species *Ellobius tancrei* and *E. talpinus* (Cricetidae, Rodentia) by chromosome painting and synaptonemal complexes structures of hybrids. *Cytogen Genome Res* 136:199–207.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T (1992) Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: *Molecular genetics analyses of populations*. pp 225–269.
- Carvalho AH (2009) Caracterização citogenética de espécies de *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) de Minas Gerais. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 69.
- Costa BM de A, Geise L, Pereira LG, et al (2011) Phylogeography of *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) and description of two new species from southeastern Brazil. *J Mammal* 92:945–962.
- Costa LP (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals *Journal of Biogeography* 30:71–86.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, et al (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5):294–299.
- Guindon S, Gascuel O (2003) A Simple, Fast, and Accurate Method to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst Biol* 52:696–704.
- Gardner AL, Patton JL (1976) Karyotypic variation in Oryzomyini rodents (Cricetinae) with comments on chromosomal evolution in the Neotropical cricetinae complex. *Occasional Papers of the Museum of Zoology. Universidade Estadual de Louisiana*, 9:1–48.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, et al (2012) Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649.
- Kobayashi T, Yamada F, Hashimoto T et al. (2008) Centromere repositioning in the X chromosome of X0/X0 mammals, Ryukyu spiny rat. *Chromosome Res* 16:587–593.
- Lanfear R, Calcott B, Ho SYW, Guindon S (2012) PartitionFinder: Combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Mol Biol Evol* 29:1695–1701.
- Leite RN, Kolokotronis S-O, Almeida FC, et al. (2014) In the Wake of Invasion: Tracing the Historical Biogeography of the South American Cricetid Radiation (Rodentia, Sigmodontinae). *PLoS ONE* 9(6): e100687.
- Leite YLR, Kok PJR, Weksler M (2015) Evolutionary affinities of the “Lost World” mouse suggest a late Pliocene connection between the Guiana and Brazilian shields. *J. Biogeogr.* 1–10.

- Matocq MD, Shurtliff QR, Feldman CR (200) Phylogenetics of the woodrat genus *Neotoma* (Rodentia: Muridae): Implications for the evolution of phenotypic variation in male external genitalia. *Mol. Phylogenet. Evol.* 42, 637–652.
- Messing J (1983) New M13 vectors for cloning. *Methods Enzymol.* 101 20-79.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: 2010 Gateway Computing Environments Workshop, GCE 2010.
- Mlynarski EE, Obergefell CJ, O’Neill MJ, O’Neill RJ (2010) Divergent patterns of breakpoint reuse in murid rodents. *Mamm Genome* 21:77–87.
- Pathak S, Hsu TC, Arrighi FE (1973) Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae) – IV. The role of heterochromatin in karyotypic evolution. *Cytogenet. Cell Genet.* 12: 315–326
- Rocha RG, Ferreira E, Costa BMA, et al (2011) Small mammals of the mid-Araguaia River in central Brazil, with the description of a new species of climbing rat. *Zootaxa* 34:1–34.
- Rochi M, Archidiacono N, Schempp W et al (2012) Centromere repositioning in mammals. *Heredity* 108, 59–67.
- Romanenko SA, Volobouev VT, Perelman PL et al (2007) Karyotype evolution and phylogenetic relationships of hamsters (Cricetidae, Muroidea, Rodentia) inferred from chromosomal painting and banding comparison. *Chromosome research* 15:283–297.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Salazar-Bravo J, Yates TL (2007) A new species of *Thomasomys* (Cricetidae: Sigmodontinae) from central Bolivia. In: Kelt, DA, Lessa EP, Salazar-Bravo J, Patton JL (eds.). *The Quintessential Naturalist: Honoring the Life and Legacy of Oliver P. Pearson*. Volume 134. 981.
- Silva MJJ, Yonenaga-Yassuda Y (1999) Autosomal and sex chromosomal polymorphisms with multiple rearrangements and a new karyotype in the genus *Rhipidomys* (Sigmodontinae, Rodentia). *Hereditas*, 131: 211–220.
- Smith MF, Patton JL (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 50, 149–177.
- Sousa MANS (2005) Pequenos mamíferos (Didelphimorphia, Didelphidae e Rodentia, Sigmodontinae) de algumas áreas da Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Brejo de Altitude do Brasil: considerações citogenéticas e geográficas. Tese. Universidade de São Paulo, São Paulo. 143.
- Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688– 2690.
- Stanhope MJ, Czelusniak J, Jing-Sheng S, et al (1992) A molecular perspective on mammalian evolution from the gene encoding interphotoreceptor retinoid binding protein, with convincing evidence for bat monophyly. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1(2):148-160.
- Svartman M, de Almeida EJC (1993) Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Brazil. *Caryologia*, 46(2–3): 219–225.

- Teeling EC, Scally M, Kao DJ, et al (2000) Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats. *Nature*, 403, 188–192.
- Thomazini NB (2009) Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil. Dissertação. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. 97.
- Toews DPL, Brelsford (2012) A The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21, 3907–3930
- Tribe CJ (1996) The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision. Tese. University College London, Londres. 313.
- Tribe CJ (2015) Genus *Rhipidomys* Tschudi, 1945. In: Patton JL, Pardiñas UFJ, D'Elía G (Eds) *Mammal of South America*, volume 2 – Rodents. Chicago and London: The University of Chicago Press, 583–617.
- Trifonov VA, Kosyakova N, Romanenko SA et al. (2010) New insights into the karyotypic evolution in mu-roid rodents revealed by multicolor banding applying murine probes. *Chromosome Res* 18:265–275.
- Upham NS, Ojala-Barbour R, Brito MJ, et al (2013) Transitions between Andean and Amazonian centers of endemism in the radiation of some arboreal rodents. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 1–24.
- Veyrunes F, Dobigny G, Yang F et al (2006) Phylogenomics of the genus *Mus* (Rodentia; Muridae): extensive genome repatterning is not restricted to the house mouse. *Proc Biol Sci* 273:2925–2934.
- Volobouev VT, Catzefflis FM (2000) Chromosome banding analysis (G-, R- and C-bands) of *Rhipidomys nitela* and a review of the cytogenetics of *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Mammalia*, 64(3): 353–360.
- Xia X (2013) DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Mol Biol Evol* 30:1720–1728.
- Xia X, Xie Z, Li WH (2003) Effects of GC content and mutational pressure on the lengths of exons and coding sequences. *J Mol Evol* 56:362–370.
- Zanchin NIT, Langguth A, Mattevi MS (1992) Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). *Journal of Mammalogy*, 73(1): 120–122.
- Zhao S, Shetty J, Hou L, Delcher A et al (2004) Human, mouse, and rat genome large-scale rearrangements: stability versus speciation. *Genome Res* 14:1851–1860.

## Apêndices

**Apêndice 1-** Espécimes sequenciados (CTA- Coleção de tecido animal, B- Bayesiana, V- Máxima Verossimilhança, N- nuclear, M- mitocondrial, T- todas, mitocondrial e nuclear, D- datação, IRBP e CitB)

Espécie	Estado	Localidade	Sexo	Número da Coleção	CTA	Número de Coletor	Outras numerações	Cariotipados	COI (B/V)	CitB 1 (B/V)	CitB 2a (B)	Concatenadas (N, M, T, D)
<i>Rhipidomys cariri</i>	PE	Buíque	F	LGA 1793		LEM 22		x			x	
<i>Rhipidomys cariri</i>	CE	Crato	M	LGA 1975	1246	LPC 0288		x	x	x		x
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Vila Rica		CIT 0715						x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2033	1676	LPC 0728		x		x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2034	1679	LPC 0731		x	x	x	x	x
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2038	1670	LPC 0722			x	x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2039	1686	LPC 0739				x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2040	1701	LPC 0758			x	x		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2041	1687	LPC 0740		x			x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	M	LGA 2073	1438	LPC 0485					x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2074/2075	1680	LPC 0732 (A/B)					x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	M	LGA 2076	1436	LPC 0483		x		x		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	M	LGA 2079	1684	LPC 0737				x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2080	1706	LPC 0763		x			x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F	LGA 2136	1700	LPC 0757		x		x		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	PA	Canaã dos Carajás	F	MCN-MG 1466					x	x	x	x
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	F		1394	LPC 0440				x		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	F		1408	LPC 0455			x	x		x
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Barra do Garças	F		1410	LPC 0457				x		
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F		1721	LPC 0778				x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F		1722	LPC 0779				x	x	
<i>Rhipidomys emiliae</i>	MT	Ribeirão Cascalheira	F		1723	LPC 0780					x	
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	TO	Peixe	M	LGA 2135	1639	LPC 0691		x	x		HM594633.1	x
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	TO	Lagoa da Confusão	F	UFES-MAM 1449	1799	RGR 399			x		x	x
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	TO	Lagoa da Confusão	F	UFES-MAM 1450	1800	RGR 403			x			
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	TO	Caseara	M		2252	RGR 184					x	

Espécie	Estado	Localidade	Sexo	Número da Coleção	CTA	Número de Coletor	Outras numerações	Cariotipados	COI (B/V)	CitB 1 (B/V)	CitB 2a (B)	Concatenadas (N, M, T, D)
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Cotia	F	LGA 2499		B 367		x			x	
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Cotia	M	LGA 2500		B 364		x	x	x	x	x
<i>Rhipidomys itoan</i>	SP	Capão Bonito				AB 117			x	x	x	x
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Serra da Canastra		CIT 1050					x	x	x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Nova Ponte	F	LGA 1976	1267	LPC 0312		x			x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MS	Dourados	M	LGA 2071	1618	LPC 0670			x	x		x
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Nova Ponte	M	LGA 2130	1328	LPC 0373		x	x	x		x
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Morada Nova de Minas	F	MCN-MG 1791					x	x	x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Pompéu	M	MCN-MG 1973						x	x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	São Roque de Minas (PARNA Canastra)	F	MCN-MG 2720							x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Aiuruoca		MP 321		MP 321					x	x
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Casa Alpina - Itamonte		MP 402		MP 402					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Casa Alpina - Itamonte		MP 413		MP 413					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	GO			MP 502		MP 502					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Casa Alpina - Itamonte		MP 523		MP 523					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	PA	Canaã dos Carajás	F		3759	BAC 345					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	Nova Ponte	F		1263	LPC 0308			x	x		
<i>Rhipidomys macrurus</i>	GO		F		3770	LPC 896					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	AL	São José da Laje	M		3775	LPC 906					x	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	MG	São Gonçalo do Rio Preto	F		933	YL 066					x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	M	LGA 1926	1168	LPC 0208					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Coronel Murta	F	LGA 1977	1152	LPC 0191		x	x	x	x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	CE	Crato	M	LGA 1978	1204	LPC 0245		x	x		x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Una	M	LGA 2031	1135	LPC 0101			x	x	x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Turmalina	F	LGA 2032	943	YL 078		x	x	HM594644.1HM594644.1		x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	CE	Crato	M	LGA 2070	1245	LPC 0287			x			
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	CE	Crato	F	LGA 2072	1225	LPC 0267		x	x		x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	M	LGA 2077	1164	LPC 0204		x	x	x		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	M	LGA 2129	1163	LPC 0203		x	x		x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica		LGA 329						x	x	

Espécie	Estado	Localidade	Sexo	Número da Coleção	CTA	Número de Coletor	Outras numerações	Cariotipados	COI (B/V)	CitB 1 (B/V)	CitB 2a (B)	Concatenadas (N, M, T, D)
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Dores de Guanhães	M	MCN-MG 1192					x		x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Santana do Riacho	M	MCN-MG 1347						x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Conceição do Mato Dentro	F	MCN-MG 2303							x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	Ipatinga	M	MCN-MG 2457							x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Nova Viçosa	F	UFES-MAM 138	113	SLF 103			x	x	x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1472	849	YL 378	LGA 1272	x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1474	853	YL 433	LGA 1261	x	x	x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 1475	855	YL 435	LGA 1268	x		x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Muqui		UFES-MAM 1661		BAC 255	LGA 1816	x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Águia Branca	M	UFES-MAM 416	368	YL 422			x	x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 600	550	LPC 1049	LGA 1880			x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 602	551	LPC 1051	LGA 1882	x		x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 603	552	LPC 1054	LGA 1885	x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 604	553	LPC 1053	LGA 1884	x	x	x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 605	554	LPC 1252	LGA 2520	x		x	x	x
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 606	555	LPC 1083	LGA 1969	x		x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 607	556	LPC 1067	LGA 1892	x		x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 608	557	LPC 1076	LGA 1968		x	x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 609	558	LPC 1055	LGA 1886	x		x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	M	UFES-MAM 613	562	LPC 1084	LGA 1970				x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Cariacica	F	UFES-MAM 615	564	LPC 1150	LGA 2197	x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Viana	M	UFES-MAM 813	741	LPC 1184					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	São Gonçalo do Rio Preto	M		1100	LPC 0063			x	HM594643.1HM594643.1		
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	São Gonçalo do Rio Preto	F		1102	LPC 0066					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	F		1192	LPC 0232					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	F		1193	LPC 0233			x	x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	BA	Andaraí	F		1201	LPC 0242					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	CE	Crato	F		1232	LPC 0274			x		x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	São Gonçalo do Rio Preto	F		935	YL 069				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	MG	São Gonçalo do Rio Preto	M		936	YL 070				x		

Espécie	Estado	Localidade	Sexo	Número da Coleção	CTA	Número de Coletor	Outras numerações	Cariotipados	COI (B/V)	CitB 1 (B/V)	CitB 2a (B)	Concatenadas (N, M, T, D)
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Santa Teresa	M		3534	YL 615					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Pancas	F		3549	YL 630					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Sooretama	F		3597	YL 732					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	ES	Sooretama	F		2625	YL 750					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0802		VF 013				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0803		VF 014					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0805		VF 016				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0849		VF 060				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0850		VF 061					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0851		VF 062				x		
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0871		VF 082				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0877		VF 090				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0900		VF 126				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una		CIT 0918		VF 116				x	x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una	M	LGA 2036	1145	LPC 0112		x		HM594655.1	HM594655.1	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Fazenda Corcovado, Itaju do Colônia	F	UFES-MAM 2340		YL 753		x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Fazenda Corcovado, Itaju do Colônia	M	UFES-MAM 2341		YL 757		x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Fazenda Corcovado, Itaju do Colônia	F	UFES-MAM 2342		YL 761		x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Fazenda Corcovado, Itaju do Colônia	M	UFES-MAM 2343		YL 762		x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Fazenda Corcovado, Itaju do Colônia	M	UFES-MAM 2344		YL 763		x			x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Uruçuca	F	UFMG 2141		RM 115	LGA 1544			HM622063.1	HM622063.1	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una	F		1143	LPC 0110					x	
<i>Rhipidomys mastacalis</i> 1	BA	Una				VF 131				x	x	
<i>Rhipidomys</i> sp.1	PI	Uruçuí-Una		CIT 1707							x	
<i>Rhipidomys</i> sp.1	TO	Lagoa do Tocantins (Jalapão)	M	LGA 0923						x	x	x
<i>Rhipidomys</i> sp.1	MG	Bocaiúva	M	LGA 1804		LGV 64					x	
<i>Rhipidomys</i> sp.1	MG	PN Grande Sertão Veredas	F	LGA 463		CER 42					x	
<i>Rhipidomys</i> sp.1	MG	Grão Mogol	M	MCN-MG 1581							x	

Espécie	Estado	Localidade	Sexo	Número da Coleção	CTA	Número de Coletor	Outras numerações	Cariotipados	COI (B/V)	CitB 1 (B/V)	CitB 2a (B)	Concatenadas (N, M, T, D)
<i>Rhipidomys</i> sp.1	MG	Grão Mogol (UHE Irapé)	F	MCN-MG 2041							X	
<i>Rhipidomys</i> sp.1	TO	Paraná		MRT 3903		MRT 3903					X	X
<i>Rhipidomys</i> sp.2	PA	Marabá		UFPAM 462		41SEG28LEV					X	X
<i>Rhipidomys tribei</i>	MG	Mariana	M	MCN-MG 2158					X		X	
<i>Rhipidomys tribei</i>	MG	Mariana	F	MCN-MG 2159							X	
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Ibitirama	F	UFES-MAM 1471	1020	YL 326	LGA 1202/ CP 49	x	x	x	x	
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Muqui		UFES-MAM 1663		BAC 257	LGA 1818	x			x	
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Ibitirama	M	UFES-MAM 1892	1023	YL 329	LGA 1205/CP 52	x	x	x	x	x
<i>Rhipidomys tribei</i>	ES	Castelo	M		3970	LPC 1486					x	
<i>Rhipidomys tribei</i>	MG	Fervedouro	F		896	YL 025				x	x	x
<i>Rhipidomys tribei</i>	MG	Santa Bárbara	F		922	YL 054				x		

## Apêndice 2 - Lista de sequências do genbank utilizadas:

### CitB sem espécie nova:

#### *Rhipidomys*:

EU579475.1, FJ361074.1, HM622062.1, HM622063.1, HM622064.1, HM622065.1, HM594627.1, HM594628.1, HM594629.1, HM594630.1, HM594631.1, HM594632.1, HM594633.1, HM594634.1, HM594635.1, HM594636.1, HM594637.1, HM594638.1, HM594639.1, HM594640.1, HM594641.1, HM594642.1, HM594643.1, HM594644.1, HM594645.1, HM594646.1, HM594647.1, HM594648.1, HM594649.1, HM594650.1, HM594651.1, HM594652.1, HM594653.1, HM594654.1, HM594655.1, HM594656.1, HM594657.1, HM594658.1, HM594659.1, HM594660.1, HM594661.1, HM594662.1, HM594663.1, HM594664.1, HM594665.1, HM594666.1, HM594667.1, HM594668.1, HM594669.1, HM594670.1, HM594671.1, HM594672.1, HM594673.1, HM594674.1, HQ634180.1, HQ634181.1, HQ634182.1, HQ634183.1, HQ634184.1, AY275130.1, U03550.2, AF108680.1, AF108681.1, AF108682.1, AF108683.1, AF108684.1

Grupo Externo: *Oryzomys* (MCN-PUC-MG 1222), *Oxymycterus* (LGA 1205), *Thrichomys* (MCN-PUC-MG 1436)

### CitB com espécie nova:

#### *Rhipidomys*:

U03550.2\_RLU03550, AF108680.1, AF108682.1, AF108683.1, AF108684.1, AF108681.1, AY275130.1, EU579475.1, FJ361074.1, HM622063.1, HM622065.1, HM594627.1, HM594628.1, HM594629.1, HM594630.1, HM594631.1, HM594632.1, HM594633.1, HM622062.1, HM594667.1, HM594669.1, HM594670.1, HM594634.1, HM594635.1, HM594636.1, HM594637.1, HM594638.1, HM594639.1, HM594640.1, HM594643.1, HM594644.1, HM594645.1, HM594646.1, HM594651.1, HM594659.1, HM594660.1, HM594661.1, HM594662.1, HM594666.1, HM594663.1, HM594648.1, HM594653.1, HM594664.1, HM594665.1, HM594655.1, HM594656.1, HM594641.1, HM594642.1, HM594672.1, HM594654.1, HM594649.1, HM594671.1, HM594657.1, HM594658.1, HM594673.1, HQ634182.1, HM594647.1, HM594674.1, HQ634180.1, HQ634181.1, HQ634183.1, HQ634184.1

Grupo Externo: *Thomasomys baeops* - DQ914654.1

### COI sem espécie nova:

#### *Rhipidomys*:

EU095490.1, HQ545646.1, EU095489.1, EU096953.1, JQ601407.1, JQ601421.1, JQ601413.1, EU095488.1, JF492338.1, JF492366.1, JF492468.1, JF492352.1, JF492357.1, JF492418.1, JF492436.1, JF492486.1, JF492596.1, JF492475.1, JF492490.1, JQ601072.1, JF492370.1, JF492431.1, JF492442.1, JF492463.1, JF492474.1, JF492489.1, JF492527.1, JF492537.1, JF492581.1, JF492599.1, JF492613.1, JF492630.1, JF492464.1, JF492513.1, JF492343.1, JF492349.1, JF492358.1, JF492368.1, JF492384.1, JF492410.1, JF492421.1, JF492451.1, JF492471.1, JF492485.1, JF492523.1, JF492535.1, JF492560.1, JF492589.1, JF492606.1, JF492393.1, JF492610.1, JF492516.1, JF492543.1, JF492383.1, JF492409.1, JF492414.1, JF492450.1, JF492470.1, JF492484.1, JF492518.1, JF492529.1, JF492559.1, JF492587.1, JF492604.1, JF492617.1, JF492627.1, JF492628.1, JF492607.1, JF492590.1, JF492571.1, JF492396.1, JF492540.1, JF492427.1, JF492497.1, JF492507.1, JF492534.1, JF492570.1, JF492619.1, JF492400.1, JF492407.1, JF492411.1, JF492437.1, JF492456.1, JF492472.1, JF492487.1, JF492524.1, JF492536.1, JF492566.1, JF492553.1, JF492528.1, JF492509.1, JF492478.1, JF492469.1, JF492447.1, JF492413.1, JF492408.1, JF492446.1, JF492546.1, JF492576.1, JF492577.1, JF492580.1, JF492601.1, JF492375.1, JF492395.1, JF492401.1, JF492403.1, JF492397.1, JF492336.1, JF492369.1, JF492593.1, JF492426.1, JF492623.1, JF492382.1, JF492381.1, JF492473.1, JF492514.1, JF492488.1, JF492621.1, JF492344.1, JF492350.1, JF492420.1, JF492480.1, JF492483.1, JF492592.1, JF492622.1, JF492625.1, JF492415.1, JF492522.1, JF492445.1, JF492455.1, JF492502.1, JF492550.1, JF492572.1, JF492594.1, JF492618.1, JF492388.1, JF492503.1, JF492511.1, JF492539.1, JF492614.1, JF492517.1, JF492378.1, JF492542.1, JF492391.1,

JF492405.1, JF492552.1, JF492616.1, JF492556.1, JF492367.1, JF492510.1, JF492377.1, JF492417.1, JF492390.1, JF492412.1, JF492425.1, JF492459.1, JF492465.1, JF492521.1, JF492549.1, JF492554.1, JF492564.1, JF492567.1, JF492574.1, JF492578.1, JF492583.1, JF492588.1, JF492520.1, JF492541.1, JF492364.1, JF492460.1, JF492432.1, JF492402.1, JF492404.1, JF492433.1, JF492453.1, JF492476.1, JF492429.1, JF492479.1, JF492519.1, JF492530.1, JF492600.1, JF492506.1, JF492363.1, JF492374.1, JF492380.1, JF492379.1, JF492372.1, JF492362.1, JF492351.1, JF492345.1, JF492339.1, JF492359.1, JF492466.1, JF492422.1, JF492337.1, JF492340.1, JF492341.1, JF492360.1, JF492373.1, JF492386.1, JF492461.1, JF492500.1, JF492501.1, JF492568.1, JF492449.1, JF492454.1, JF492477.1, JF492561.1, JF492385.1, JF492440.1, JF492467.1, JF492504.1, JF492615.1, JF492434.1, JF492438.1, JF492458.1, JF492557.1, JF492389.1, JF492406.1, JF492353.1, JF492525.1, JF492597.1, JF492624.1, JF492496.1, JF492354.1, JF492398.1, JF492494.1, JF492531.1, JF492584.1, JF492595.1, JF492609.1, JF492612.1, JF492620.1, JF492376.1, JF492526.1, JF492598.1, JF492602.1, JF492365.1, JF492356.1, JF492424.1, JF492430.1, JF492428.1, JF492435.1, JF492544.1, JF492611.1, JF492603.1, JF492558.1, JF492444.1, JF492416.1, JF492585.1, JF492591.1, JF492342.1, JF492347.1, JF492443.1, JF492515.1, JF492575.1, JF492626.1, JF492348.1, JF492495.1, JF492361.1, JF492387.1, JF492392.1, JF492423.1, JF492462.1, JF492492.1, JF492491.1, JF492532.1, JF492441.1, JF492399.1, JF492457.1, JF492481.1, JF492493.1, JF492505.1, JF492533.1, JF492538.1, JF492545.1, JF492547.1, JF492548.1, JF492555.1, JF492562.1, JF492565.1, JF492569.1, JF492579.1, JF492586.1, JF492629.1, JF492631.1, JQ601070.1, JF492346.1, JF492355.1, JF492499.1, JF492608.1, JF492371.1, JF492448.1, JF492498.1, JF492508.1, JF492452.1, JF492512.1, JF492551.1, JF492573.1, JF492605.1, JF492563.1, JF492394.1, JF492419.1, JF492439.1, JF492482.1, JF492582.1, EU095492.1, JF492633.1, EU095493.1, JF492632.1, EU095491.1,

Grupo Externo: *Oecomys auyantepui* - JF459271.1

#### Datação (CitB e IRBP)

Grupo Externo (CitB, IRBP):

*Thomasomys baeops* - DQ914654.1, AY163642.1

*Akodon montensis* - AY273905.1, AY277426.2

*Akodon serrensis* - EF101889.1, AY277429.1

*Auliscomys micropus* - HM167894.1, JQ434412.1

*Calomys callosus* - DQ447281.1, AY277440.2

*Holochilus brasiliensis* - EU579495.1, AY163585.1

*Holochilus sciureus* - EU579497.1, EU649049.1

*Oligoryzomys flavescens* - GU185919.1, AY163609.1

*Oligoryzomys fornesi* - DQ826022.1, AY163610.1

*Oxymycterus delator* - AF454767.1, AY277466.1

*Oxymycterus rufus* - AY275126.1, AY277469.1

### Apêndice 3 - Espécies de *Rhipidomys* utilizadas nas análises

CitB1	CitB2	COI	Datação	Total/ Mitocondrial/Nuclear
<i>Rhipidomys cariri</i>	<i>Rhipidomys cariri</i>	<i>Rhipidomys cariri</i>	<i>Rhipidomys cariri</i>	<i>Rhipidomys cariri</i>
<i>Rhipidomys emiliae</i>	<i>Rhipidomys emiliae</i>	<i>Rhipidomys emiliae</i>	<i>Rhipidomys emiliae</i>	<i>Rhipidomys emiliae</i>
<i>Rhipidomys gardneri</i>	<i>Rhipidomys gardneri</i>	<i>Rhipidomys ipukensis</i>	<i>Rhipidomys ipukensis</i>	<i>Rhipidomys ipukensis</i>
<i>Rhipidomys ipukensis</i>	<i>Rhipidomys ipukensis</i>	<i>Rhipidomys itoan</i>	<i>Rhipidomys itoan</i>	<i>Rhipidomys itoan</i>
<i>Rhipidomys itoan</i>	<i>Rhipidomys itoan</i>	<i>Rhipidomys latimanus</i>	<i>Rhipidomys macrurus</i>	<i>Rhipidomys macrurus</i>
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	<i>Rhipidomys mastacalis</i>	<i>Rhipidomys mastacalis</i>
<i>Rhipidomys macconnelli</i>	<i>Rhipidomys macconnelli</i>	<i>Rhipidomys macconnelli</i>	<i>Rhipidomys sp.1</i>	<i>Rhipidomys sp.1</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	<i>Rhipidomys macrurus</i>	<i>Rhipidomys macrurus</i>	<i>Rhipidomys tribei</i>	<i>Rhipidomys sp.2</i>
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	<i>Rhipidomys mastacalis</i>	<i>Rhipidomys mastacalis</i>		<i>Rhipidomys tribei</i>
<i>Rhipidomys nitela</i>	<i>Rhipidomys nitela</i>	<i>Rhipidomys nitela</i>		
<i>Rhipidomys sp.1</i>	<i>Rhipidomys sp.1</i>	<i>Rhipidomys sp.1</i>		
<i>Rhipidomys tribei</i>	<i>Rhipidomys sp.2</i>	<i>Rhipidomys tribei</i>		
<i>Rhipidomys wetzeli</i>	<i>Rhipidomys tribei</i>	<i>Rhipidomys wetzeli</i>		
	<i>Rhipidomys wetzeli</i>			

### Apêndice 4- Lista de modelos selecionados:

#### CitB sem espécie nova:

TPM1uf+G (gamma shape = 0.2910)

#### CitB com espécie nova:

HKY+I+G (p-inv=0.5050, gamma shape=1.1130)

#### COI sem espécie nova:

TPM2uf+G (gamma shape = 0.0840)

#### Total concatenada:

TrNef+I - CitB posição 1, COI posição 1

HKY+I - CitB posição 2, COI posição 2

TrN+G - CitB posição 3

TrN - COI posição 3

HKY+G - frib posição 1 e 2, IRBP posição 2, GHR posição 3, RAG posição 3

K80+G - frib posição 3, IRBP posição 3, GHR posição 1, RAG posição 1

HKY+G - IRBP posição 1, GHR posição 2, RAG posição 2

#### Mitocondrial total:

TrNef+I - CitB posição 1, COI posição 1

HKY+I - CitB posição 2, COI posição 2

TrN+G - CitB posição 3

TrN - COI posição 3

#### Nuclear total:

HKY+G - frib posição 1 e 2, IRBP posição 2, GHR posição 3, RAG posição 2

K80+G - frib posição 3, IRBP posição 3, GHR posição 1, RAG posição 3

HKY+G - IRBP posição 1, GHR posição 2, RAG posição 1

#### Datação (CitB e IRBP):

TrNef+G - CitB posição 1, IRBP posição 2

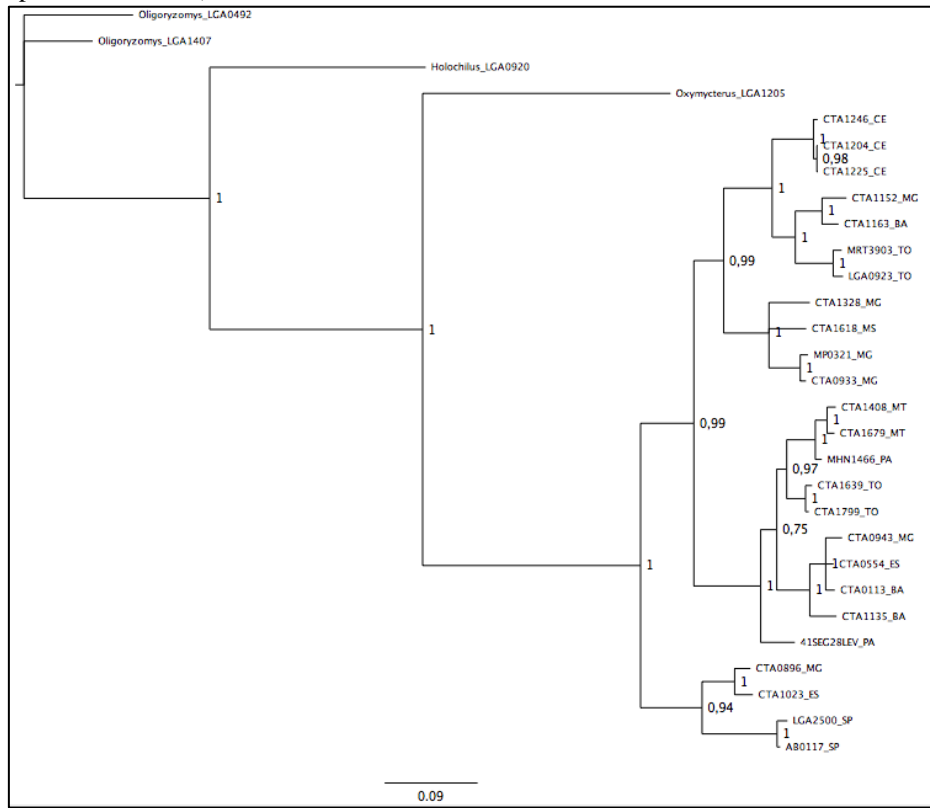
HKY+I - CitB posição 2

TrN+I+G - CitB posição 3

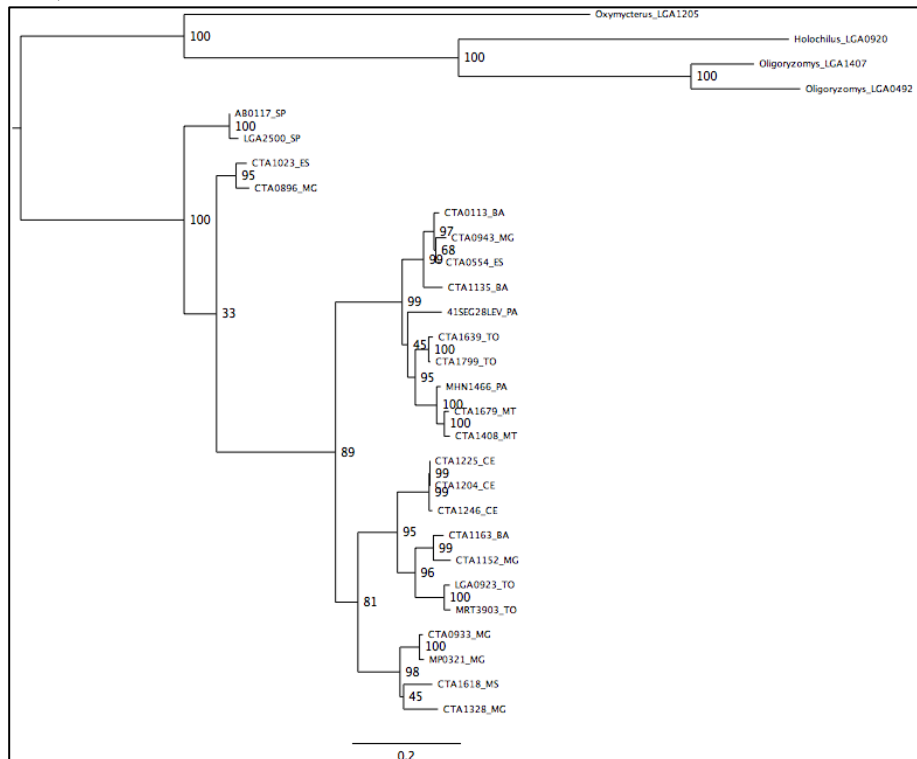
HKY+I - IRBP posição 1

K80 - IRBP posição 3

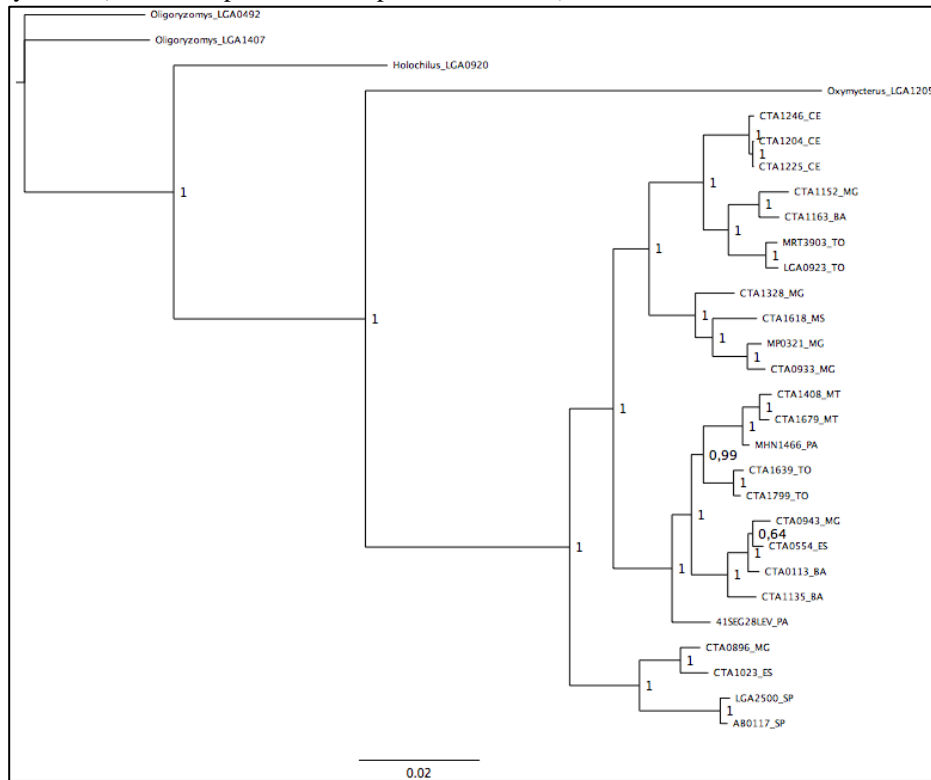
**Apêndice 5-** Árvore com genes mitocondriais (CitB e COI) pelo método de Inferência Bayesiana (valores de probabilidade posterior nos nós).



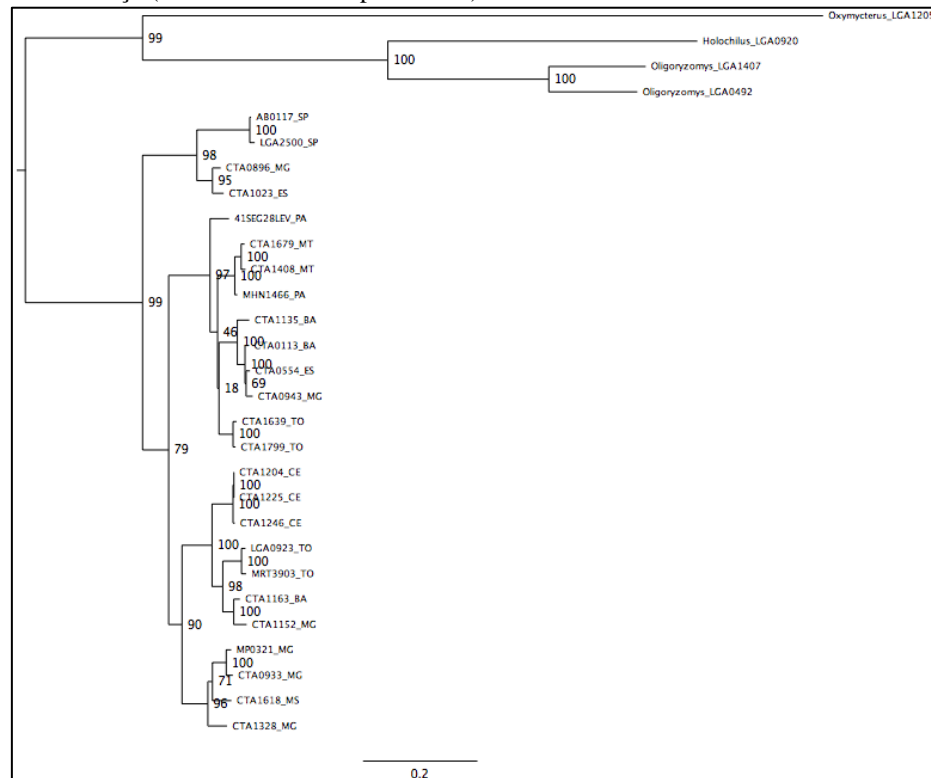
**Apêndice 6-** Árvore com genes mitocondriais (CitB e COI) pelo método de Máxima Verossimilhança (valores de bootstraps nos nós).



**Apêndice 7-** Árvore com os seis genes concatenados (CitB, COI,  $\beta$ fib, RAG, GHR, IRBP) pelo método de Inferência Bayesiana (valores de probabilidade posterior nos nós).



**Apêndice 8-** Árvore com os seis genes concatenados (CitB, COI,  $\beta$ fib, RAG, GHR, IRBP) pelo método de Máxima Verossimilhança (valores de bootstraps nos nós).



**Apêndice 9-** Árvore com os genes nucleares concatenados (fíbr, RAG, GHR, IRBP) pelo método de Máxima Verossimilhança (valores de bootstraps nos nós).

