

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

**Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia
molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste
do Brasil**

Núbia Badke Thomazini

Vitória, ES
Julho, 2013

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

**Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia
molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste
do Brasil**

Núbia Badke Thomazini

Orientador(a): Valéria Fagundes

**Dissertação 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 Mestre em Biologia
Animal**

**Vitória, ES
Julho, 2013**

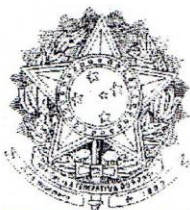
Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T465c Thomazini, Núbia Badke, 1985-
Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular
em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil / Núbia
Badke Thomazini. – 2009.
99 f. : il.

Orientadora: Valéria Fagundes.
Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Cariótipos. 2. Filogenia. 3. Roedor. 4. Neotropical. I.
Fagundes, Valéria. II. Universidade Federal do Espírito Santo.
Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57



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

CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil"

AUTOR: NÚBIA BADKE THOMAZINI

ORIENTADOR: Profa. Dra. Valéria Fagundes

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIOLOGIA ANIMAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL, pela comissão examinadora:

Dra. Valéria Fagundes
Orientador

Dra. Leonora Pires Costa
Membro Interno

Dr. Celso Oliveira Azevedo
Membro Interno

Dra. Lena Geise
Membro Externo

DATA DA REALIZAÇÃO: Vitória, 23 de fevereiro de 2009.

Presidente da Comissão Examinadora
Profa. Dra. Valéria Fagundes

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Prof^a. Dr^a. Valéria Fagundes pelos cinco anos de orientação, dedicação e incentivo.

Aos professores Leonora P. Costa, Robert Voss e Yuri R. Leite pela doação de material citogenético de *Rhipidomys*.

À Ana Paula Carmignotto, Bárbara Costa, Daniela Rossoni, Gabriel Marroig, Jorge Salazar-Bravo, Juliana Bragança, Lena Geise, Leonora P. Costa, Margarete Mattevi, Maria José da Silva, Raquel Moura, Renata Pardini, Yatyio Yonenaga-Yassuda e Yuri R. Leite.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela bolsa concedida através do Programa de Taxonomia.

As instituições financiadoras: FAPES e FACITEC.

À Prof^a Dr^a Patrícia Fernandes da Biotecnologia, à Prof^a Dr^a Silvana dos Santos Meyrelles da Fisiologia e aos professores e alunos do Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) pela disponibilização do espaço físico e equipamentos em muitos momentos da execução deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (PPGBAN) por compartilhar seus conhecimentos comigo e com meus amigos de turma.

Ao nosso ex-Secretário do PPGBAN Bruno Reggio, pelos muitos favores prestados.

À Juliana Justino, técnica do Núcleo de Genética Aplicada a Conservação da Biologia, sempre atenciosa e prestativa.

À minha, mais que especial e querida, turma de mestrado: Carla, Israel, Mariele e Robson. Éramos poucos, mas não poderia ter sido melhor. Jamais me esquecerei da nossa Zoologia de Campo. Em especial a Mary, minha companheira de Núcleo (NGACB) e da sala de computadores, dias difíceis que passamos juntas, mas que já se foram e conseguimos superar as adversidades.

Ao meu amigo Mauro Faller que quando meu computador deu problema e estava prestes perder meus dados por falta de um back-up, me acalmou e conseguiu resgatar tudo.

Aos amigos do Laboratório de Genética Animal (LGA) Arturo Martinelli, Bruno Bonna, Clara Scarpati, Cristie Setúbal, Juçara Gomes, Leonardo Baião, Lorena Dinelli, Ludmilla Coutinho, Lucas Vianna, Marianna Machado, Roberta Paresque, Rosana Nunes, Sara Posses, Silvia Ramira e Victor Colombi. Em especial a “Clarinha” e “Luquinhas” pela ajuda importantíssima nas últimas horas inquietantes.

A Roberta Paresque por todas as conversas, as trocas de artigos, as dicas, a preocupação e a atenção.

As minhas amigas biólogas Carla Zandonadi, Juçara Gomes, Marianna Machado e Silvia Ramira que tiveram que agüentar todas minhas reclamações e chatices, e ainda assim estiveram ao meu lado nos momentos difíceis.

Aos meus pais que apesar de não entenderem o que fiz durante esses dois anos de mestrado, me apoiaram incondicionalmente em todas as minhas decisões.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	03
LISTA DE FIGURAS	04
RESUMO.....	06
ABSTRACT... ..	08
APRESENTAÇÃO	10
CAPÍTULO 1- Citotaxonomia do roedor neotropical <i>Rhipidomys</i> (Cricetidae, Thomasomyini)	
Resumo	14
Introdução	15
Material e Métodos	17
Resultados.....	18
Descrição dos cariótipos	18
Revisão dos cariótipos de <i>Rhipidomys</i>	19
Discussão.....	24
Variabilidade citogenética em <i>Rhipidomys</i>	24
Citotaxonomia em <i>Rhipidomys</i>	29
Evolução cariotípica em <i>Rhipidomys</i>	35
Conclusão.....	39
Referências	40
Anexo.....	45
CAPÍTULO 2 – Correlação entre a estrutura cariotípica e filogenia molecular em <i>Rhipidomys</i> (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil	
Resumo.....	59
Introdução	60
Material e Métodos	62
Amostra	62
Dados citogenéticos	62
Dados moleculares	62
Resultados.....	64
Discussão.....	70
Relações filogenéticas e considerações taxonômicas.....	70
Evolução cariotípica X agrupamentos no gênero <i>Rhipidomys</i>	73
Conclusão.....	76
Referências	78
Anexo.....	83
CONCLUSÃO.....	95

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Citotaxonomia do roedor neotropical *Rhipidomys* (Cricetidae, Thomasomyini)

Tabela 1 – Cariótipos, localidades e número de exemplares de <i>Rhipidomys</i> analisados	52
Tabela 2 – Compilação dos dados da literatura.	53
Tabela 3 – Variação dos cromossomos no grupo <i>Rhipidomys mastacalis</i>	56

Capítulo 2 - Correlação entre a estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil

Tabela 1 – Localidades, cariótipos e haplótipos dos espécimes.....	91
Tabela 2 – Probabilidade de substituição nucleotídica	92
Tabela 3 – Valores de divergência genética dentro dos grupos/linhagens e entre os grupos/linhagens.....	93

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 – Citotaxonomia do roedor neotropical *Rhipidomys* (Cricetidae, Thomasomyini)

- Figura 1** – Localidades e cariótipos amostrados no presente trabalho. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice46
- Figura 2** – **A)** Cariótipo em coloração comum de um macho de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 9), proveniente de Muqui no Espírito Santo. **B)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo $XbYc$ (Citótipo 10), proveniente de Cotia em São Paulo. **C)** Cariótipo em coloração comum de *Rhipidomys* com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo $XbYa$ (Citótipo 11), proveniente de Andaraí na Bahia.....47
- Figura 3** – **A)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=72$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 4), proveniente de Una na Bahia. **B)** Cariótipo em Banda C de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=72$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 4), proveniente de proveniente de Uma na Bahia. **C)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=74$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 3), proveniente de Cariacica no Espírito Santo. **D)** Cariótipo em Banda C de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=74$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 3), proveniente de Cariacica no Espírito Santo. **E)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=48$ e $NFa=66$ com par sexual do tipo $XaYa$ (Citótipo 17), proveniente de Bolivar na Venezuela.....48
- Figura 4** – **A)** Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys mastacalis*. **B)** Realce das populações do grupo *Rhipidomys mastacalis*. $2n$ -número diplóide; NFa - número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.....49
- Figura 5** – **A)** Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys leucodactylus*. **B)** Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=48$. **C)** Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=50$. **D)** Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=46, 52, 54$ e 61 . $2n$ =número diplóide; NFa = número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice50
- Figura 6** – Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys nitela*. **B)** Localidades de ocorrência do grupo *Rhipidomys nitela*. $2n$ = número diplóide; NFa = número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.....51

Capítulo 2 – Correlação entre a estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil

- Figura 1 – A) Localidades da amostra de *Rhipidomys* do presente estudo.** As cores dos símbolos correspondem as cores dos ramos na árvore filogenética. **B) Árvore simplificada de Máxima Verossimilhança (MV) do gene mitocondrial COI de *Rhipidomys*.** Valores de bootstrap (BT) acima de 50% estão representados acima dos ramos (em porcentagem) e a divergência genética entre os grupos estão abaixo dos ramos (em porcentagem). Os dados cariotípicos e a discriminação dos haplótipos se encontram na Tabela 184
- Figura 2 – Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK 4.1 (Rohl, 2000),** representando as relações filogenéticas entre os haplótipos do gene mitocondrial COI. Os círculos representam os haplótipos amostrados e seus tamanhos são proporcionais à frequência de cada haplótipo. As cores dos círculos correspondem ao clados designados na árvore de MV da Figura 1B. Os números em cinza correspondem ao número de mutações entre os haplótipos, ausência de números corresponde a apenas uma mutação. Os haplótipos estão designados na Tabela 185
- Figura 3 - Rede de haplótipos gerada pelo programa TCS 1.21 (Clement *et al.* , 2000)** representando as relações filogenéticas entre os haplótipos do gene mitocondrial COI. O tamanho dos círculos ou retângulos são proporcionais as frequências dos haplótipos. Os haplótipos dentro de retângulos representam haplótipos mais basais dentro de cada grupo, os círculos representam o restante dos haplótipos, e os pequenos círculos nos ramos representam haplótipos não amostrados. Os haplótipos estão designados na Tabela 186
- Figura 4 - Clado Atlântico Sul (AS). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado AS. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C).Árvore de MV.87**
- Figura 5 - Clado Cerrado-Amazônico (CAm). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado CAm. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C). Árvore de MV.....88**
- Figura 6 – Clado Cerrado-Caatinga (CCa). A)- Localidades de ocorrência dos espécimes do clado CCa; B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C). Árvore de MV.....89**
- Figura 7- Clado Atlântico Norte (AN). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado AN. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C) Árvore de MV.90**

RESUMO

O gênero *Rhipidomys* Tshudi, 1845 pertencente à tribo Thomasomyini (Steadman & Ray 1982) contempla roedores com hábitos arborícolas, noturnos e solitários. São de pequeno porte, o peso varia de 35 a 170 gramas, caracterizados por uma combinação de vibrissas longas, tufo ou pincel na extremidade distal da cauda e pelagem escura presente no dorso de suas patas dianteiras (Tribe, 1996; Emmons & Feer, 1997). Sua distribuição é ampla abrangendo desde o leste do Panamá, atravessando a América do Sul, até o norte da Argentina. No Brasil são registrados em todos os biomas. Estudos citogenéticos nesse gênero revelaram uma elevada variabilidade cariotípica, com três números diplóides $2n=44$, 48 e 50 , e variação do número de braços autossômicos (NFa) e dos cromossomos sexuais, totalizando 20 citótipos distintos. Os cariótipos com $2n=44$ retêm a maior parte da variação cariotípica do gênero com 11 complementos autossômicos distintos (NFa=46, 48, 49, 50, 52, 54, 61, 70, 74, 76 e 80). O cariótipo com $2n=48$ possui três citótipos distintos (NFa=66, 67 e 68), enquanto que o $2n=50$ apresenta dois citótipos diferentes (NFa=70 e 71). Foi sugerido que esses cariótipos poderiam ser divididos e três grupos de acordo com o $2n$ e NFa, grupo *R. nitela* composto pelos animais com o $2n=48/50$; grupo *R. leucodactylus* com $2n=44$ e NFa baixo que varia de 46 a 52; e grupo *R. mastacalis* $2n=44$ e NFa alto variando de 74 a 80. Essa distinção foi reforçada pela existência de alelos exclusivos em alguns desses grupos. Apesar dos dados da literatura sugerirem que o cariótipo seja uma boa ferramenta para auxiliar na caracterização de espécies de *Rhipidomys*, e estudos moleculares comecem a sugerir como os cariótipos de *Rhipidomys* estão estruturados filogeneticamente, trabalhos que associem dados cariotípicos à caracterização molecular das populações são inexistentes em *Rhipidomys*. Nesse sentido, propomos caracterizar os cariótipos de *Rhipidomys* quanto ao número e morfologia dos cromossomos; propor uma hipótese filogenética molecular para as formas do leste do Brasil usando um novo marcador molecular; verificar se os cariótipos distintos estão correlacionados com clados monofiléticos; e testar a validade dos agrupamentos *Rhipidomys* baseados na estruturação cariotípica: grupo *R. leucodactylus* (NFas baixos) e grupo *R. mastacalis* (NFas altos). Neste estudo encontramos duas novas descrições de cariótipos, um cariótipo com NFa alto inédito ($2n=44$ e NFa=72) e outro com uma combinação inédita de cromossomos X e Y ($2n=44$, NFa=50, XbYc). Adicionando nossos dados aos da literatura observou-se 22 cariótipos descritos para o gênero *Rhipidomys*. Desses 22 cariótipos, 14 foram associados a 12 dos 21 táxons reconhecidos em *Rhipidomys*, e oito cariótipos não estão associados a nenhum táxon reconhecido. Além disso, identificamos seis espécies de *Rhipidomys* reconhecidas e sugerimos a presença de mais dois novos táxons para o leste do Brasil. Encontramos indícios que a barreira vicariante na Mata Atlântica é marcada pelo rio Jequitinhonha e não pelo rio Doce, como sugerido em muitos trabalhos. Revelamos que o grupo com NFa alto é monofilético, enquanto o

grupo com NFa baixo é polifilético e parafilético, fato esse que vai de encontro com a hipótese dos agrupamentos cariotípicos. Descobrimos que há uma tendência do aumento no número de braços autossômicos no gênero, encontrando-se as formas cariotípicas mais derivadas a mais distantes do provável ponto de origem do gênero na América do Sul. Ainda, foi proposto que a origem da radiação de *Rhipidomys* ocorreu nos Andes e as populações dessa região carregaria as condições primitivas do grupo, como o $2n=44$ e o NFa baixo. A partir desse cariótipo ancestral propomos um modelo de evolução cariotípica levando em consideração na distribuição das formas cromossômicas em cada região.

Palavra-chave: cariótipo, filogenia, *Rhipidomys*, neotropical.

ABSTRACT

The genus *Rhipidomys* Tshudi, 1845 belonging to the tribe *Thomasomyini* (Ray Steadman & 1982) includes rodents with arboreal habits, nocturnal and solitary. Are small, the weight varies from 35 to 170 grams, characterized by a combination of long vibrissae, brush or tuft at the distal tail and dark coats this on the back of their front legs (Tribe, 1996; Emmons & Feer, 1997). It is widely distributed ranging from east of Panama, crossing South America to northern Argentina. In Brazil are recorded in all biomes. Cytogenetic studies in this genus revealed a high karyotypic variability, with three diploid numbers $2n = 44, 48$ and 50 , and varying the number of autosomal arms (NFA) and the sex chromosomes, totaling 20 distinct cytotypes. The karyotypes with $2n = 44$ retain most of the variation of the genus karyotype with 11 distinct complements autosomal (NFA = 46, 48, 49, 50, 52, 54, 61, 70, 74, 76 and 80). The karyotype with $2n = 48$ has three distinct cytotypes (NFA = 66, 67 and 68), whereas $2n = 50$ presents two different cytotypes (NFA = 70 and 71). It was suggested that these could be divided karyotypes and three groups according to the $2n$ and NFA group *R. nitela* composed of animals with $2n = 48/50$, group *R. leucodactylus* with $2n = 44$ and NFA low ranging from 46 to 52, and group *R. mastacalis* $2n = 44$ and NFA high ranging from 74 to 80. This distinction was reinforced by the existence of private alleles in some of these groups. Although data from the literature suggest that the karyotype is a good tool to assist in the characterization of species *Rhipidomys*, and molecular studies begin to suggest how the karyotypes of *Rhipidomys* are phylogenetically structured, work involving karyotypic data on molecular characterization of populations are nonexistent in *Rhipidomys*. Accordingly, we propose to characterize the karyotypes of *Rhipidomys* the number and morphology of chromosomes; propose a molecular phylogenetic hypothesis for the forms from eastern Brazil using a new molecular marker; verify that the karyotypes distinct monophyletic clades are correlated with, and test the validity *Rhipidomys* groupings based on karyotype structure: group *R. leucodactylus* (NFAS low) and group *R. mastacalis* (NFAs high). In this study we found two new descriptions of karyotypes, a karyotype with unprecedented high NFA (NFA $2n = 44$ and $= 72$) and another with an unprecedented combination of X and Y chromosomes ($2n = 44, = 50$ NFA, XbYc). Adding our data to the literature we found 22 karyotypes described for the genus *Rhipidomys*. Karyotypes of these 22, 14 were associated with 12 of the 21 taxa recognized in *Rhipidomys*, and eight karyotypes are not associated with any recognized taxon. Furthermore, we identified six species of *Rhipidomys* recognized and suggest the presence of two new taxa to eastern Brazil. We find evidence that vicarious barrier in the Atlantic is marked by the Jequitinhonha river, not the Doce river, as suggested in many studies. Revealed that the group with high NFA is monophyletic, while the group with low NFA is polyphyletic and paraphyletic, a fact which goes against the hypothesis of karyotypic groups. We found that there is an upward trend in the number of autosomal arms in the genre, being more karyotypic forms derived farther from the bridge probable origin of the genus in

South America yet, it was proposed that the source of radiation occurred *Rhipidomys* Andes and the populations of this region carry the primitive conditions of the group, as the $2n = 44$ and low NFA. From this ancestral karyotype propose a model of karyotype evolution taking into account the distribution of chromosomal forms in each region.

Keyword:karyotype, phylogeny, Rhipidomys, neotropical.

APRESENTAÇÃO

Tribe (1996), responsável pela primeira revisão sistemática de *Rhipidomys* Tschudi, 1845 (Rodentia, Cricetidae), destaca a potencial importância de uso de dados alternativos e complementares aos dados morfológicos, como citogenéticos e moleculares, no estudo de *Rhipidomys*, pois como o táxon conta com poucos caracteres morfológicos discretos para distinguir as espécies, a adição desses caracteres alternativos poderia fornecer informações novas relevantes para a taxonomia do grupo.

Representantes desse gênero neotropical revelam uma elevada diversidade cariotípica com três números diplóides ($2n=44$, 48 e 50), 17 formas de conjuntos autossômicos devido a variação no número de braços autossômicos (NFa=46 a 80), três formas de cromossomo X e três formas de cromossomo Y, gerando 19 citótipos distintos para o gênero (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2002). Diante dessa variação, Andrades-Miranda *et al.* (2002) utilizando dados citogenéticos e moleculares de microssatélite sugeriram a divisão do gênero em três grupos de acordo com seu cariótipo: grupo *Rhipidomys nitela* para espécimes com $2n=48$ e 50; grupo *Rhipidomys leucodactylus* com $2n=44$ e NFa baixo, variando de 46 a 52; e grupo *Rhipidomys mastacalis* com $2n=44$ e NFa alto, variando de 74 a 80.

Dados moleculares se mostraram eficientes na inferência das relações dos táxons de *Rhipidomys* em um estudo filogeográfico usando o gene mitocondrial citocromo b. Foi demonstrada a existência de pelo menos dois clados distintos no leste do Brasil, um ao norte e outro ao sul da Mata Atlântica e que estes não representam grupos-irmãos. O grupo do norte forma um clado com espécimes de Cerrado e o grupo do Sul é grupo-irmão dos espécimes da Amazônia (Costa, 2003).

Posteriormente, Costa (2007) associou dados moleculares com morfológicos e morfométricos permitindo o agrupamento dos organismos em clados monofiléticos, fornecendo assim o suporte para o delineamento das espécies em um gênero como *Rhipidomys* com grande variabilidade intraespecífica e pouca distinção interespecífica. Com isso, a autora identificou e diagnosticou três novas espécies para o leste do Brasil.

Dados moleculares são adequados para resolver problemas sistemáticos em níveis taxonômicos baixos, como relações intragenéricas e intraespecíficas (Hillis *et al.*, 1996), e se mostraram uma ferramenta eficiente para inferir as relações filogenéticas em *Rhipidomys*. Porém, apesar dos dados sugerirem que o cariótipo seja uma boa ferramenta para auxiliar na caracterização de espécies de *Rhipidomys*, os trabalhos disponíveis não compararam a estrutura cariotípica com a história evolutiva do gênero.

Diante esse cenário seria importante investigar o relacionamento filogenético e a sistemática desse grupo utilizando abordagens moleculares adicionais às existentes, e associar

dados citogenéticos a moleculares. Desta forma, seria possível levantar subsídios para avaliar as relações filogenéticas entre os táxons de *Rhipidomys* e verificar se os cromossomos desempenham um papel relevante na especiação do grupo.

Sendo assim, nosso objetivo foi estudar exemplares de diferentes espécies de roedores *Rhipidomys* provenientes de várias localidades do leste do Brasil, sob o ponto de vista citogenético e molecular, visando caracterizar os cariótipos de *Rhipidomys* quanto ao número e morfologia dos cromossomos; detectar variações cromossômicas e polimorfismos de autossomos e cromossomos sexuais; comparar os cariótipos obtidos com aqueles já descritos na literatura; propor uma hipótese filogenética molecular para as formas do leste do Brasil usando um novo marcador molecular e contribuir para o entendimento da diversidade molecular no gênero; verificar se os cariótipos distintos estão correlacionados com clados monofiléticos; e testar a validade dos agrupamentos em *Rhipidomys* propostos por Andrades-Miranda *et al.* (2002), que se baseia na estruturação cariotípica: grupo *R. leucodactylus* (NFas baixos) e grupo *R. mastacalis* (NFas altos)

Os resultados do presente estudo estão organizados em dois capítulos:

1) Citotaxonomia do gênero neotropical *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae)

Apresenta a descrição dos cariótipos analisados no presente estudo, uma compilação de todos os dados cariotípicos disponíveis na literatura, e a proposta do padrão de evolutivo do cariótipo em *Rhipidomys*.

2) Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil

Apresenta a hipótese filogenética de *Rhipidomys*, que associada aos dados cariotípicos, permite uma visão mais abrangente do número de táxons no gênero *Rhipidomys*.

REFERÊNCIAS

- ANDRADES-MIRANDA, J.; OLIVEIRA, L.F.B. de; LIMA-ROSA, C.A.V.; SANA, D.A., NUNES, A.P.; MATTEVI, M.S. (2002). **Genetics studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil.** Acta Theriologica, 47 (2): 125-135.
- COSTA, B.M.A. (2007). **Sistemática de *Rhipidomys* (Mammalia: Rodentia) do leste do Brasil.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo. Brasil.
- COSTA, L.P. (2003). **The historical bridge between the Amazon and AtlanticForest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals.** Journal of Biogeography, 30: 71-86.
- HILLIS, D.M.; MORITZ, C.; MABLE, B.K. (1996). **Molecular Systematics.** 2ed. Ed Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts USA.
- SILVA, M.J.J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. (1999). **Autosomal and sex chromosome polymorphisms with multiple rearrangements and a new karyotype in the genus *Rhipidomys* (Sigmodontinae, Rodentia).** Hereditas, 131: 211-220.
- TRIBE, C.J. (1996). **The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision.** Dissertação de PhD. University College London, Londres.

CAPÍTULO I

Citotaxonomia do roedor neotropical *Rhipidomys* (Cricetidae, Thomazomyini)

Resumo

O gênero *Rhipidomys* Tshudi, 1845 pertencente à tribo Thomasomyini (Steadman & Ray 1982) contempla roedores com hábitos arborícolas, noturnos e solitários. São de pequeno porte, o peso varia de 35 a 170 gramas, caracterizados por uma combinação de vibrissas longas, tufo ou pincel na extremidade distal da cauda e pelagem escura presente no dorso de suas patas dianteiras (Tribe, 1996; Emmons & Feer, 1997). Sua distribuição é ampla abrangendo desde o leste do Panamá, atravessando a América do Sul, até o norte da Argentina. No Brasil são registrados em todos os biomas. Estudos citogenéticos nesse gênero revelaram uma elevada variabilidade cariotípica, com três números diplóides $2n=44$, 48 e 50, e variação do número de braços autossômicos (NFa) e dos cromossomos sexuais, totalizando 20 citótipos distintos. Os cariótipos com $2n=44$ retêm a maior parte da variação cariotípica do gênero com 11 complementos autossômicos distintos (NFa=46, 48, 49, 50, 52, 54, 61, 70, 74, 76 e 80). O cariótipo com $2n=48$ possui três citótipos distintos (NFa=66, 67 e 68), enquanto que o $2n=50$ apresenta dois citótipos diferentes (NFa=70 e 71). Apesar dos dados da literatura sugerirem que o cariótipo seja uma boa ferramenta para auxiliar na caracterização de espécies de *Rhipidomys*, estudos cariotípicos em neste gênero ainda são escassos, quando comparados a outros roedores sigmondontíneos como *Akodon* e *Oligoryzomys*. Nesse sentido, propomos caracterizar citogeneticamente novas populações de *Rhipidomys*, reinterpretar e comparar os cariótipos disponíveis na literatura, elaborar uma compilação das formas cariotípicas, e analisar a distribuição geográfica dos cariótipos de *Rhipidomys*. Neste estudo analisamos o cariótipo de 56 espécimes de *Rhipidomys* de 14 novas localidades. Encontramos duas novas descrições de cariótipos, um cariótipo com NFa alto inédito ($2n=44$ e NFa=72) e outro com uma combinação inédita de cromossomos X e Y ($2n=44$, NFa=50, XbYc). Adicionando nossos dados aos da literatura observou-se 22 cariótipos descritos para o gênero *Rhipidomys*. Desses 22 cariótipos, 14 foram associados a 12 dos 21 táxons reconhecidos em *Rhipidomys*, e oito cariótipos não estão associados a nenhum táxon reconhecido. Além disso, foi proposto que a origem da radiação de *Rhipidomys* ocorreu nos Andes e as populações dessa região carregaria as condições primitivas do grupo, como o $2n=44$ e o NFa baixo. A partir desse cariótipo ancestral propomos um modelo de evolução cariotípica levando em consideração na distribuição das formas cromossômicas em cada região. Baseada no número diplóide e no número de braços autossômicos, observamos três grandes agrupamentos, como proposto por Andrades-Miranda *et al.* (2002), e é provável cada grupo desse corresponde a uma linhagem evolutiva dentro do gênero: $2n=44$ NFA baixo; $2n=44$, NFa alto e $2n=48-50$.

I. Introdução

Membros do gênero *Rhipidomys* Tschudi, 1845 (Cricetidae, Sigmodontinae) são roedores arborícolas, noturnos e solitários; e estão distribuídos por uma grande diversidade de habitats, desde florestas, jardins, plantações até regiões de campos rurais e domiciliares do leste do Panamá, Guianas, Venezuela, Colômbia, Equador e Peru até sudeste da Bolívia, noroeste da Argentina e norte, centro e leste do Brasil (Musser & Carleton, 2005).

Na revisão sistemática mais abrangente do gênero realizada por Tribe (1996), este autor sugeriu que dados citogenéticos são essenciais para distinguir espécies relacionadas em *Rhipidomys*, e seria interessante revelar os padrões que poderiam emergir com um número maior de cariótipos analisados pelo grupo possuir uma larga variação cariotípica com número diplóide ($2n$) variando de 44 ou 48 e número de braços autossômicos (NFa) de 48 a 74 (Zanchin *et al.*, 1992; Geise, 1995; Correa & Pessoa, 1996), de acordo com os dados disponíveis naquele momento.

Depois dessa revisão, apesar de novos dados morfológicos, cariotípicos e moleculares serem acrescentados à literatura, a sistemática de *Rhipidomys* ainda se mostrou pouco resolvida. Por exemplo, num estudo recente levando em consideração dados morfométricos, de pelagem e moleculares, Costa (2007) adicionou três novas espécies de *Rhipidomys* para o leste do Brasil.

Em relação aos dados citogenéticos além de novas populações analisadas, estudos posteriores a revisão de Tribe (1996) revelaram um novo número diplóide com $2n=50$ (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999), novos números de braços autossômicos com NFa=46, 52, 54, 61, 70, 76 e 80 (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999; Patton *et al.*, 2000; Volobouev & Catzeflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002), e variação na morfologia, tamanho e composição dos cromossomos sexuais, com os cromossomos X e Y apresentando quatro formas cada um.

Considerando a estrutura cariotípica, Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) sugeriram a existência de híbridos interespecíficos em *Rhipidomys*, ao analisarem um espécime com $2n=44$, NFa=61 e nove pares heteromórficos encontrado no estado da Bahia (Brasil). As autoras sugeriram que este cariótipo tão peculiar teria se originado pelo cruzamento entre um indivíduo com o cariótipo predominantemente composto por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (NFa alto) e um indivíduo com o cariótipo formado basicamente por cromossomos acrocêntricos (NFa baixo).

Andrades-Miranda *et al.* (2002) utilizando dados citogenéticos e moleculares de microssatélite sugeriram a divisão do gênero em três grupos, tendo o cariótipo como marcador: grupo *Rhipidomys nitela* para espécimes com $2n=48/50$; grupo *Rhipidomys leucodactylus* com $2n=44$ e NFa baixo, variando de 46 a 52; e grupo *Rhipidomys mastacalis* com $2n=44$ e NFa alto, variando de 74 a 80. O status desses grupos é reforçado pela existência de alelos de microssatélite

exclusivos no grupo *Rhipidomys leucodactylus* (Lima-Rosa *et al.*, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002). Andrades-Miranda *et al.* (2002), assim como outros autores (Zanchin *et al.* 1992, Volobouev & Catzeflis, 2000), sugeriram que esses diferentes citótipos em *Rhipidomys*, embora com o mesmo número diplóide, seriam resultado de rearranjos do tipo inversão pericêntrica e/ou adição/deleção de heterocromatina constitutiva, que provavelmente desempenhariam um importante papel na diversificação cariotípica desse grupo.

De toda forma, apesar dos dados da literatura sugerirem que o cariótipo seja uma boa ferramenta para auxiliar na caracterização de espécies de *Rhipidomys*, estudos cariotípicos em *Rhipidomys* ainda são escassos, quando comparados a outros roedores sigmondontíneos como *Akodon* e *Oligoryzomys*. Nesse sentido, propomos caracterizar citogeneticamente novas populações de *Rhipidomys*, reinterpretar e comparar os cariótipos disponíveis na literatura, elaborar uma compilação das formas cariotípicas, e analisar a distribuição geográfica dos cariótipos de *Rhipidomys*.

II. Material e Métodos

A amostra consiste de 57 exemplares, sendo 55 espécimes coletados em 15 localidades no Brasil, nos estados de Ceará, Pernambuco, Mato Grosso, Tocantins, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo; e dois espécimes de San Ignacio (Bolivar) na Venezuela (Tabela 1, Figura 1).

Preparações citogenéticas de medula óssea de todos os exemplares, exceto da Venezuela, foram obtidas após injeção *in vivo* de colchicina 0,1% (1ml/100g por peso corporal) durante 30 minutos, e após esse tempo os espécimes foram sacrificados e a medula óssea retirada com o auxílio de uma seringa e solução Hanks ou soro fisiológico. As células foram suspensas em solução de KCl 0,075M durante 25-30 minutos à 37°C, fixadas em solução carnoy, e o material foi pingado em lâminas.

Para a coloração comum as lâminas foram hidrolisadas em HCl 1N a 60°C por 7 minutos, lavadas em água destilada, coradas com solução de Giemsa 3% em solução tampão fosfato pH 6,8 por 5 a 7 minutos, novamente lavadas em água destilada, e secas ao ar. Para determinar o número de cromossomos (2n) e o número braços autossômicos ou número fundamental (NFa) foram contadas e desenhadas 20 metáfases de cada animal. Para o Bandamento C as lâminas foram hidrolisadas em HCl 0,2N por 30 minutos, à temperatura ambiente, lavadas em água destilada, mergulhadas em hidróxido bário octahidratado 5%, à 60°C, por cerca de 20 segundos, e novamente lavadas em água destilada. Em seguida as lâminas foram mergulhadas em HCl 1N, em banho-maria, à 60°C, lavadas em água destilada, incubadas em 2xSSC, à 60°C, por 15 minutos, e coradas com solução de Giemsa 5% em solução tampão fosfato pH 6,8 durante 30 minutos.

O material proveniente de San Ignacio (Bolívar, Venezuela) foi cedido por Dr. Robert Voss, do American Museum of Natural History (Nova York). Foram analisadas duas lâminas de cada animal previamente coradas via coloração comum e fixadas com lamínula e balsamo

III. Resultados

III.1. Descrição dos cariótipos

Foram detectados seis citótipos em 57 exemplares. Os 55 exemplares do Brasil apresentaram cinco citótipos com $2n=44$, que variam no número de braços autossômicos ($NFa=50, 72$ e 74) e na morfologia dos cromossomos sexuais. Os dois espécimes da Venezuela apresentaram um citótipo com $2n=48$ e $NFa=66$ (Figura 1, Tabela 1).

A forma $2n=44/NA=50$ apresenta quatro pares de cromossomos submetacêntricos/metacêntricos e 17 pares de cromossomos acrocêntricos, ambos com variação gradativa de tamanho. Associada a esta estrutura dos autossomos, observamos duas formas de cromossomo X e duas formas de cromossomo Y, gerando assim três citótipos (Figura 2).

O primeiro citótipo é composto por um cromossomo X acrocêntrico médio, de tamanho semelhante ao cromossomo 3 (Xa), e cromossomo Y acrocêntrico pequeno, o menor cromossomo do conjunto (Ya). O bandamento C revelou heterocromatina constitutiva na região centromérica de 12 pares autossômicos. Este citótipo foi encontrado em exemplares de Tocantins (Jalapão, $n=1$), Minas Gerais (Nova Ponte, $n=2$) e de duas localidades no Espírito Santo (Muqui, $n=1$; Ibitirama, $n=2$) (Figura 2a)

O segundo citótipo é composto por um cromossomo X submetacêntrico médio do mesmo tamanho do cromossomo 3 (Xb) e Y acrocêntrico médio (Yc). Este citótipo é inédito e foi encontrado em exemplares de Pernambuco (Buíque, $n=1$), Minas Gerais (Coronel Murta, $n=1$), Bahia (Andaraí, $n=2$) e São Paulo (Cotia, $n=3$) (Figura 2b).

O terceiro citótipo é composto pelos cromossomos sexuais Xb e Ya, e foi encontrado em exemplares de Mato Grosso (Ribeirão Cascalheiras, $n=6$), Bahia (Andaraí, $n=1$), e Ceará (Crato, $n=4$). Um exemplar fêmea do Ceará (Crato) apresentou uma variação desse cariótipo com o par sexual heteromórfico XaXb (Figura 2c)

O quarto citótipo apresentou a forma $2n=44$ e $NFa=72$ com 15 pares autossomos submetacêntricos/metacêntricos com variação gradativa de tamanho (pares 1-15) e seis pares de autossomos acrocêntricos (pares 16-21). O maior par acrocêntrico (par 16) é do mesmo tamanho do cromossomo 1 e praticamente três vezes maior que o segundo acrocêntrico. Os outros acrocêntricos (pares 17 a 21) têm variação gradativa de tamanho. O par sexual é composto por um cromossomo X acrocêntrico médio (Xa) e Y acrocêntrico pequeno (Ya). (Figura 3a) O bandamento C revelou pequenos blocos de heterocromatina constitutiva na região pericentromérica na maioria dos acrocêntricos e no cromossomo X (Figura 3b). Esse cariótipo é inédito e foi encontrado apenas em espécimes de Una, no sul da Bahia.

O quinto citótipo encontrado apresentou a forma $2n=44$ e $NFa=74$, com 16 pares de cromossomos submetacêntricos/metacêntricos com variação gradativa de tamanho, e cinco pares de

acrocêntricos, sendo que o maior acrocêntrico é do mesmo tamanho do cromossomo 1 e aproximadamente três vezes maior que o segundo acrocêntrico. Os outros acrocêntricos têm variação gradativa de tamanho. O par sexual é composto por um cromossomo X acrocêntrico médio (Xa) e o Y um acrocêntrico pequeno (Ya), este o menor do conjunto. Este citótipo foi encontrado em 16 espécimes de quatro localidades do Espírito Santo (Águia Branca, n=2; Jacutinga, n=1; Muqui, n=2; e Cariacica, n=11) (Figura 3c). Uma fêmea de Cariacica (Espírito Santo) difere de todos os espécimes coletados anteriormente com o cariótipo $2n=44$ e $NFa=74$, por apresentar um par sexual heteromórfico, composto por um X acrocêntrico médio (Xa) e outro submetacêntrico do mesmo tamanho (Xb) (Figura 3c).

O sexto citótipo apresentou a forma $2n=48$ e $NFa=66$, com 10 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 13 acrocêntricos. O par sexual é composto por um X submetacêntrico médio (Xc) e o Y o menor acrocêntrico do conjunto (Ya). Este citótipo foi encontrado em quatro espécimes de San Ignacio na Venezuela (Figura 3e).

Esses seis cariótipos apresentaram variação nos cromossomos X e Y. O cromossomo X se apresentou de três formas: acrocêntrico médio com um pequeno bloco de heterocromatina constitutiva na região pericêntrica (Xa) encontrado nos espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=74, 72$ e 50 ; submetacêntrico médio com o braço curto heterocromático (Xb) encontrado em espécimes com $2n=44$ e $NFa=74$ e 50 ; e submetacêntrico de médio a grande (Xc) encontrado em espécimes com $2n=48$ e $NFa=66$. O cromossomo Y se apresentou em X formas: acrocêntrico pequeno, sendo o menor cromossomo do conjunto e totalmente heterocromático (Ya), encontrado em espécimes com cariótipo com $2n=44$ e $NFa=74, 72$ e 50 ; acrocêntrico pequeno (Yc) encontrado em espécimes com $2n=44$ e $NFa=50$.

III.2. Revisão dos cariótipos de *Rhipidomys*

Grupo *Rhipidomys mastacalis*

Foram observados cinco citótipos (citótipos 1 a 5) para esse grupo (Tabela 2, Figura 4).

Citótipo 1 - $2n=44$ e $NFa=80$ com 19 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e dois pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo XbXb nas fêmeas e XbYa nos machos. O bandamento C marca heterocromatina constitutiva pericêntrica em um par de autossomos, o braço curto do cromossomo X, e Y inteiramente. Este cariótipo foi descrito por Andrades-Miranda *et al.* (2002) para espécimes da Serra da Mesa em Goiás (Colinas do Sul e Uruaçu).

Citótipo 2 - $2n=44$ e $NFa=76$ com 17 pares de meta/submetacêntricos e quatro pares acrocêntricos. O par sexual é do tipo XbXb nas fêmeas e XbYa nos machos. Apresenta dois pares de autossomos com pequenos blocos de heterocromatina constitutiva na região do centrômero, o braço curto do cromossomo X heterocromático, e o Y inteiramente heterocromático. Foi descrito

por Andrades-Miranda *et al.* (2002) para espécimes do Cerrado em Goiás (Niquelândia, Colinas do Sul, Minaçú e Uruaçu). Na localidade de Colinas do Sul (Goiás) este cariótipo ocorre em simpatria com o cariótipo $2n=44$ e $NFa=80$.

Citótípo 3 - $2n=44$ e $NFa=74$ com 16 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e cinco pares de acrocêntricos. O par sexual pode ser do tipo $XaXa$ (Zanchin *et al.*, 1992; Geise, 1995; Souza *et al.*, 2008; presente trabalho) e $XaXb$ (presente trabalho; Souza *et al.*, 2008) nas fêmeas, e $XaYa$ nos machos. O bandeamento C apresentou variação interpopulacional. Em Águia Branca (Espírito Santo) observou-se pouca heterocromatina constitutiva pericentromérica em oito pares de cromossomos (presente trabalho), enquanto que em Una (Bahia) encontrou-se apenas em cinco pares de cromossomos (Zanchin *et al.*, 1992). Este cariótipo ocorre tipicamente na Mata Atlântica e já foi encontrado em duas localidades do sul da Bahia (Zanchin *et al.*, 1992; Souza *et al.*, 2008), no Espírito Santo (presente trabalho), em Minas Gerais (Zanchin *et al.*, 1992), e no Rio de Janeiro (Geise, 1995) (Figura 3c).

Citótípo 4 - $2n=44$ e $NFa=72$ possui 15 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e seis pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. Detectou-se a presença de pequenas bandas pericentroméricas em cinco pares de autossomos (presente estudo). Este cariótipo é inédito para o gênero e foi encontrado apenas em uma localidade do sul da Bahia (Figura 3a).

Citótípo 5 - $2n=44$ e $NFa=70$ com 14 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e sete pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYc$ nos machos. Este cariótipo foi descrito para espécimes do Ceará, Bahia e Pernambuco (Sousa, 2005).

Grupo *Rhipidomys leucodactylus*

Foram observados dez citótipos (citótipos 6 ao 16) para esse grupo (Tabela 2; Figura 5).

Citótípo 6 - $2n=44$ e $NFa=54$ com 12 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 30 pares de acrocêntricos. Não há descrição dos cromossomos sexuais desse cariótipo. Foi descrito para espécimes da Chapada Diamantina na Bahia (Sousa *et al.*, 2008).

Citótípo 7 - $2n=44$ e $NFa=52$ com cinco pares (pares 4, 19, 20 e 21) de cromossomos meta/submetacêntricos e 16 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. Este cariótipo foi descrito para espécimes de Vila Rica no Mato Grosso (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999).

Citótípo 8 - $2n=44$ e $NFa=52$ com cinco pares (pares 18, 19, 20 e 21) de cromossomos meta/submetacêntricos e 16 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. Este cariótipo foi descrito para espécimes do Pára e Goiás (Andrades-Miranda *et al.*, 2002), e do Mato Grosso (Aripuanã; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999). Os espécimes do Pará revelaram heterocromatina constitutiva na maioria dos cromossomos, incluindo cinco pares de

cromossomos meta/submetacêntricos e o cromossomo X, além de possuir um Y inteiramente heterocromático (Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

Citótipo 9- $2n=44$ e $NFa=50$ com quatro pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 17 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. O bandamento C revelou heterocromatina constitutiva na região centromérica de 12 pares. Foi descrito para espécimes de Tocantins (Jalapão), Minas Gerais (Nova Ponte) e Espírito Santo (Muqui e Ibitirama) todos descritos no presente trabalho, e para espécimes de uma terceira localidade no Espírito Santo (Domingos Martins) descrita por Zanchin *et al.* (1992) e para o Acre (Porto Wallter) por Patton *et al.* (2000).

Citótipo 10- $2n=44$ e $NFa=50$ com quatro pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 17 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYc$ nos machos. É um cariótipo inédito na literatura para o gênero e foi encontrado em espécimes Minas Gerais (Coronel Murta), Bahia (Andaraí) e São Paulo (Cotia) todos descritos no presente trabalho (Figura 2b).

Citótipo 11- $2n=44$ e $NFa=50$ com quatro pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 17 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Foi encontrado em espécimes de Mato Grosso (Ribeirão Cascalheiras), Bahia (Andaraí), Pernambuco (Buique) e Ceará (Crato, presente trabalho, Figura 2), para o Piauí (Bom Jesus e Caracol; Sousa, 2008), e para Bolívar na Venezuela (Aguilera *et al.*, 1994).

Citótipo 12- $2n=44$ e $NFa=49$ com três pares de cromossomos meta/submetacêntricos, 17 pares de acrocêntricos e um par heteromórfico (par 10) com um cromossomo acrocêntrico e outro submetacêntrico. O par sexual é do tipo $XaYa$ no macho de Granja do Ipê em Goiás, e do tipo $XbXb+$ na fêmea de Casa Grande em São Paulo (Svartman & Almeida, 1993). O bandamento C revelou uma banda intersticial na região proximal do braço longo do cromossomo 1, pequenos blocos de heterocromatina constitutiva na região pericentromérica de alguns pares autossômicos, no cromossomo X, o Y é inteiramente heterocromático. Foi encontrado em um espécime macho de Goiás e em uma fêmea de São Paulo (Svartman & Almeida, 1993).

Citótipo 13- $2n=44$ e $NFa=48$ com três pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 18 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. O bandamento C revelou pequenos blocos de heterocromatina constitutiva na região pericentromérica em alguns pares autossômicos e no cromossomo X com marcação, Y inteiramente heterocromático, e uma banda intersticial na região proximal do braço longo do cromossomo 1. Foi descrito para Minas Gerais (Formoso) e Tocantins (Ponte Alta do Tocantins) no presente trabalho, e para Goiás (Águas Emendadas e Ipameri; Svartman & Almeida, 1993 e Andrades-Miranda *et al.*, 2002, respectivamente), Bahia (Lençóis; Pereira & Geise, 2007) e Rondônia (Candeias do Jamari; Zanchin *et al.*, 1992).

Citótipo 14- $2n=44$ e $NFa=48$ com três pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 18 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Foi descrito para o Rio de Janeiro (Geise, 1995), São Paulo (Svartman & Almeida, 1993), Minas Gerais (Correa & Pessoa, 1996), todos no Brasil, além de Valle na Colômbia (Gardner & Patton, 1976) e Anzoategui na Venezuela.

Citótipo 15- $2n=44$ e $NFa=48$ possui três pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 18 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYb$ nos machos. Foi descrito apenas para o estado do Tocantins (Lima & Kasahara, 2003).

Citótipo 16- $2n=44$ e $NFa=46$ com dois pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 19 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XaXa$ nas fêmeas e $XaYa$ nos machos. Foi descrito para Amazônia (Patton *et al.*, 2000).

Grupo *Rhipidomys nitela*

São registrados cinco cariótipos (17 ao 21) para o grupo *Rhipidomys nitela* (Tabela 2; Figura 6).

Citótipo 17- $2n=48$ e $NFa=66$ com 10 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 13 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Encontrado na Venezuela no distrito de Bolívar (San Ignacio; Tribe, 1996; presente trabalho; Figura 3d).

Citótipo 18- $2n=48$ e $NFa=67$ com 10 pares de cromossomos meta/submetacêntricos, 14 pares de acrocêntricos e um par heteromórfico com um cromossomo acrocêntrico e um metacêntrico. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos, observado para exemplares da Guiana Francesa (Voloubouev & Catzefflis, 2000). No bandamento C o cromossomo X é constituído por um braço totalmente heterocromático (Voloubouev & Catzefflis, 2000).

Citótipo 19- $2n=48$ e $NFa=68$ com 11 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 12 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Foi descrito para Roraima (Andrades-Miranda *et al.*, 2002). No bandamento C, o cromossomo X é constituído por um braço totalmente heterocromático (Voloubouev & Catzefflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

Citótipo 20- $2n=50$ e $NFa=72$ com 12 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 12 pares de acrocêntricos. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Foi descrito para exemplares de Amazonas (Manaus; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999).

Citótipo 21- $2n=50$ e $NFa=71$ com 23 pares de cromossomos meta/submetacêntricos, 12 pares de acrocêntricos, e um par heteromórfico com um cromossomo acrocêntrico e um metacêntrico. O par sexual é do tipo $XbXb$ nas fêmeas e $XbYa$ nos machos. Foi descrito para exemplares de Amazonas (Manaus; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999).

Cariótipo de Híbrido interespecífico

Citótipo22- $2n=44$ e $NFa=61$, composto por nove pares de autossomos heteromórficos e cromossomos X heteromórficos. Foi descrito para um espécime de Morro do Chapéu na Bahia. Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) propuseram que esse espécime fosse um híbrido entre um indivíduo com cariótipo com NFa alto e um com NFa baixo.

IV. Discussão

IV. 1. Variabilidade citogenética em *Rhipidomys*

O presente trabalho apresentou duas novas descrições de cariótipos, um cariótipo com NFa alto inédito ($2n=44$ e $NFa=72$) e outro com uma combinação inédita de cromossomos X e Y ($2n=44$, $NFa=50$, $XbYc$). Adicionando nossos dados aos da literatura observou-se 22 cariótipos descritos para o gênero *Rhipidomys*. Desses 22 cariótipos, 14 foram associados a 12 dos 21 táxons reconhecidos em *Rhipidomys*, e oito cariótipos não estão associados a nenhum táxon reconhecido.

Desde os primeiros estudos citogenéticos com *Rhipidomys* foi observada uma alta diversidade de cariótipos e a proposta de que inversões pericêntricas e variação de heterocromatina constitutiva são responsáveis pela diferenciação dos cariótipos desse gênero (Zanchin *et al.*, 1992; Tribe, 1996; Volobouev & Catzeflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

O primeiro a apontar as inversões pericêntricas como os principais rearranjos em *Rhipidomys* foi Zanchin *et al.* (1992) ao comparar os padrões gerados pelo bandeamento G dos cariótipos $2n=44$, $NFa=50$ e $XaYa$ de Domingos Martins no Espírito Santo (citótipo 9) com $2n=44$, $NFa=74$ e $XaYa$ de Una na Bahia (citótipo 3). Os autores observaram que havia homologia completa entre sete pares de autossomos e o cromossomo X dos dois cariótipos, e que havia segmentos invertidos entre oito pares do primeiro (2, 3, 4, 5, 7, 6, 8 e 9) em relação aos pares do segundo cariótipo (1, 2, 3, 4, 7, 6, 5 e 8).

Em um estudo citogenético posterior, Svartman & Almeida (1993) realizaram análises comparativas de bandeamento G e R entre espécimes com o cariótipo $2n=44$, $NFa=49$ e $XaYa$ (citótipo 12) e $2n=44$, $NFa=48$ e $XaYa$ (Casa Grande em São Paulo e Águas Emendadas em Goiás, respectivamente). As autoras identificaram um rearranjo heterozigoto de inversão pericêntrica no par 10 do cariótipo com $NFa=49$, originando um par heteromórfico formado por um submetacêntrico e um acrocêntrico, o que explicaria o NFa ímpar e a diferença entre esses dois citótipos. Além disso, realizaram uma análise comparativa entre o cariótipo com $2n=44$, $NFa=48$ e $XaYa$ de Águas Emendadas em São Paulo (Svartman & Almeida, 1993) e o cariótipo com $2n=44$, $NFa=74$ $XaXa$ de Una na Bahia (Zanchin *et al.*, 1992) e identificaram 14 pares com morfologias distintas, explicadas por inversões pericêntricas.

Mais tarde, Volobouev & Catzeflis (2000) identificaram outro evento de inversão pericêntrica heterozigota no par 8 em indivíduos da Guiana Francesa (Le Trinité), que diferenciava dos cariótipos com $2n=48$ e $NFa=68$ (par 8 submetacêntrico) de $2n=48$ e $NFa=67$ (par 8 composto por um cromossomo submetacêntrico e um acrocêntrico).

São registrados na literatura diversos casos nos quais as inversões pericêntricas possuem um papel importante na diversificação cariotípica do grupo, como em Peciformes (Galetti *et al.*, 2006) e em mamíferos (Leal-Mesquita *et al.* 1993; Searle, 1993; Qumsiyeh, 1994).

Em alguns casos as inversões parecem não atuar como mecanismos de isolamento reprodutivo pós-zigótico, e esses rearranjos acabam se fixando nas populações como simples polimorfismos. Um exemplo pode ser observado no roedor *Nephelomys albigularis* que apresenta cariótipos com $2n=66$, com variação de NFa de 86 a 100, e toda variação explicada por inversões pericêntricas em sete pares cromossômicos (Aguilera *et al.*, 1995). Outro exemplo em roedores neotropicais, a espécie *Oligoryzomys nigripes* apresenta polimorfismo inter- e intrapopulacional devido a inversões pericêntricas em quatro pares autossômicos (Myers & Carleton, 1981; Brum-Zorilla *et al.*, 1988; Zanchin, 1988; Almeida & Yonenaga-Yassuda 1991; Bonvicino *et al.*, 2001; Paresque *et al.*, 2007).

Por outro lado, existem vários exemplos nos quais as inversões pericêntricas parecem servir como um importante mecanismo de isolamento pós-zigótico, marcando eventos de especiação e permitindo, inclusive, que o cariótipo funcione como caráter diagnóstico das espécies. Esse é o caso dos roedores equimídeos *Isothrix negrensis* ($2n=60$, NFa=112) e *I. bistriata* ($2n=60$, NFa=116), diferenciados apenas por inversão pericêntrica em dois pares de autossomos (Bonvincino *et al.*, 2003). Outro exemplo clássico é ilustrado pelo complexo de espécies “*Peromyscus maniculatus*” no qual a diferenciação cariotípica das espécies *P. maniculatus*, *P. polionatus*, *P. melanotis* e *P. gossypinus* pode ser explicada por inversões pericêntricas em oito pares autossômicos, resultando em cada espécie um cariótipo espécie-específico (Greenbaum & Baker, 1978). Outro exemplo nesse gênero é de duas populações de *Peromyscus leucopus* as quais se diferenciam por três inversões pericêntricas, e seus membros, quando intercruzados geram descendentes inférteis (Baker *et al.* 1983). Ainda há exemplos de inversões pericêntricas servindo como barreiras pós-zigóticas para morcegos (Baker & Bickmam, 1980) e roedores do gênero *Neotoma* (Mascarello & Hsu, 1976).

Ainda é prematuro afirmar se as inversões pericêntricas atuam como mecanismos de isolamento pós-zigótico e marcam eventos de cladogênese na história evolutiva de *Rhipidomys*. Porém, o alto polimorfismo cariotípico em *Rhipidomys* é uma característica marcante em roedores, e tem um papel importante na evolução cariotípica do gênero gerando a maior parte da variação observada em *Rhipidomys*, com seu número diplóide constante e uma alta diversidade de número de braços autossômicos.

Eventos de adições e deleções de heterocromatina constitutiva (heterocromatina constitutiva) também são comuns em *Rhipidomys*, os estudos de bandeamento C realizados em *Rhipidomys* (Zanchinet *et al.*, 1992; Svartman & Almeida, 1993; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev & Catzeflis, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002; presente trabalho) sugerem que os autossomos são formados basicamente por eucromatina, exceto na região dos centrômeros, e que não há braços autossômicos formados por heterocromatina constitutiva. O bandeamento C revelou uma grande heterogeneidade dentro de *Rhipidomys*.

Blocos de heterocromatina constitutiva são quase ausentes nos espécimes analisados do grupo *R. mastacalis*, marcando de três (Andrades-Miranda *et al.*, 2002) a cinco (Zanchin *et al.*, 1992) pares autossomos em regiões pericentroméricas. Além disso, há variação interpopulacional na quantidade de blocos heterocromáticos, como é o caso de espécimes de Águia Branca no Espírito Santo (presente trabalho) e Una na Bahia (Zanchin *et al.*, 1992).

O grupo *R. leucodatylos* pode ser separado em dois grupos, um com uma quantidade moderada de blocos de heterocromatina constitutiva composto por espécimes com $2n=44$ e $NFa=52$ (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2002) com pequenos blocos de heterocromatina constitutiva em praticamente todos os pares autossômicos, inclusive no submetacêntricos, e outro grupo com uma quantidade pequena ou quase ausente de heterocromatina constitutiva nos espécimes com $2n=44$ e $NFa=50$ (Zanchin *et al.*, 1992; presente trabalho), $2n=44$ e $NFa=49$ (Svartman & Almeida, 1993) e $2n=44$ e $NFa=48$ (Svartman & Almeida, 1993). Neste grupo além de banda pericentroméricas também foram registradas bandas intersticiais no cromossomo 1 nos cariótipos com $NFa=49$ e $NFa=48$ (Svartman & Almeida, 1993), que podem sugerir tanto rearranjos do inversões pericêntricas como adição/deleção de heterocromatina constitutiva para explicar tal ocorrência, além de ancestralidade em comum.

No grupo *R. nitela* podemos observar uma tendência de um grande número de pares cromossômicos terem blocos de heterocromatina constitutiva pericentromérica, tanto no cariótipo com $2n=48$ como no $2n=50$ (Volobouev & Catzefflis, 2000).

A variação dos cromossomos sexuais é devido ao acúmulo de heterocromatina constitutiva, fazendo com esses variem de forma, tamanho e distribuição da heterocromatina constitutiva nesses: Xa (acrocêntrico) com heterocromatina constitutiva somente na região do centrômero, encontrado em todas as formas com $2n=44$ (exceto no cariótipo com $NFa=70$, Sousa, 2005); Xb (submetacêntrico) com o braço longo do mesmo tamanho do acrocêntrico Xa, com heterocromatina constitutiva pericentromérica e no braço curto (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999), encontrado nos cariótipos com $2n=44$ e $NFa=74$ (presente trabalho), $NFa=70$ (Sousa, 2005), $NFa=54$ (Souza *et al.*, 2008), e $NFa=50$ (Gardner & Patton, 1976; Svartman & Almeida, 1993; Geise, 1995; Correa & Pessoa, 1996; Lima & Kasahara, 2003; Sousa, 2005; Pereira & Geise, 2007; presente trabalho); Xc (submetacêntrico) com o braço longo do mesmo tamanho do cromossomo Xa, com heterocromatina constitutiva em todo o braço curto e duas bandas intersticiais no braço longo, encontrado nos espécimes com $2n=50$ (Volobouev & Catzefflis, 2000; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999).

O cromossomo Y também apresenta variação na quantidade de heterocromatina constitutiva, e apesar de geralmente todo heterocromático, pode se apresentar em três formas: Ya (acrocêntrico) pequeno; Yb (acrocêntrico) pequeno, mas maior que o Ya, somente registrado para o cariótipo $2n=50$ e $NFa=72$ para qual é o único registro, com uma pequena banda eucromática

intersticial no braço longo (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999); e Yc (acrocêntrico) do mesmo tamanho do Yb, porém totalmente heterocromático, registrado no cariótipo $2n=50$ e $NFa=71$ (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999).

Shahin & Ata (2004) acreditam que a variação na quantidade de heterocromatina constitutiva entre um par de homólogos, ou entre pares de um mesmo cariótipo, ou mesmo entre cariótipos de espécies relacionadas seja devido à transformação de heterocromatina constitutiva em eucromatina ou vice-versa, ou à deleção e duplicação de segmentos heterocromáticos.

Porém, outra proposta sobre a origem de variação da heterocromatina constitutiva foi levantada. Os blocos de heterocromatina constitutiva detectados em um cromossomo podem ser remanescentes de rearranjos que geram transposição da heterocromatina constitutiva para outras regiões cromossômicas. Isso foi demonstrado no roedor africano *Arvicanthis niloticus*, que possui os cromossomos 1 e X nas formas acrocêntrica e subtelocêntrica, cuja diferença é devido à inversão pericêntrica, e assim modificou o lugar do bloco heterocromático, não podendo ser associada a acúmulo de heterocromatina constitutiva. Um caso semelhante é o do roedor australiano *Uromyscaudimaculatus* (Baverstock *et al.*, 1982), no qual foi comprovado que a maioria dos segmentos não pericentroméricos de heterocromatina constitutiva eram resultados de inversões pericêntricas e não de adição/deleção de heterocromatina constitutiva.

O efeito da adição/deleção de heterocromatina constitutiva pode ser grande, como por exemplo, na fertilidade dos indivíduos em condição heterozigota. Algumas populações de gofers da espécie *Thomomys bottae* se caracterizam por possuírem braços cromossômicos exclusivamente heterocromáticos, enquanto que outras populações não. Essa diferença não impede o intercruzamento entre esses indivíduos e a geração de descendentes férteis, e o rearranjo parece não funcionar como uma barreira reprodutiva (Patton & Sherwood, 1982). Situação similar foi reportada para o rato do deserto *Neotoma lepida* (Mascarello & Hsu 1976) e para o rato do campo *Microtus pinetorum* (Wilson, 1984).

Em geral, as diferenças no número de braços devido à adição/deleção de heterocromatina constitutiva não afetam a fertilidade dos indivíduos, mas quando os blocos de heterocromatina constitutiva são localizados intersticialmente o sucesso reprodutivo parece ser mais afetado. No mesmo estudo, Patton & Sherwood (1982) verificaram que populações que se diferem por um rearranjo de heterocromatina constitutiva intersticial não são capazes de entrecruzar e deixar descendentes férteis. Contudo, os autores sugerem que o motivo para essa barreira reprodutiva não se deve à heterocromatina constitutiva, mas que a heterocromatina constitutiva intersticial pode ser resultado de uma inversão pericêntrica que seria a verdadeira causa do isolamento reprodutivo entre essas populações.

De qualquer forma, os rearranjos de adição/deleção de heterocromatina constitutiva desempenham um papel importante na diversificação cariotípica de diversos grupos como os

citados acima e também no caso do rato gafanhoto *Onychomys torridus* (Rodentia, Muridae), o qual possui $2n=48$ e o Nfa varia de 72 a 92, e toda sua variação pode ser explicada pela presença ou ausência de braços curtos heterocromáticos sem alterações dos segmentos de eucromatina (Baker & Barnnet, 1981).

Porém para compreender melhor os padrões de adição/deleção de heterocromatina constitutiva e as inversões pericêntricas para saber se esses rearranjos funcionam como barreira reprodutiva faz-se necessários estudos sobre o comportamento meiótico de pares heteromórficos para observar o emparelhamento dos complexos sinaptonêmicos. Assim como os trabalhos de Fagundes *et al.* (1998) no qual analisaram os complexos sinaptonêmicos de células paquitênicas de indivíduos heterozigotos para a inversão em *Akodon cursor* e não observaram problemas no emparelhamento dos cromossomos, com formação de heterosinapses nas porções não homólogas. Ou ainda em Wang *et al.* (2003) no qual estudaram o comportamento dos cromossomos com inversões pericêntricas do roedor *Microtus madarinus*, durante a meiose e não detectaram nenhum problema durante a segregação destes cromossomos.

No caso de *Rhipidomys* existe uma questão crucial, que é verificar se o cariótipo seria uma barreira reprodutiva efetiva entre as diferentes formas cariotípicas. Uma forte evidência pode ser o achado de Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) que descreveram o cariótipo de uma fêmea encontrada na Bahia com $2n=44$ e Nfa=69 e nove pares heteromórficos. Devido à grande quantidade de pares heteromórficos as autoras sugeriram duas hipóteses: 1) que este espécime foi originado de uma população na qual os pares heteromórficos são estáveis como polimorfismos, ou 2) que este espécime representa um híbrido entre um indivíduo com um cariótipo predominantemente composto por metacêntricos e submetacêntricos e um indivíduo com o cariótipo formado basicamente por acrocêntricos. Embora as autoras não tenham tomado uma posição mais clara sobre o status do cariótipo Nfa=61, baseado nos fatos que: a) em populações de *Rhipidomys*, casos de pares heteromórficos múltiplos não existem; b) foram observados casos de um par heteromórfico em três cariótipos e em três indivíduos de populações distintas, caracterizando casos isolados e não variações polimórficas (Svartman & Almeida, 1993; Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999; Volobouev & Catzeflis, 2000); c) em *Rhipidomys* há tanto cariótipos com Nfa alto como com Nfa baixo que combinados seriam os potenciais parentais desse indivíduo com cariótipo com $2n=44$ e Nfa=61; e d) a região da Bahia onde ocorre o cariótipo $2n=44$ e Nfa=61 é uma área de simpatria entre diferentes formas cariotípicas com Nfa alto (Nfa=74, 70 e 72) como com Nfa baixo (Nfa=48, 50 e 54). Sendo assim, consideramos que esse cariótipo com $2n=44$ e Nfa=61 deve corresponder a um híbrido entre um espécime do grupo *Rhipidomys leucodactylus* e outro espécime do grupo *Rhipidomys mastacalis*.

IV. 2. Citotaxonomia em *Rhipidomys*

Grupo *R. mastacalis* (2n=44 e NFa alto)

Tribe (1996) analisou caracteres morfológicos e morfométricos de espécimes cariotipados (2n=44 e NFa=74) de Unacau na Bahia por Zanchin *et al.* (1992) e de Casimiro de Abreu (RJ) por Geise (1995), assim como espécimes não cariotipados de Lagoa Santa (MG), e os identificou como *Rhipidomys mastacalis*. Como a localidade tipo de *Rhipidomys mastacalis* (Lund, 1840) é Lagoa Santa em Minas Gerais, Tribe (1996) associou o cariótipo 2n=44 e NFa=74 a essa espécie, apesar de não existir espécimes cariotipados da localidade-tipo.

Anos depois, Costa (2007) utilizou os mesmos caracteres morfológicos e morfométricos de Tribe (1996), além de dados de sequências do gene mitocondrial citocromo b (mas sem a informação dos dados cariotípicos), e observou um clado monofilético, identificado como *R. mastacalis*, formado por espécimes de Águia Branca no Espírito Santo, de Una e de Ilhéus na Bahia. Dados citogenéticos desses animais foram analisados no presente estudo e em Souza (2005) e apresentaram o cariótipo com NFa=74, NFa=72 e NFa=70, respectivamente.

Andrades-Miranda *et al.* (2002) sugerem que os espécimes com cariótipo NFa=76 e NFa=80, seriam subespécies de *R. mastacalis*, com base na diferença dos cariótipos e a distribuição geográfica descontínua, uma vez que as outras formas desse grupo (NFa=70-74) ocorrem sempre associadas à Mata Atlântica. Apesar do hiato que há na distribuição das formas do Cerrado e da Mata Atlântica, as diferenças cariotípicas são muito pequenas. Não há estudo que proponha um nome para essas formas, e a falta de estudos morfológicos e/ou moleculares que dêem suporte à sugestão de subespécies de *R. mastacalis* não permite associar as formas NFa=76 e NFa=80 a um nome.

A pequena diferença entre os cariótipos, a distribuição geográfica contínua das formas da Mata Atlântica, com alguns pontos de simpatria na Bahia e em Goiás, e a falta de evidências morfológicas para distinguir os espécimes entre as formas NFa=70-74, podem nos levar a interpretar que esses cariótipos correspondem ao um único táxon *Rhipidomys mastacalis*, com polimorfismos intraespecíficos.

Suporte para essa interpretação é encontrado na literatura, com vários exemplos em roedores. Polimorfismos intraespecíficos são comuns em *Akodon cursor* com 28 formas cariotípicas (Fagundes *et al.*, 1998) e *Oligoryzomys nigripes* com 46 citótipos (Paresque *et al.*, 2007). Paresque *et al.* (2007) propuseram uma explicação para esse elevado nível de polimorfismo intraespecífico, analisando a distribuição espacial das formas cariotípicas de *O. nigripes*, e encontraram correlação entre citótipos e áreas geográficas de ocorrência, sugerindo que esses rearranjos em regiões geográficas restritas podem estar relacionados com valores adaptativos

positivos. Segundo Baker *et al.* (1983) a seleção natural pode favorecer a fixação de rearranjos cromossômicos que promovem algum benefício genético a quem os carrega. Com a fixação de rearranjos localmente a diversidade cariotípicas aumentaria.

Apesar dos aspectos a favor desses cariótipos corresponderem a um polimorfismo intraespecífico, temos que levar em consideração a ausência das condições intermediárias, nas quais indivíduos com pares heteromórficos para essas mudanças cariotípicas pesam contra a proposta.

Porém, esses cariótipos podem representar espécies distintas, apesar da não distinção morfológica. Há na literatura casos como de *Akodon cursor* e *A. montensis*, duas espécies crípticas com distribuição simpátrica na Mata Atlântica, cujo único caráter diagnóstico é o cariótipo. Entre essas espécies foi comprovado por cruzamentos em laboratórios que indivíduos quando cruzados não geram descendentes férteis, dando suporte à proposta de espécies distintas sem diferenciação morfológica. Outro exemplo é o trabalho de Pelegrino *et al.* (2005) com o lagarto *Gymnodactylus darwini*, no qual a análise cariotípica de populações na Mata Atlântica revelou dois cariótipos distintos, que associados à estruturação genética e distribuição geográfica, são congruentes com uma separação por sistemas de rios na região norte da Mata Atlântica. Os autores reconheceram duas raças cromossômicas de *Gymnodactylus*, cada uma com uma espécie válida, apesar de não haver caracteres morfológicos para distinguir essas espécies.

Diante desse quadro não é possível afirmarmos se os cariótipos do grupo *Rhipidomys mastacalis* representam um polimorfismo intraespecífico ou se cada um representa um táxon distinto. Estudos moleculares associados a esses dados poderiam auxiliar na interpretação desses dados, dando uma noção dos níveis de diferenciação genética entre essas formas cariotípicas e suas relações filogenéticas. Além disso, novas análises morfológicas incluindo mais exemplares levando em consideração os dados cariotípicos são necessárias.

Grupo *R. leucodactylus* (2n=44 e NFa baixo)

A revisão dos dados cariotípicos para esse grupo apresentada no presente estudo sugerem que no grupo *R. leucodactylus* estão incluídas várias entidades que foram associadas a uma mesma forma cariotípica, e ainda que algumas espécies pareçam estar associadas a mais de um cariótipo. Nesse grupo temos 9 espécies reconhecidas de *Rhipidomys* e 10 cariótipos descritos.

Patton *et al.* (2000) identificaram na região leste da Amazônia duas espécies simpátricas de *Rhipidomys*, que se diferenciam por caracteres morfológicos, moleculares e cariotípicos. A espécie *R. leucodactylus* possui um tamanho corporal relativamente maior que da espécie *R. gardneri*, divergência genética de 12% entre essas duas espécies, e cariótipo com NFa=46, enquanto *R. gardneri* apresenta NFa=50.

O táxon *R. leucodactylus* ocorre nas Guianas, centro e norte do Brasil, sul da Venezuela, Equador, Peru e Bolívia (Musser & Carleton, 2005). Tribe (1996) diagnosticou uma considerável variação geográfica nesta espécie, porém, com base nos dados disponíveis naquele momento não era possível separar as variações em táxons distintos, nem mesmo como subespécies. Tribe sugeriu que dados cariotípicos e moleculares no futuro poderiam demonstrar que essa espécie na verdade é um complexo de espécies.

Os dados cariotípicos mostraram uma considerável variação em *R. leucodactylus* revelando quatro cariótipos: NFa=52 XaYa em populações de Mato Grosso (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999), Pará e Goiás (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); NFa=48 XaYa em outra população de Goiás (Andrades-Miranda *et al.*, 2002) e uma população Rondônia (Zanchin *et al.*, 1992); NFa=48 XbYa na Venezuela (Aguilera *et al.*, 1994); e NFa=46 XaYa na Amazônia. Os cariótipos NFa=52 XaYa e NFa=46 XaYa estão associados apenas a essa espécie, por outro lado o NFa=48 XaYa foi recentemente descrito para espécimes da Bahia identificados como *R. macrurus* (Pereira & Geise, 2007) e NFa=48 XbYa foi associado às duas espécies novas no leste do Brasil (Costa, 2007) e *R. latimanus* da Colômbia (Gardner & Patton, 1976).

A espécie *R. gardneri* tem sua distribuição bem mais restrita, ocorrendo no extremo oeste do Acre até Sudeste do Peru. Foi descrita levando em baseada dados morfológicos, moleculares e cariotípicos. Apesar de a espécie estar bem estabelecida em termos de morfologia, seu cariótipo não possui uma descrição completa (NFa=50), pois apenas uma fêmea foi analisada e assim o cromossomo X foi inferido e, portanto o Y não é conhecido. Há registros de outras populações fora da área de distribuição de *R. gardneri* que compartilham o NFa=50.

Outro táxon amazônico é *R. macconnelli* que ocorre nas terras altas do sul da Venezuela e regiões próximas ao norte do Brasil e oeste da Guiana. Tribe (1996) levanta três possibilidades de classificação para essa espécie, que ela talvez seja mais apropriadamente associada ao gênero *Thomasomys*, grupo irmão de *Rhipidomys* (Smith & Patton, 1999); que esta espécie merecesse um status genérico em separado de *Rhipidomys* e *Thomasomys*, ou que *R. macconnelli* corresponderia a uma possível ramificação basal do gênero.

Os estudos filogeográficos apresentados por Costa (2003) apontam que há uma separação temporal muito grande entre a diversificação de *R. macconnelli* para outros táxons, além de mostrar um nível de divergência genética em torno de 17% com as outras espécies do gênero, enquanto que a divergência média entre as outras espécie varia em torno de 10 a 12%.

Em Costa (2007) é reforçada a idéia de que *R. macconnelli* não pertence ao gênero *Rhipidomys*. Apesar de todos esses indícios morfológicos e moleculares o cariótipo de *R. macconnelli* com NFa=50 XbYa é idêntico ao cariótipo de outras espécies de *Rhipidomys* encontradas no leste do Brasil como *R. macrurus*, *R. cariri* e duas espécies ainda não descritas (Costa, 2007), o que nos leva a sugerir a inclusão desta espécie nesse gênero.

O táxon andino *R. latimanus* teve seu cariótipo associado à forma $NFa=48 XbYa$ (Gardner & Patton, 1976). Esta espécie ocorre nas florestas andinas com elevação em torno de 450-2200 metros de altitude, no centro e oeste da Colômbia, centro do Equador e extremo norte do Peru. Esse cariótipo é compartilhado fora da área de distribuição de *R. latimanus*, como populações da Amazônia Venezuelana identificadas como *R. leucodactylus* (Aguilera *et al.*, 1994), e populações de duas espécies novas no leste do Brasil, uma com registro para o Rio de Janeiro (Costa, 2007) e outra para Minas Gerais (Costa, 2007).

Para o centro do Brasil, Costa (2007) identificou uma espécie que forma o clado identificado como *R. nitela* por Costa *et al.* (2003) nomeado dessa forma por conter espécimes de Ribeirão Cascalheiras no Mato Grosso, localidade citada por Tribe (1996) como área de ocorrência de *R. nitela*, embora o táxon *R. nitela* segundo Voss *et al.* (2001) é restrito às Guianas. Como nenhum outro táxon pode ser associado a este clado Costa (2007) o denominou como *Rhipidomys* sp. A análise citogenética de espécimes de Ribeirão Cascalheiras revelou um cariótipo com $NFa=50 XbYa$ (presente trabalho). Esse cariótipo é idêntico ao encontrado em espécimes da Bahia (presente trabalho) reconhecidos como uma espécie nova por Costa (2007) de Piauí identificados como *R. macrurus* (Sousa, 2005), da Bolívia identificados como *R. macconnelli* (Aguilera *et al.*, 1994) e do Ceará (presente trabalho) identificados como *R. cariri* (Costa, 2007), além de espécimes não identificados de Pernambuco (presente trabalho).

Tribe (1996) considerou os táxons do leste do Brasil os mais problemáticos do gênero, reconhecendo três espécies para essa região, *Rhipidomys mastacalis*, *R. macrurus* e *R. cariri*, e mais uma entidade para as montanhas do sudeste como *Rhipidomys* cf *macrurus*. A falta de caracteres morfológicos discretos para distinguir essas espécies fez com que Tribe (1996) considerasse os dados cariotípicos disponíveis até aquele momento como caracteres diagnósticos na tentativa de delimitar as espécies. O táxon *R. mastacalis* ficou caracterizado por possuir um cariótipo com NFa alto, *R. macrurus* com NFa baixo, e *R. cariri* não possuía cariótipo descrito, mas sua ocorrência é restrita ao Ceará. Posteriormente Costa (2007) em sua revisão sobre os *Rhipidomys* do leste do Brasil reconheceu três novas espécies para essa área.

Rhipidomys macrurus, segundo Tribe (1996) ocorre nas florestas semidecíduas e de galerias do Cerrado e da Caatinga, no sudoeste do Ceará, leste do Mato Grosso e Minas Gerais. No estudo realizado por Costa (2007) a área de ocorrência dessa espécie foi reduzida para o sudoeste do Ceará até leste do Mato Grosso associada a matas de galerias. Esta diminuição da área de distribuição desta espécie é devido a descrições de três novas espécies para o leste do Brasil (Costa, 2007), que comumente eram identificadas como *R. macrurus*. Foram associados a essa espécie cinco cariótipos, $NFa=50XaYa$ para espécimes de Minas Gerais (presente trabalho) e Espírito Santo (presente trabalho), $NFa=50 XbYa$ para espécimes do Piauí (Sousa, 2005), $NFa=49 XaYa$ para um espécime de Goiás (Svartman & Almeida, 1993), $NFa=48 XaYa$ para espécimes da Bahia

(Pereira & Geise, 2007), e NFa=48 XbYb para espécimes de Tocantins (Lima & Kasahara, 2003). Esta variabilidade dentro de *R. macrurus* talvez esteja superestimada.

Como novas espécies para o leste do Brasil só foram identificados em 2007 por Costa, até então todos os espécimes coletados nessa região que possuíam cariótipo com NFa baixa eram classificados como *Rhipidomys macrurus*. Isso ocorreu em Tribe (1996), quando este autor analisou os espécimes do Vale do São Francisco (oeste da Bahia e norte de Minas Gerais), apesar de notar que esses espécimes dividiam estados de caracteres tanto com *Rhipidomys macrurus* quanto com *R. cariri*, em virtude do número baixo de braços autossômicos (NFa) encontrados nas amostras do Vale do São Francisco resolveu aloca-los como *R. macrurus*.

Posteriormente, Costa (2007) separou os espécimes do Vale do São Francisco em uma espécie nova ainda não descrita, referenciada como *Rhipidomys* sp3. Diante disso, considerando que a separação de *macrurus* em mais de um táxon, proposta por Costa (2007) está correta, *R. macrurus* compreende somente as populações de Minas Gerais e Espírito Santo com NFa=50 XaYa. Porém não descartamos a possibilidades de outros cariótipos estarem associados a *R. macrurus*, devido a erros e desatualização das identificações dos espécimes cariotipados disponíveis na literatura.

O táxon *Rhipidomys cariri* tem sua distribuição restrita ao Ceará e possui apenas cariótipo associado à NFa=50 XbYa (presente trabalho), idêntico ao cariótipo descrito para duas populações do Piauí por Sousa (2005), do Mato Grosso (presente trabalho), da Bahia (presente trabalho) e de Pernambuco (presente trabalho).

A análise cariotípica de exemplares de uma nova espécie identificada por Costa (2007) que ocorre na Bahia, Goiás, Minas Gerais e Tocantins (*Rhipidomys* sp3) mostrou três cariótipos distintos: NFa=50 XbYc para a população Minas Gerais e Bahia, NFa=50 XbYa para mesma população da Bahia (presente estudo), e NFa=48 XaYa para um espécime de Minas Gerais (Correa & Pessoa, 1996).

Costa (2007) comenta que *Rhipidomys macrurus*, *R. cariri* e *Rhipidomys* sp3 possuem similaridade morfológica entre si e se apresentam filogeneticamente próximas com *R. cariri* e a *Rhipidomys* sp3 como grupo-irmão e o clado formado por essas duas espécies, grupo irmão de *R. macrurus*. Além disso, Costa (2007) destaca que os espécimes de *Rhipidomys* sp3 provenientes da porção sul da distribuição dessa espécie (Coronel Murta, Minas Gerais) apresentam semelhanças com *R. macrurus*, enquanto exemplares mais ao norte da distribuição (Andaraí, Bahia) apresentam similaridade com *R. cariri*. Esta similaridade morfológica e a dificuldade de limites entre essas três entidades do leste do Brasil também pode ser observada nos cariótipos. A proximidade entre *R. cariri* e *Rhipidomys* sp3 é corroborada pelo cariótipo, uma vez que essas duas espécies possuem a mesma forma cariotípica com NFa=50 XbYa.

Costa (2007) descreveu outra espécie para o leste do Brasil referenciada como *Rhipidomys* sp2 que ocorre especificamente no leste de São Paulo e Rio de Janeiro associada à Mata Atlântica. Neste trabalho Costa (2007) identificou um espécime de Salesópolis (São Paulo) como *Rhipidomys* sp2. Svartman & Almeida (1993) cariotiparam uma fêmea dessa mesma localidade e encontraram um cariótipo com $NFa=49$ XbXb.

Alguns cariótipos descritos não estão associados a nenhuma espécie reconhecida. Este é caso dos espécimes da Chapada Diamantina com o cariótipo $NFa=54$ com duas variação devido ao cromossomo Y (XaYa e XbYa). Sousa *et al.* (2008) analisaram os dados citogenéticos e os morfológicos desses espécimes e não foram capazes de associá-los a nenhuma espécie reconhecida de *Rhipidomys*, sugerindo que esta seja uma nova espécie para o gênero.

Outro caso é o cariótipo com $NFa=52$ descrito para espécimes de Vila Rica no Mato Grosso (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999) que não foi associada a nenhum táxon reconhecido, e que se diferencia do cariótipo $NFa=52$ dos espécimes não classificados de Aripuanã no Mato Grosso (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999), de Melgaço no Pará (Andrades-Miranda *et al.*, 2002) e de Colinas do Sul em Goiás pela composição dos cromossomos autossômicos. O cariótipo de Vila Rica apresenta o cromossomo 4 como um submetacêntrico, enquanto o segundo cariótipo o cromossomo 4 se apresenta como um acrocêntrico e os quatro menores cromossomos do conjuntos são submetacêntricos.

As espécies de *Rhipidomys* pertencentes ao grupo *Rhipidomys leucodactylus* são morfológicamente distintas, mas a distinção na estrutura cariotípica é pequena. Devido à insuficiência de conhecimento sobre a sistemática e os limites distribucionais de *Rhipidomys*, principalmente os do leste do Brasil, e também por erros e desatualização das identificações dos espécimes estudados há certa dificuldade de associar toda essa variedade cariotípica com unidades taxonômicas diagnosticáveis.

Grupo *Rhipidomys nitela* (2n=48 e 50)

O grupo *Rhipidomys nitela* foi proposto por Andrades-Miranda (2002), e é composto pelos espécimes com cariótipos $2n=48$ e $2n=50$. É o grupo menos amostrado, com apenas cinco citótipos descritos, três com $2n=48$ e dois com $2n=50$. Essas formas são pouco frequentes no gênero, registradas para quatro localidades, duas no norte do Brasil (Manaus e Surumú), uma na Venezuela (Bolívar) e uma na Guiana Francesa (Figura 8). Apesar da baixa frequência, esses cariótipos apresentam alta variabilidade uma vez que cada indivíduo descrito com esses cariótipos possui um citótipo diferente, totalizando cinco citótipos.

Tribe (1996) identificou uma larga escala de variação morfométrica e morfológica nos limites de *R. nitela*, porém a maneira como os caracteres estão distribuídos não permitiram sua

divisão em táxons distintos. Portanto os dados cromossômicos e morfológicos sugerem que as formas $2n=48/NFa=66$, $2n=48/NFa=67$, e $2n=48/NFa=68$ representam um polimorfismo cromossômico, com variação de dois pares autossômicos devido a rearranjos do tipo inversão pericêntrica e representam o táxon *R. nitela*.

Quanto aos cariótipos com $2n=50$, descritos por Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) para exemplares de Manaus, que apresentam duas formas, $NFa=71$ e $NFa=72$. Uma análise comparativa desses cariótipos utilizando dados de Ag-RONs e bandeamento C e G revelou que as diferenças entre os citótipos é devido a rearranjos do tipo inversão pericêntrica e adição/deleção de heterocromatina constitutiva, envolvendo dois pares de cromossomos e os cromossomos Y. Esses citótipos foram considerados, pelas autoras, como um polimorfismo. Tribe (1996) revisou os exemplares cariotipados por Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) e os classificou como *R. cf nitela*, na ausência de caracteres diagnósticos suficientes para agrupá-los com *R. nitela*. Levando em consideração os dados morfológicos e citogenéticos os exemplares de Manaus representam um táxon distinto de *R. nitela*, porém não foi possível sua associação a nenhum nome existente.

IV. 3. Evolução Cariotípica em *Rhipidomys*

Existem algumas hipóteses para a origem dos sigmodontíneos na América do Sul. A mais aceita é que um estoque ancestral proveniente da América do Norte tenha originado os roedores da América do Sul, devido a não detecção de cricetídeos primitivos entre os fósseis na América do Sul e seu registro na América do Norte (Dawson, 1967; Reig 1984; Reig, 1986). Duas hipóteses tentam explicar a origem destes roedores na América do Sul.

A primeira hipótese é baseada em evidências fósseis e postula que a diferenciação da maioria dos gêneros sigmodontíneos ocorreu na América do Norte. Posteriormente, após a formação do Istmo do Panamá, os sigmodontíneos alcançaram a América do Sul através da América Central, já como um grupo complexo e diversificado (Patterson & Pascual, 1968; Patterson, 1972).

Outra hipótese sugere que os sigmodontíneos são mais antigos na América do Sul do que proposto por Patterson & Pascal (1968). Seus ancestrais teriam alcançado o continente através de jangadas naturais e aqui ao invadirem novas regiões e nichos ecológicos disponíveis passaram a sofrer uma série de radiações adaptativas, em níveis genéricos e específicos (Savage, 1974; Reig 1978; Reig 1984; Reig, 1986).

Reig (1984) ainda propõem que área de diferenciação original dos orizominos estaria localizada nos Andes do Equador, Colômbia e Venezuela. Seus ancestrais (proto-orizominos) teriam alcançado a costa noroeste da América do Sul por meio de jangadas e teriam se dispersado rapidamente nas terras altas que emergiam no Mioceno inferior. O levantamento subsequente da cordilheira na fase miocena orogênica teria aumentado a heterogeneidade dos ambientes andinos,

promovendo a diferenciação da linhagem orizomina ancestral em adaptação aos habitats diferentes da selva montanhosa. Engel *et al.* (1998) propõem que o aparecimento dos sigmodontíneos ocorreu no que hoje seria equivalente ao México e sudoeste do Estados Unidos há aproximadamente 9 a 14,8 milhões de anos atrás, e que seu surgimento e diversificação na América do Sul teria ocorrido a 5 a 8,3 milhões de anos gerando *Reithrodon*, akodontinos, e phyllotinos (e presumivelmente as outras tribos) devido a disponibilidade de vastas áreas de habitats anteriormente inexplorados.

É provável que dentro deste processo tenha-se originado o táxon *Rhipidomys*. De acordo com Costa (2003) as origens de *Rhipidomys* remontam há pouco mais de seis milhões de anos (Mioceno superior), idade essa que separa os táxons andinos *R. macconnelli* e *R. wetzeli* dos demais. Dados de Costa (2007) mostram que as espécie andinas *Rhipidomys macconnelli* e *R. wetzeli* são ramos basais no gênero.

Diante disso, uma hipótese possível que explique a evolução do grupo é que as populações de *Rhipidomys* com distribuição no Andes seriam o estoque ancestral, e a partir desse ponto tenham ocorrido radiações em direção as terras baixas amazônicas até alcançar a costa brasileira.

Considerando que os Andes seriam o ponto de origem da radiação de *Rhipidomys* as populações dessa região carregariam as condições mais primitivas do grupo, sugerimos que o cariótipo presente em exemplares dessa região seja a composição cariotípica mais primitiva, e a partir dessa forma surgiram as outras formas cariotípicas. Para a região Andina foram descritos apenas cariótipos com $2n=44$ e NFA baixo, NFA=48 XbYa para a espécie *R. latimanus* e *R. leucodactylus* e NFA=50 para espécimes de *R. macconnelli*. Apesar de *R. macconnelli* ser apontada como um espécie basal dentro do gênero e possuir o NFA=50, no trabalho de Costa (2003) não está incluso na análise espécimes de *R. latimanus*, portanto não sabemos seu posicionamento filogenético e nem sua origem em relação aos outros *Rhipidomys*.

Dessa forma não é possível confirmar qual a forma mais ancestral de *Rhipidomys*, mas esta categoria provavelmente é endereçada a *R. macconnelli* ou *R. latimanus*, com $2n=44$, NFA=50 e 48, respectivamente.

A partir desse cariótipo ancestral ($2n=44$ /NFA=50,48), propomos um modelo de evolução cariotípica com base na distribuição das formas cromossômicas em cada região. Baseada no número diplóide e no número de braços autossômicos observamos três grandes agrupamentos, como proposto por Andrades-Miranda *et al.* (2002), e é provável cada grupo desse corresponde a uma linhagem evolutiva dentro do gênero: $2n=44$ NFA baixo; $2n=44$, NFA alto e $2n=48-50$. A primeira linhagem, seria a mais basal, teria surgido a partir de um ancestral ($2n=44$ e NFA baixo) presente nos Andes, que se distribuiu pela América do Sul dominando inicialmente as cadeias montanhosas do Andinas e em seguida a terras baixas da Amazônia, atravessando o Brasil central nos domínios do Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga, até alcançar a costa brasileira na altura dos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, formando o que reconhecemos hoje como

grupo *Rhipidomys leucodactylus*. Devido à grande diversificação de ambientes, pode ter ocorrido grande diversificação cariotípica, com eventos discretos de inversão pericêntrica atuando como prováveis barreiras reprodutivas, gerando diversos cariótipos com NFa baixo (46, 48, 50, 52 e 54), assim como variação de heterocromatina constitutiva gerando diferentes formas de cromossomos sexuais. A tendência teria seguido tanto na direção de aumentar quanto diminuir o NFa, quanto em diminuir o NFa. São verificados 10 citótipos que se distribuem pela Venezuela, Colômbia, e nas regiões sudeste, centro-oeste e norte do Brasil, sob domínio da Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado e Caatinga. É nesse grupo que se encontram a maior variedade de táxons com algumas espécies com distribuição ampla, como *R. leucodactylus*, assim como outras com distribuição restrita como *R. gardneri* restrito ao extremo oeste do Acre no Brasil até a sudeste do Peru e *R. cariri* que ocorre apenas nos brejos de altitude do Ceará. Provavelmente a diversidade morfológica não acompanhou a diversificação cariotípica nesse grupo, dada a recente diversificação das espécies desse grupo (Tribe, 1996; Costa, 2007). Talvez sirvam como bons exemplos de especiação sem mudanças na macroestrutura cariotípica, a qual ocorre em outros organismos modelos como formigas (Imai, 1983) e peixes (Cipriano *et al.*, 2008). Desses grupos que surgiram as outras duas linhagens.

Uma segunda linhagem alcançou o nordeste brasileiro através de uma ramificação amazônica, com NFa baixo. Do nordeste brasileiro essa linhagem dispersou dos estados de Pernambuco até Rio de Janeiro. Isso é corroborado com o mostrado em Costa (2003) que mostra a relação de grupo-irmão de um clado Amazônico com um clado da Mata Atlântica, este clado da Mata Atlântica é reconhecido como *Rhipidomys mastacalis* que é caracterizado por Tribe (1996) por possuir $2n=44$ e NFa alto. Ao chegar ao estado do Rio de Janeiro, talvez a cadeia montanhosa da Serra da Mantiqueira tenha servido como uma barreira para dispersão dessa linhagem, então se dispersou para oeste alcançando o centro do Brasil, até estado de Goiás. Esta linhagem seria equivalente hoje ao grupo *Rhipidomys mastacalis*, que conforme migrou para o litoral acumulou inversão pericêntrica, com aumento de cromossomos meta/submetacêntricos, gerando o cariótipo com NFa=70, o mais basal do grupo. Os cinco cariótipos (NFa= 70, 72, 74, 76 e 80) do grupo *Rhipidomys mastacalis* se diferenciam por cinco pares cromossômicos (Tabela 4), com tendência a aumento do número de pares submetacêntricos em detrimento a diminuição de pares acrocêntricos (Tabela 3). Em relação aos cromossomos sexuais, o cromossomo X foi registrado como forma Xb (submetacêntrico) para os cariótipos com NFa=70 e 74 e Xa (acrocêntrico) para os cariótipos com NFa=72, 74, 76 e 80. A forma submetacêntrica do cromossomo X também ocorre em *R. macconnelli*, o que nos leva a propor que a forma submetacêntrica, com braço curto heterocromático seja a forma basal para essa linhagem. O cromossomo Y foi registrado como Ya para as formas com NFa=72, 74, 76 e 80 e como Yc somente para a forma NFa=70. Os cariótipos do grupo *Rhipidomys mastacalis* formam dois grupos de distribuições disjuntas. Os cariótipos com NFa 70, 72 e 74 ocorrem sempre associadas a Mata Atlântica e possuem uma distribuição espacial quase clinal, com

os espécimes com $NFa=70$ ocorrendo mais ao norte da Mata Atlântica com registros de ocorrência do Piauí até a Bahia; $NFa=72$ ocorrendo em apenas uma localidade no litoral da Bahia; enquanto que os espécimes com cariótipos com $NFa=74$ ocorrem mais ao sul da Mata Atlântica da Bahia até o Rio de Janeiro. Os outros cariótipos do grupo *Rhipidomys mastacalis* com cariótipo $NFA=76$ e $NFA=80$ possuem uma distribuição restrita ao bioma Cerrado é o extremo da distribuição geográfica do grupo, dessa maneira, mais divergentes, e foram registrados apenas em Goiás. De qualquer forma fica claro um padrão clinal de distribuição dos espécimes com esses cariótipos e sua similaridade cariotípica, mesmo aqueles separados por grandes distâncias geográficas e habitando biomas distintos como Cerrado e Mata Atlântica.

A terceira linhagem seria equivalente aos espécimes do grupo *Rhipidomys nitela* e corresponde aos indivíduos com $2n=48$ e 50 . Nessa linhagem houve uma tendência ao aumento do número diplóide, mas assim como no restante do grupo eventos de inversão pericêntrica também são registrados nas duas formas cariotípicas. Silva & Yonenaga-Yassuda (1999) com uma comparação detalhada dos padrões de bandas entre os cariótipos com $2n=44$ e $2n=50$ foram detectadas homologia entre 10 pares autossômicos, reveladas cinco eventos de inversão pericêntrica, além de um rearranjo robertsoniano, envolvidos na diferenciação desses dois cariótipos $2n=50$ e $2n=44$. Essas formas cariotípicas conquistaram as florestas de tabuleiro das Guianas, sul da Venezuela e norte do Brasil, provavelmente ficaram restritas ao lado leste do Rio Negro-Madeiras.

V. Conclusão

Apesar de o gênero *Rhipidomys* exibir uma elevada variabilidade cariotípica, com três números diplóides $2n=44$, 48 e 50, e com variação do número de braços autossômicos (NFa) e dos cromossomos sexuais, totalizando 22 citótipos distintos, pouco se sabe sobre os mecanismos evolutivos na evolução cariotípica de *Rhipidomys*. É necessário entender a importância das inversões pericêntricas e da adição/deleção de heterocromatina constitutiva para a diversificação e evolução cariotípica do grupo, para isso seria necessário estudos sobre o comportamento meiótico de pares heteromórficos para observar o emparelhamento dos complexos sinaptonêmicos e inferir se esses rearranjos impedem a formação de gametas balanceados e servem como barreiras pós-zigóticas, interferindo diretamente no surgimento de novas espécies.

É possível observar alguns padrões de distribuição dos cariótipos, e associar a formas cariotípicas a espécies reconhecidas, porém há certa dificuldade nessa tarefa, principalmente devido a grandes lacunas de pontos amostrados e a dificuldade da identificação correta dos espécimes analisados. Torna-se premente uma revisão sistemática no grupo, na qual o cariótipo pode servir como ponto de partida para a identificação dos táxons.

Ainda não existem hipóteses de como seria o cariótipo primitivo para o gênero e como teria ocorrido a diversificação cariotípica de *Rhipidomys* na América do sul, sendo a primeira proposta apresentada nesse presente trabalho, mas essa hipótese deve ser testada com estudos filogenéticos para determinar as linhagens basais e as mais derivadas no grupo, dando uma polarização aos dados cariotípicos.

VI. Referências

- AGUILERA, M.; PÉREZ-ZAPATA, A.; MARTINO, A. (1995). **Cytogenetics and karyosystematics of *Oryzomys albigularis* (Rodentia, Cricetidae) from Venezuela.** Cytogenetics Cell Genetics, 69 (1-2):
- AGUILERA, M.; PÉREZ-ZAPATA, A.; MARTINO, A.; BARROS, M.A.; PATTON, J. (1994). **Karyosystematics of *Aepomys* and *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae).** Acta Científica Venezolana, 45: 247-248.
- ALMEIDA, E.J.C.; YONENAGA-YASSUDA, Y. (1991). **Pericentric inversions and sex chromosome heteromorphisms in *Oryzomys Nigripes* (Rodentia, Cricetidae).** Caryologia, 44(1): 63-73.
- ANDRADES-MIRANDA, J.; OLIVEIRA, L.F.B. de; LIMA-ROSA, C.A.V.; SANA, D.A., NUNES, A.P.; MATTEVI, M.S. (2002). **Genetics studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil.** Acta Theriologica, 47 (2): 125-135.
- BAKER, R.J.; BARNETT, R.K. (1981). **Karyotypic orthoselection for additions of heterochromatic short arms in Grasshopper mice (*Onychomys*: Cricetidae).** The Southwestern Naturalist, 26(2):125-131.
- BAKER, R.J.; BICKHAM, J.W. (1980). **Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa.** Systematic Zoology, 29:239-253
- BAKER, R.J.; CHESSER, R.K.; KOOP, B.F.; HOYT, R.A. (1983). **Adaptive nature of chromosomal rearrangement: differential fitness in pocket gophers.** Genetica, 61:161-164.
- BAKER, R.J.; ROBBINS, L.W.; STANGL, F. B.; BIRNEY, E. C. (1983). **Chromosomal evidence for a major subdivision in *Peromyscus leucopus*.** Journal of Mammalogy, 64:356-359.
- BAKER, R.J.; BICKHAM J.W. (1980). **Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa.** Systematic Zoology, 29:239-253.
- BAVERSTOCK, R.R.; GELDER, M.; JAHNKE, A. (1982). **Cytogenetic studies of the Australian rodent, *Uromys caudimaculatus*, a species showing extensive heterochromatin variation.** Chromosoma, 84:517-533.
- BONVICINO, C.R.; D' ANDREA, P.S.; BORODIN, P.M. (2001) **Pericentric inversion in natural populations of *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia, Sigmodontinae).** Genome, 44:791-796.

- BONVICINO, C.R.; DE MENEZES, A.R.E.A.N.; OLIVEIRA, J.A. (2003). **Molecular and karyologic variation in the genus *Isothrix* (Rodentia, Echimyidae)**. *Hereditas*, 139(3):206-211.
- BRUM-ZORRILLA, N.; FRONZA, T.G.; WAINBERG, R. (1988) ***Oryzomys flavescens* and *O. delticola* chromosomes (Rodentia, Cricetidae) from Uruguay and Argentina**. *Caryologia*, 41:275-288.
- CIPRIANO, R.P.; FENOCCHIO, A.S.; ARTONI, R.F.; MOLINA, W.; NOLETO, R.B.; KANTEK, D.L.; CESTARI, M.M. (2008). **Chromosomal studies of Five species of marine fishes from the Paranaguá bay and karyotypic diversity in the marine Teleostei of Brazilian coast**. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51 (2): 303-314.
- CORREA, M.M.O.; PESSOA, L.M. (1996). **O cariótipo de *Rhipidomys* sp (Rodentia: Cricetidae) do norte de Minas Gerais**. Resumos do XXI Congresso Brasileiro de Zoologia, Porto Alegre, 1061:226.
- COSTA, B.M.A. (2007). **Sistemática de *Rhipidomys* (Mammalia: Rodentia) do leste do Brasil**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo. Brasil.
- COSTA, L.P. (2003). **The historical bridge between the Amazon and Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals**. *Journal of Biogeography*, 30: 71-86.
- DAWSON, M.R. (1967). **Fossil history of the families of recent mammals**. In: Anderson, S. e Jones Jr., J.K. (eds), *Recent Mammals of the world: a synopsis of families*. The Ronalds Press Company, New York, 12-53.
- ENGEL, S.R.; HOGAN, K.M. TAYLOR, J.F.; DAVIS, S.K. (1998). **Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents**. *Molecular Biology and Evolution*, 15: 35-49.
- FAGUNDES, V.; CHRISTOFF, A.U.; YONENAGA-YASSUDA, Y. (1998) **Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of smallest diploid number in rodents (2n=16, 15 and 14)**. *Hereditas*, 129: 263-274.
- GALETTI, P.M.J.; MOLINA, W.F.; AFFONSO, P.R.A.M.; AGUILAR, C.T. (2006). **Assessing genetic diversity of Brazilian reef fishes by chromosomal and DNA Markers**. *Genetica*, 126:161-177.
- GARDNER, A.L.; PATTON, J.L. (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.

- 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.
- GREENBAUM, R.F.; BAKER, R.J. (1978). **Determination of the primitive karyotype for *Peromyscus*.** Journal of Mammalogy, 59:820-834.
- IMAI, H.T.; BROWN-J., W. L.; KUBOTA, R.; M.; YONG, H.; THO, Y. P. (1983). **Chromosome observations on tropical ants from western Malaysia II.** Annual Republic of National Institute Genetics of Japan, 34: 66-69
- LEAL-MESQUITA, E.R.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y.; ROCHA, P.L.B. (1993). **Comparative cytogenetic studies of two karyomorphs of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae).** Genetics and Molecular Biology, 16:639-651.
- LIMA, J.F.S.; 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.
- LIMA-ROSA, C.A.V.; HUTZ, M.H.; OLIVEIRA, L.F.B.; ANDRADES-MIRANDA, J.; MATTEVI, M.S. (2000). **Heterologous Amplification of Microsatellite Loci from Mouse and Rat in Oryzomyine and Thomasomyine South American Rodents.** Biochemical Genetics, 38 (3-4): 97-108.
- MASCARELLO, J.T.; HSU, T.C. (1976). **Chromosome evolution in woodrats, genus *Neotoma* (Rodentia: Cricetidae).** Evolution, 30:152-169.
- MUSSER, GG; CARLETON, M.D. (2005). **Family Muridae. In: Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference.** 2ed, Smithsonian Institution, Washington/London.
- MYERS, P.; CARLETON, M.D. (1981). **The species of *Oryzomys* (*Oligoryzomys*) in Paraguay and the identity of Azara's "rat sixième ou rat à tarse noir".** Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan, 161:1-41.
- PARESQUE, R.; JESUS, M.J.; YONENAGA-YASSUDA, Y.; FAGUNDES, V. (2007). **Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil.** Genetics Molecular Biology, 30(1):43-53.
- PATTERNSON, B.; PASCUAL, R. (1968). **Evolution of mammals on southern continents. V. The fossil mammal fauna of South America.** The Quarterly Review of Biology, 43: 409-451.
- PATTERSON, B. (1972). **The fossil mammal fauna of South America.** In: Evolution Mammals and Southern continents. University of New York. Albany, 247-309.
- PATTON, J.L.; DA SILVA, M.N.F.; MALCOLM, R.J. (2000). **Mammals of Rio Juruá, Western Amazonian Brazil: Evolutionary and Ecological Diversification.** Bulletin American Museum Natural History, 244: 1-306.

- PATTON, J.L.; SHERWOOD, S.W. (1982). **Genome evolution in pocket gophers (Genus *Thomomys*). I. Heterochromatin variation and speciation potential.** *Chromosoma*, 85:149-162.
- PELLEGRINO, K.C., RODRIGUES, M.M.T., WAITE, A.N. MORANDO, M., YASSUDA, Y.Y., SITES, J.W. (1995). **Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest.** *Biological Journal of the Linnean Society* 85 (1): 13–26.
- PEREIRA, L.G.; GEISE, L. (2007). **Karyotype composition of some rodents and marsupials from Chapada Diamantina (Bahia Brasil).** *Brazilian Journal of Biology*, 67 (3): 509-518.
- QUMSIYEH, M.B. (1994). **Evolution of number and morphology of mammalian chromosomes.** *Journal Hereditas*, 85: 455-465.
- REIG, O.A. (1978). **Roedores cricetídeos del Plioceno Superior de la Provincia de Buenos Aires (Argentina).** *Museo Municipal de Ciencias Naturales Lorenzo Scaglia*, 1:1-161.
- REIG, O.A. (1984). **Distribuição geográfica e historia evolutiva dos roedores muroideos Sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae).** *Revista Brasileira de Genética*, 8(2): 333-365.
- REIG, A.O. (1986). **Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: High altitude tropical biogeography.** Universidade de Oxford, New York.
- SAVAGE, J.M. (1974). **The isthmian link and evolution of Neotropical mammals.** *Natural History Museum of Los Angeles County*, 260: 1-51.
- SEARLE, J.B. (1993). **Chromosomal hybrid zones in eutherian mammals.** In: Harrison, R. G. (ed.) *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*, pp. 507–532. Oxford University Press, Oxford.
- SHAHIN, A.A.B.; ATA, A.T.A. (2004). **C-banding karyotype and relationship of the dipodids *Allactaga* and *Jaculus* (Mammalia: Rodentia) in Egypt.** *Folia Biologica*, 52: 25-31.
- SILVA, M.J.J.; 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.
- SOUSA, M.A.N.S. (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 de mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- SOUZA, A.L.G.; CORREA, M.M.O.; OLIVEIRA, J.A.; PESSOA, L.M. (2008). **Estudo cariotípico da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.** Resumos do IV Congresso Brasileiro de Mastozoologia, São Lourenço-MG.

- SMITH, M.F.; PATTON, J.L., (1999). **Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome b.** Journal of Mammalian Evolution, 6(2): 89-128.
- SVARTMAN, M.; de ALMEIDA, E.J.C. (1993). **Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys sp.* (Cricetidae, Rodentia) from Brazil.** Caryologia, 46(2-3): 219-225.
- TRIBE, C.J. (1996). **The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision,** Dissertação de PhD. University College London, Londres.
- TRIBE, C.J. (2005). **A new species of *Rhipidomys* (Rodentia, Muroidea) from northeastern Brazil.** Arquivos do Museu Nacional, 63(1): 131-146.
- VOLOBOUEV, V.T.; CATZEFLIS, F.M. (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.
- WANG, J.X.; ZHAO, X.F.; KOH, H.S.; DENG, Y.; QI, H.Y. (2003). **Chromosomal polymorphisms due to heterocromatin growth and pericêntrica inversions in white-bellied rat, *Niviventer confucianus*, from China.** Hereditas, 138: 59-64.
- WILSON, J.W. (1984). **Chromosomal variation in pine voles, *Microtus (Pitymys) pinetorum*, in the eastern United States.** Canadian Journal of Genetics and Cytology, 26:496-498.
- ZANCHIN, N.I.T. (1988). **Estudos cromossômicos em *Orizomínos* e *Equimídeos* da Mata Atlântica.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.
- ZANCHIN, N.I.T.; LANGGUTH, A.; MATTEVI, M.S. (1992). **Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae).** Journal of Mammalogy, 73(1): 120-122.

ANEXO

Figuras, tabelas e lista de localidades

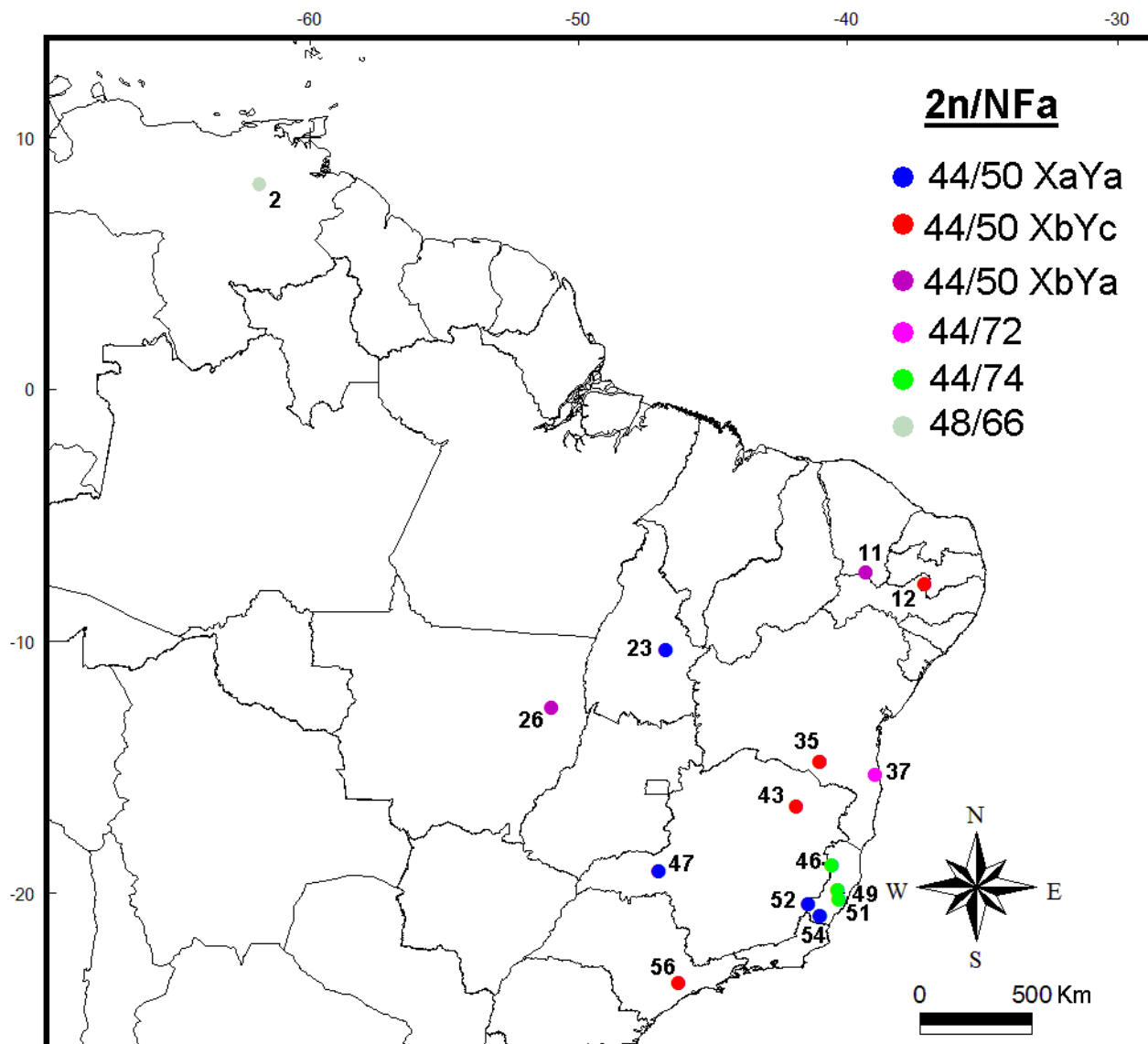
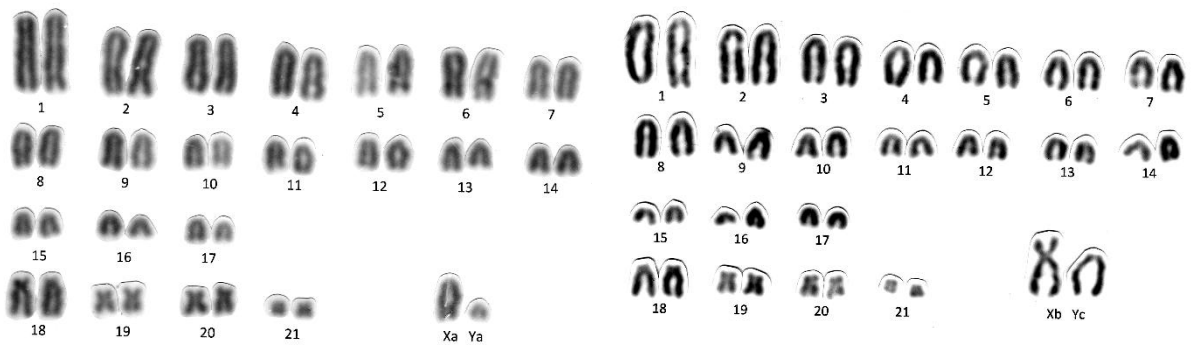
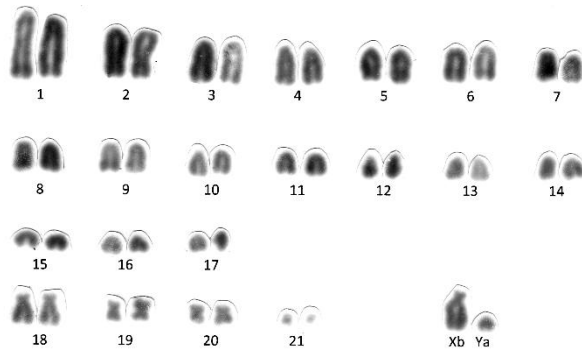


Figura 1 – Localidades e cariótipos amostrados no presente trabalho. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.



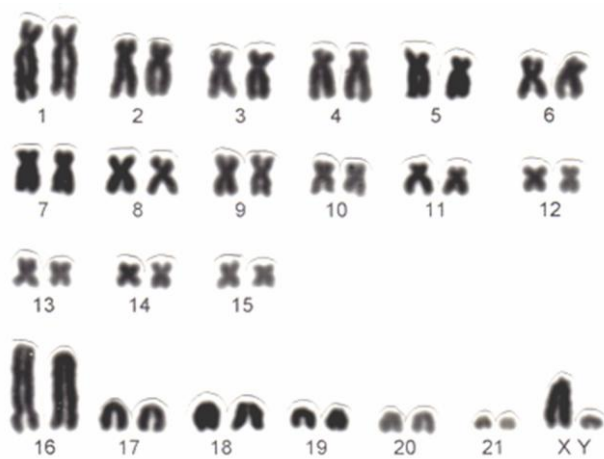
A

B

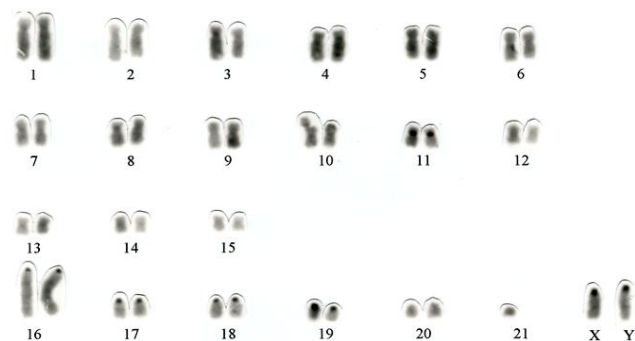


C

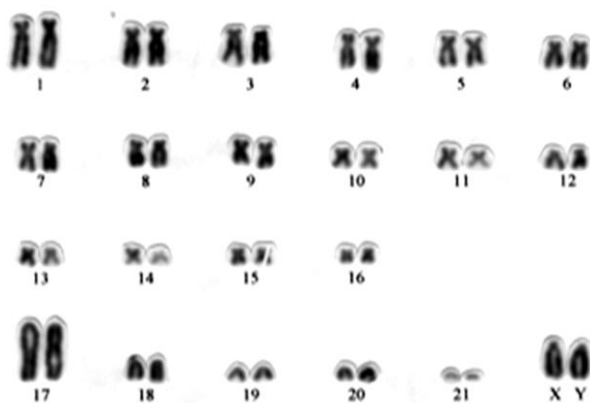
Figura 2 – **A)** Cariótipo em coloração comum de um macho de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 9), proveniente de Muqui no Espírito Santo. **B)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYc (Citótipo 10), proveniente de Cotia em São Paulo. **C)** Cariótipo em coloração comum de *Rhipidomys* com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa (Citótipo 11), proveniente de Andaraí na Bahia.



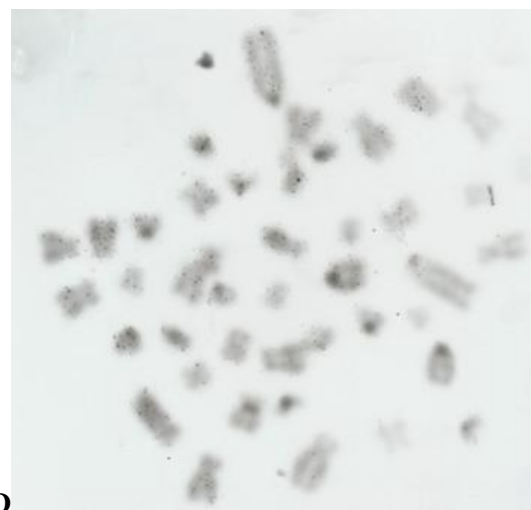
A



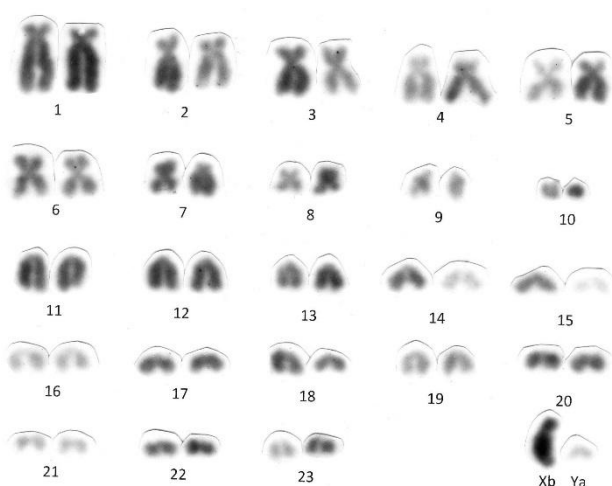
B



C



D



E

Figura 3 – **A)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=72$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 4), proveniente de Una na Bahia. **B)** Cariótipo em Banda C de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=72$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 4), proveniente de Uma na Bahia. **C)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=74$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 3), proveniente de Cariacica no Espírito Santo. **D)** Cariótipo em Banda C de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=44$ e $NFa=74$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 3), proveniente de Cariacica no Espírito Santo. **E)** Cariótipo em coloração comum de uma fêmea de *Rhipidomys* com o $2n=48$ e $NFa=66$ com par sexual do tipo XaYa (Citótipo 17), proveniente de Bolivar na Venezuela.

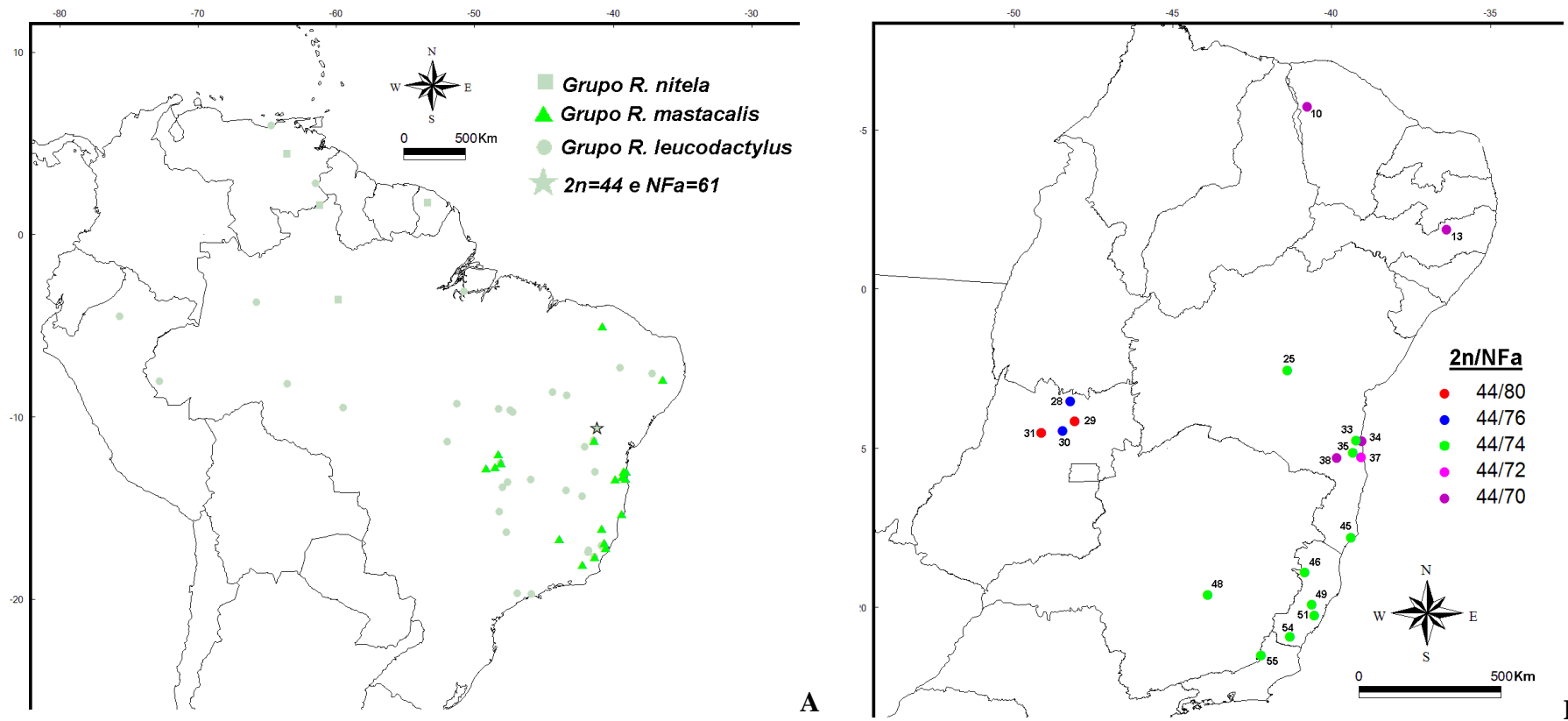


Figura 4 – **A)** Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys mastacalis*. **B)** Realce das populações do grupo *Rhipidomys mastacalis*. 2n-número diplóide; NFa- número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.

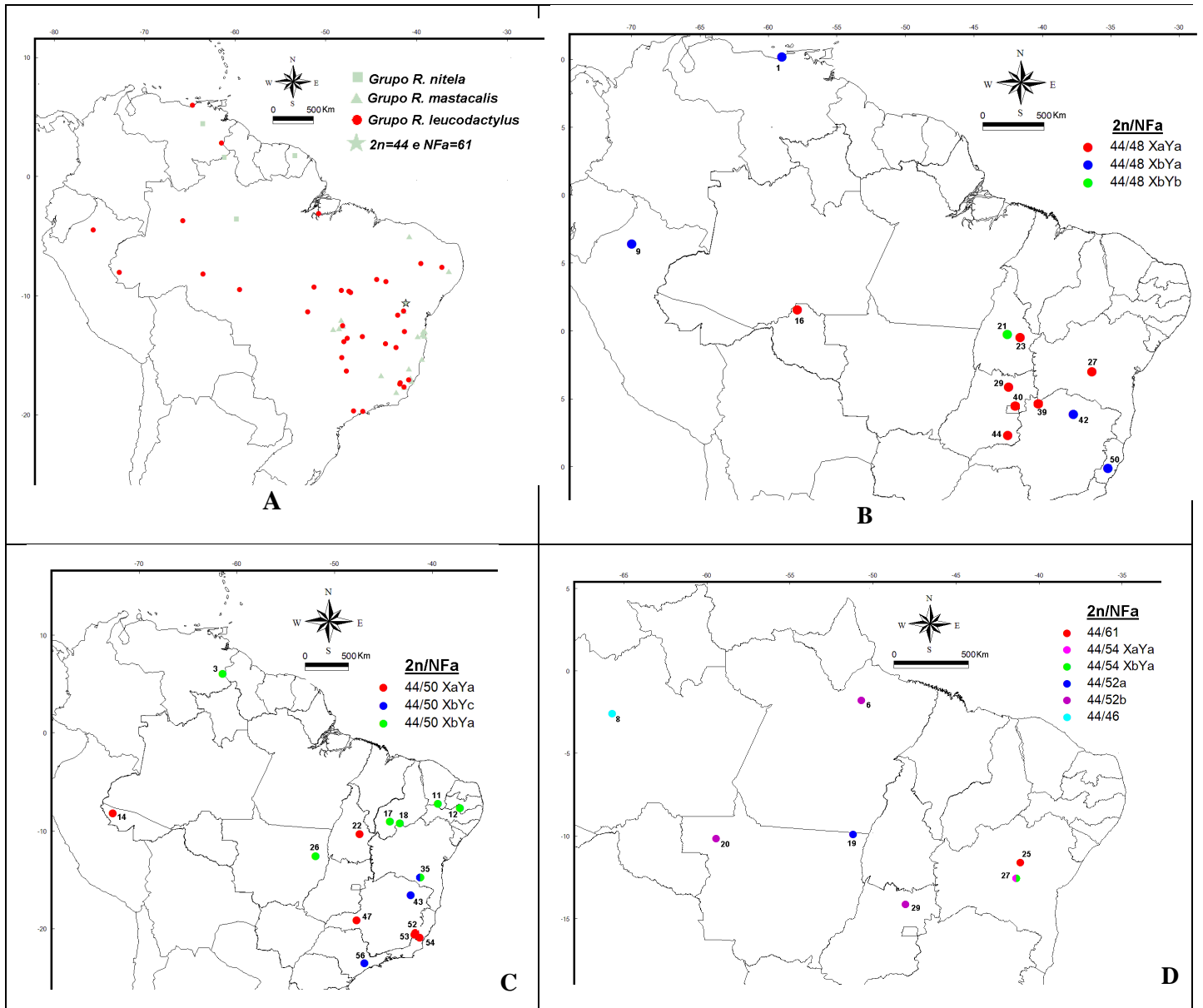


Figura 5 – A) Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys leucodactylus*. B) Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=48$. C) Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=50$. D) Localidades de ocorrência de espécimes com cariótipo $2n=44$ e $NFa=46, 52, 54$ e 61 . $2n$ =número diplóide; NFa = número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.

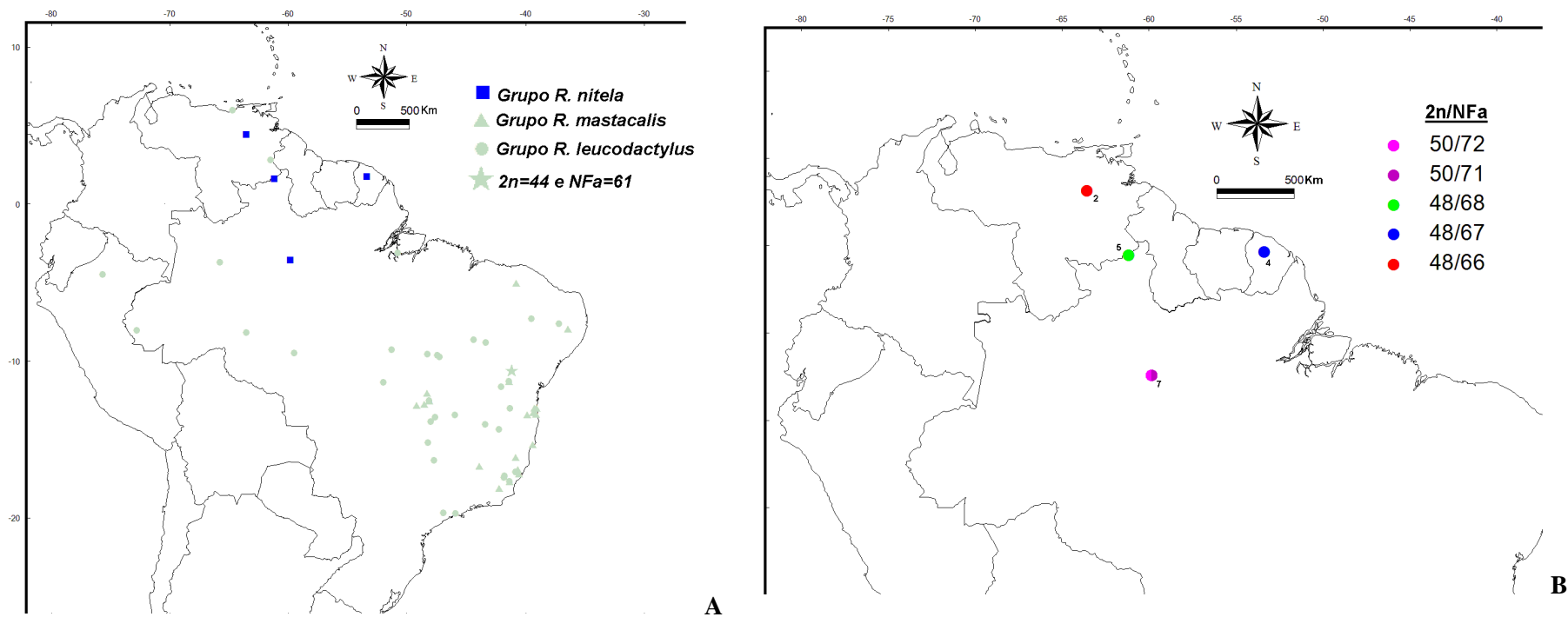


Figura 6 –A) Mapa com os pontos de ocorrência dos grupos de *Rhipidomys*, pontos destacados mostram populações do grupo *Rhipidomys nitela*. B) Localidades de ocorrência do grupo *Rhipidomys nitela*. 2n= número diplóide; NFa= número de braços autossômicos. Os números correspondem as localidades numeradas no apêndice.

Tabela 1 – Cariótipos, localidades e número de exemplares de *Rhipidomys* analisados.

País	2n	NFa	M/SM ¹	A ¹	Par sexual ²		Município	No. exemplares	
					Fêmea	Macho		Fêmea	Macho
Brasil	44	50	4	17	-	XaYa	Jalapão, TO	-	1
					XaXa	XaYa	Nova Ponte, MG	1	1
					-	XaYa	Muqui, ES	-	1
					XaXa	-	Ibitirama, ES	2	-
	44	50	4	17	XbXb	-	Buíque, PE	1	-
					XbXb	-	Coronel Murta, MG	1	-
					-	XbYc	Andaraí, BA	-	1
					XbXb	XbYc	Cotia, SP	2	1
	44	50	4	17	XbXb	XbYa	Ribeirão Cascalheiras, MG	5	1
					XbXb	XbYa	Andaraí, BA	1	1
					XbXb	XbYa	Crato, CE	1	1
					XaXb	-		1	-
	44	72	15	6	XaXa	XaYa	Una, BA	7	6
	44	74	16	5	-	XaYa	Águia Branca, ES	-	2
					-	XaYa	Jacutinga, ES	-	1
					XaXa	XaYa	Muqui, ES	2	1
					XaXa	XaYa	Cariacica, ES	6	6
					XaXb	-		1	-
					XcXc	XcYa		San Ignacio, Bolivar	2
	Total parcial								33
Total final								57	

2n= número diplóide; NFa= número de braços autossômicos; 1- quantidade de pares metacêntricos (M), submetacêntricos (SM) e acrocêntricos (A); 2- composição do par sexual nas fêmeas e nos machos; Xa- acrocêntrico médio; Xb- submetacêntrico médio; Xc- submetacêntrico de médio a grande; Ya- acrocêntrico pequeno; Yc- acrocêntrico médio.

Tabela 2 – Compilação dos dados da literatura

Grupo	Citótipo	2N	NA	M/SM	A	X	Y	Localidade	Referido pelo autor Original	Referências
<i>R. mastacalis</i>	Sousa, 2005	44	80	38	4	Xa	Ya	Brasil, GO, Colinas do Sul	<i>R. mastacalis cit1</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, GO, Uruaçu	<i>R. mastacalis cit1</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
	Citótipo 2	44	76	34	8	Xa	Ya	Brasil, GO, Niquelândia	<i>R. mastacalis cit2</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, GO, Colinas do Sul	<i>R. mastacalis cit2</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, GO, Minaçu	<i>R. mastacalis cit2</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, GO, Uruaçu	<i>R. mastacalis cit2</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, BA, Chapada Diamantina	<i>R. mastacalis</i>	Souza <i>et al.</i> , 2008
	Citótipo 3	44	74	32	10	Xa	Ya	Brasil, ES, Águia Branca	<i>R. mastacalis</i>	Presente Trabalho
								Brasil, ES, Cariacica	<i>R. mastacalis</i>	Presente trabalho
								Brasil, ES, Jacutinga, Região do Alto Misterioso	-	Presente trabalho
								Brasil, BA, Una, Fazenda Unacau	<i>R. mastacalis</i> *	Zanchin <i>et al.</i> , 1992L
								Brasil, RJ, Cabo Frio, Casimiro de Abreu	<i>R. mastacalis</i> *	Geise, 1995
								Brasil, BA, Ilhéus	<i>R. mastacalis</i>	Geise, comunicação pessoal
								Brasil, BA, Nova Viçosa	<i>R. mastacalis</i>	Geise, comunicação pessoal
	Citótipo 4	44	72	30	12	Xa	Ya	Brasil, MG, Lagoa Santa ²	<i>R. mastacalis</i> *	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
								Brasil, ES, Cariacica	<i>R. mastacalis</i>	Presente trabalho
	Citótipo 5	44	70	28	14	Xb	Yc	Brasil, BA, Una	-	Presente trabalho
								Brasil, BA, Jussari, RPPN Serra do Teimoso	<i>R. mastacalis</i>	Sousa, 2005
							Brasil, BA, Ilhéus, Centro Experimental Almada			

Grupo	Citótipo	2N	NA	M/SM	A	X	Y	Localidade	Referido pelo autor Original	Referências
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	Citótipo 5	44	70	28	14	Xb	Yc	Brasil, CE, Ipú, Serra de Ibiapaba	<i>R. mastacalis</i>	Sousa, 2005
								Brasil, PE, Brejo da Madre de Deus	<i>R. mastacalis</i>	Sousa, 2005
	Citótipo 6	44	54	12	30	ND	ND	Brasil, BA, Chapada Diamantina	<i>Rhipidomyssp</i>	Souza <i>et al.</i> , 2008
	Citótipo 7	44	52	10	32	Xa	Ya	Brasil, MT, Vila Rica	<i>Rhipidomys sp</i> ***	Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999
	Citótipo 8	44	52	10	32	Xa	Ya	Brasil, MT, Aripuaña	<i>R. leucodactylus</i> ***	Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999
Brasil, PA, Melgaço, Caxiuanã								<i>R. leucodactylus</i> cit1	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002	
Brasil, GO, Colinas do Sul								<i>R. leucodactylu</i> cit1	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002	
Brasil, ES, Domingos Martins, Monte Verde								<i>R. cf. macrurus</i> **	Zanchin <i>et al.</i> , 1992	
Brasil, MG, Nova Ponte, Mata do Vasco								<i>R. macrurus</i> ***	Presente trabalho	
	Citótipo 9	44	50	8	34	Xa	Ya	Brasil, Porto Walter, AC	<i>R. gardneri</i>	Patton <i>et al.</i> , 2000
Brasil, TO, Jalapão								-	Presente trabalho	
Brasil, ES, Muqui								-	Presente trabalho	
Brasil, ES, Ibitirama								<i>R. macrurus</i> ***	Presente trabalho	
Brasil, SP, Cotia								-	Presente trabalho	
	Citótipo 10	44	50	8	34	Xb	Yc	Brasil, MG, Coronel Murta	<i>Rhipidomys sp3</i> ***	Presente trabalho
Brasil, BA, Andaraí								<i>Rhipidomys sp3</i> ***	Presente trabalho	
Brasil, MT, Ribeirão Cascalheiras								<i>Rhipidomys sp</i> ***	Presente trabalho	
Brasil, BA, Andaraí								<i>Rhipidomys sp3</i> ***	Presente trabalho	
Brasil, PE, Buique								-	Presente trabalho	
	Citótipo 11	44	50	8	34	Xb	Ya	Brasil, PI, Bom Jesus, Estação Ecológica Uruçuí-Una	<i>R. macrurus</i>	Sousa, 2005
Brasil, PI, Caracol, PARNA Serra das Confusões								<i>R. macrurus</i>	Sousa, 2005	
Venezuela, Bolivar, La Escalera								<i>R. macconnelli</i>	Aguilera <i>et al.</i> , 1994	
Brasil, CE, Crato								<i>R. cariri cariri</i> ***	Presente trabalho	

Grupo	Citótipo	2N	NA	M/SM	A	X	Y	Localidade	Referido pelo autor Original	Referências
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	Citótipo 12	44	49			Xb	-	Brasil, SP, Salesópolis, Casa Grande	<i>Rhipidomys sp2</i> ***	Svartman & Almeida, 1993
						Xa	Ya	Brasil, GO, Brasília, Granja do Ipê	<i>R. macrurus</i> **	Svartman & Almeida, 1993
	Citótipo 13	44	48	6	36	Xa	Ya	Brasil, GO, Ipameri/Caldas Novas/Corumbaíba	<i>R. leucodactylus</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
								Brasil, RO, Candeias do Jamari, Rio Jamari	<i>R. leucodactylus</i> *	Zanchin <i>et al.</i> , 1992
								Brasil, BA, Lençóis, Remanso	<i>R. macrurus</i>	Pereira & Geise, 2007
								Brasil, SP, Águas Emendadas	<i>Rhipidomys sp</i>	Svartman & Almeida, 1993
								Brasil, MG, Formoso, PN Grande Sertão Veredas	-	Presente trabalho
								Brasil, TO, Ponte Alta do Tocantins, EE Serra Geral do Tocantins	-	Presente trabalho
								Brasil, RJ, Magé, Garrafão	<i>Rhipidomys sp2</i> ***	Geise, 1995
								Brasil, MG, Matias Cardoso, Mocambinho	<i>Rhipidomys sp3</i> ***	Correa & Pessoa, 1996
	Citótipo 14	44	48	6	36	Xb	Ya	Venezuela, Anzoátegui, Cueva Del Agua	<i>R. leucodactylus</i> ⁴	Aguilera <i>et al.</i> , 1994
								Colômbia, Valle, Peñas Blancas	<i>R. latimanus</i> *	Gardner & Patton, 1976
	Citótipo 15	44	48	6	36	Xb	Yb	Brasil, TO	<i>R. macrurus</i>	Lima & Kasahara, 2003
	Citótipo 16	44	46	4	38	Xa	Ya	Brasil, AM, Rio Juruá	<i>R. leucodactylus</i> *	Patton <i>et al.</i> , 2000
<i>Rhipidomys nitela</i>	Citótipo 17	48	66 ⁶	20	26	Xb	Ya	Venezuela, Bolívar, San Ignacio	<i>R. nitela</i> *	Tribe, 1996
	Citótipo 18	48	67	21	25	Xb	ND	Guiana Francesa	<i>R. nitela</i>	Volobouev & Catzeflis, 2000
	Citótipo 19	48	68	22	24	Xb	Ya	Brasil, RR, Surumú	<i>R. nitela</i>	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2002
	Citótipo 20	50	71	23	25	Xc	Yb	Brasil, AM, Manaus	<i>R. cf nitela</i> **	Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999
	Citótipo 21	50	72	24	24	Xc	Yc	Brasil, AM, Manaus	<i>R. cf nitela</i> **	Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999
Híbrido	Citótipo 22	44	61	-	-	Xa/ Xb	ND	Brasil, BA, Morro do Chapéu	<i>Rhipidomys SPA</i>	Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999

2n= número diplóide; NFA= número de braços autossômicos; 1- quantidade de pares metacêntricos (M), submetacêntricos (SM) e acrocêntricos (A); 2- composição do par sexual nas fêmeas e nos machos; Xa- acrocêntrico médio; Xb- submetacêntrico médio; Xc- submetacêntrico de médio a grande; Ya- acrocêntrico pequeno; Yc- acrocêntrico médio. ²Localidade tipo de *R. mastacalis* Lund, 1839. ³Classificado como *R. cearanus* por Zanchin *et al.* (1992) mas Musser & Carleton (2003) classificaram *cearanus* como sinonímia de *R. mastacalis*. ⁴Primeiramente classificado como *R. sclateri*, porém com a compilação de Musser & Carleton (2005) esta espécie se tornou sinonímia de *R. leucodactylus*. ⁵Cariótipo com nove pares heteromórficos. ⁶Cariótipo descrito por Tribe (1996) como 2n=48 e NFA=67, mas reorganizado no presente estudo. *Revisado por Tribe (1996) e como a mesma identificação do autor original; **Resivado por Tribe com identificação distinta do autor original; ***Revisado e identificado por Costa (2007).

Tabela 3 – Variação dos cromossomos no grupo *Rhipidomys mastacalis*.

Cariótipo	Par cromossômico				
	16*	17*	21*	21**	22**
2n=44, NFa=70	A	A	A	A	A
2n=44, NFa=72	SM	A	A	A	A
2n=44, NFa=74	SM	SM	A	A	A
2n=44, NFa=76	SM	SM	SM	A	A
2n=44, NFa=80	SM	SM	SM	SM	SM

SM= submetacêntrico, A=acrocêntrico; *numero de referência do cariótipo com NFa=70; **numero de referência do cariótipo com NFa=76

Lista de localidades: PAÍS: **Estado:** número da **localidade.** Município, localidades, localidade mais específica quando houver (referência) [dado gerado no presente trabalho]

VENEZUELA: **Anzoátegui:** 1. Cueva del Agua. **Bolivar:** 2. San Ignacio (Tribe, 1996); 3. La Escalera (Aguilera *et al.*, 1994). GUIANA FRANCESA: 4. Guiana Francesa (Volobouev & Catzeflis, 2000). COLÔMBIA: **Valle:** 9. Peñas Blancas (Gardner & Patton, 1976). BRASIL: **Roraima:** 5. Pacaraima, Surumú (Andrades-Miranda *et al.*, 2002). **Pará:** 6. Melgaço, Caxiuanã. **Amazonas:** 7. Manaus (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999); 8. Rio Juruá (Patton *et al.*, 2000). **Ceará:** 10. Ipu, Serra de Ibiapaba (Sousa, 2005); 11. Crato, Chapada do Araripe [LPC267; LPC274; LPC291]. **Pernambuco:** 12. Buique, PARNA Catimbau [LEM22]. 13. Brejo da Madre de Deus (Sousa, 2005). **Acre:** 14. Porto Walter (Patton *et al.*, 2000). **Rondônia:** 16. Candeias do Jamari, Rio Jamari (Zanchin *et al.*, 1992). **Piauí:** 17. Bom Jesus, Estação Ecológica Uruçuí-Una (Sousa, 2005); 18. Caracol, PARNA Serra das Confusões (Sousa, 2005). **Mato Grosso:** 19. Vila Rica (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999); 20. Aripuaña (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999); 26. Ribeirão Cascalheiras, Fazenda Noruimbá. **Tocantins:** 21. Tocantins (Lima & Kasahara, 2003); 22. Lagoa do Toca, Jalapão [APC]; 23. Ponte Alta do Tocantins, EE Serra Geral do Tocantins [LGA923]. **Bahia:** 24. Morro do Chapéu (Silva & Yonenaga-Yassuda, 1999); 25. Chapada Diamantina (Souza *et al.*, 2008); 27. Lençóis, Remanso (Pereira & Geise, 2007); 33. Ilhéus (Geise, comunicação pessoal); 34. Ilhéus, Centro Experimental Almada (Sousa, 2005); 35. Andaraí, Fazenda Santa Rita [LPC203; LPC204; LPC208]; 36. Una, Fazenda Unacau (Zanchin *et al.*, 1992); 37. Uma [CIT802; CIT803; CIT805; CIT849; CIT850; CIT871; CIT874; CIT877; CIT900; CIT909; CIT918; RM94; RM96]; 38. Jussari, RPPN Serra do Teimoso (Sousa, 2005); 45. Nova Viçosa. **Goiás:** 28. Minaçu (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 29. Colinas do Sul, Serra da Mesa (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 30. Niquelândia (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 32. Uruaçu (Andrades-Miranda *et al.*, 2002); 44. Ipameri/Caldas Novas/Corumbáiba (Andrades-Miranda *et al.*, 2002). **Minas Gerais:** 39. Formoso, PN Grande Sertão Veredas [LGA463]; 42. Matias Cardoso, Mociminho (Correa & Pessoa, 1996); 43. Coronel Murta, Ponte do Colatino; 47. Nova Ponte, Mata do Vasco; 48. Lagoa Santa (Zanchin *et al.*, 1992). **Brasília:** 40. Águas Emendadas (Svartman & Almeida, 1996); 41. Granja do Ipê (Svartman & Almeida, 1996). **Espírito Santo:** 46. Águia Branca [YL433; YL435]; 49. Jacutinga, Região do Alto Misterioso; 51. Cariacica, ReBio Duas Bocas [LGA329; LPC1049; LPC1051; LPC1052; LPC1053; LPC1054; LPC1055; LPC1067; LPC1076; LPC1083; LPC1084; LPC1150]; 52. Ibitirama, PARNA Caparaó [LGA1202; LGA1205]; 53. Domingos Martins, Monte Verde (Zanchin *et al.*, 1992); 54. Muqui, Fazenda Recanto. **Rio de Janeiro:** 50. Guapimirim, Garrafão (Geise, 1995); 55. Cabo Frio, Casimiro de Abreu (Geise, 1995). **São Paulo:** 56. Cotia, Reserva do Morro Grande; 57. Salesópolis, Casa Grande (Svartman & Almeida, 1996).

CAPÍTULO II

Correlação entre estrutura cariotípica e filogenia molecular em *Rhipidomys* (Cricetidae, Rodentia) do leste do Brasil

Resumo

Membros do gênero *Rhipidomys* Tschudi, 1845 (Cricetidae, Sigmodontinae) são roedores arborícolas, noturnos e solitários; e estão distribuídos do leste do Panamá, Guianas, Venezuela, Colômbia, Equador e Peru até sudeste da Bolívia, noroeste da Argentina e norte, centro e leste do Brasil.

Estudos citogenéticos revelaram uma alta variabilidade cariotípica no gênero, com três números diplóides $2n=44$, 48 e 50, e variação dos cromossomos sexuais e do número de braços autossômicos (NFa), totalizando 22 citótipos distintos. Foi sugerido que esses cariótipos poderiam ser divididos e três grupos de acordo com o $2n$ e NFa, grupo *R. nitela* composto pelos animais com o $2n=48/50$; grupo *R. leucodactylus* com $2n=44$ e NFa baixo que varia de 46 a 52; e grupo *R. mastacalis* $2n=44$ e NFa alto variando de 74 a 80. Essa distinção foi reforçada pela existência de alelos exclusivos em alguns desses grupos. Apesar de estudos moleculares começarem a sugerir como os cariótipos de *Rhipidomys* estão estruturados filogeneticamente, trabalhos que associem dados cariotípicos à caracterização molecular das populações são inexistentes em *Rhipidomys*. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi propor uma hipótese filogenética para as formas do leste do Brasil; contribuir para o entendimento da diversidade molecular no gênero; verificar se cariótipos distintos estão correlacionados a clados monofiléticos e testar a hipótese dos agrupamentos de espécies baseados nos cariótipos. Neste estudo diagnosticamos seis espécies de *Rhipidomyse* dois novos táxons para o leste do Brasil. Encontramos indícios de que uma barreira vicariante na Mata Atlântica é marcada pelo rio Jequitinhonha e não pelo rio Doce, como sugerido em muitos trabalhos. Os nossos resultados indicaram ainda a importância da Serra da Mantiqueira para a diversificação dos táxons de *Rhipidomys* responsável por dividir dois clados na Mata Atlântica. Revelamos que o grupo com NFa alto é monofilético (grupo *R. mastacalis*), enquanto o grupo com NFa baixo (grupo *R. leucodactylus*) é polifilético e parafilético, fato esse que vai de encontro com a hipótese dos agrupamentos cariotípicos. Identificamos uma tendência do aumento no número de braços autossômicos na diversificação cariotípica do gênero, encontrando-se as formas cariotípicas mais derivadas as mais distantes do provável ponto de origem do gênero na América do Sul.

I. Introdução

O gênero *Rhipidomys* Tshudi, 1845 pertencente à tribo Thomasomyini (Steadman & Ray 1982) contempla roedores com hábitos arborícolas, noturnos e solitários. São de pequeno porte, o peso varia de 35 a 170 gramas, caracterizados por uma combinação de vibrissas longas, tufo ou pincel na extremidade distal da cauda e pelagem escura presente no dorso de suas patas dianteiras (Tribe, 1996; Emmons & Feer, 1997). Sua distribuição é ampla abrangendo desde o leste do Panamá, atravessando a América do Sul, até o norte da Argentina. No Brasil são registrados em todos os biomas.

Na revisão do gênero baseada em dados morfológicos, Tribe (1996) reconheceu 18 espécies para o gênero *Rhipidomys*, sendo quatro delas novas, duas com distribuição restrita ao Brasil, uma fóssil (*Rhipidomys cf couesi*) e outra ainda incerta (*Rhipidomys cf macrurus*). Uma das duas espécies novas com ocorrência no Brasil foi descrita recentemente ocorrendo nos enclaves méxicos da caatinga e engloba duas subespécies, *Rhipidomys cariri cariri* e *Rhipidomys cariri baturitensis* (Tribe *et al.* 2005).

Estudos citogenéticos revelaram uma alta variabilidade cariotípica no gênero, com três números diplóides $2n=44$, 48 e 50, e variação dos cromossomos sexuais e do número de braços autossômicos (NFa), totalizando 22 citótipos distintos (presente estudo, capítulo 1). Os cariótipos com $2n=44$ retêm a maior parte da variação cariotípica do gênero com 13 citótipos distintos (NFa=46, 48, 49, 50, 52, 54, 61, 70, 72, 74, 76 e 80); o cariótipo com $2n=48$ possui três citótipos distintos (NFa=66, 67 e 68), enquanto que o $2n=50$ apresenta dois citótipos diferentes (NFa=70 e 71).

Andrades-Miranda *et al.* (2002) utilizando dados citogenéticos e variabilidade de microsatélite propuseram que *Rhipidomys* poderia ser dividido em três grupos: grupo *R. nitela* composto pelos animais com o $2n=48/50$; grupo *R. leucodactylus* com $2n=44$ e NFa baixo que varia de 46 a 52; e grupo *R. mastacalis* $2n=44$ e NFa alto variando de 74 a 80. Essa distinção foi reforçada pela existência de alelos exclusivos em alguns desses grupos (Lima-Rosa *et al.*, 2000; Andrades-Miranda *et al.*, 2002).

Costa (2003) inferiu relações filogeográficas usando dados de sequências do gene mitocondrial citocromo b entre cinco espécies do gênero, e identificou uma alta diversidade gênica entre os clados geográficos e a existência de pelo menos dois clados distintos no leste do Brasil, ao norte e ao sul da Mata Atlântica. A autora sugeriu que os clados não representam grupos-irmãos, visto que o grupo do norte é grupo irmão com espécimes de Cerrado e o clado Sul é grupo-irmão dos espécimes da Amazônia; e ainda indicou a existência de um novo táxon no sudeste brasileiro.

Costa (2007) utilizando uma abordagem multidisciplinar associou dados moleculares de sequências do gene mitocondrial citocromo b, dados morfológicos e morfométricos visando

identificar, diagnosticar e delimitar geograficamente os táxons de *Rhipidomys* do leste do Brasil. Como resultado sugeriu três novas espécies à lista de Tribe (1996).

Apesar dos dados da literatura sugerirem que o cariótipo seja uma boa ferramenta para auxiliar na caracterização de espécies de *Rhipidomys*, os trabalhos disponíveis não compararam a estrutura cariotípica com a história evolutiva do gênero, e não fornecem bases para afirmar se o cariótipo desempenha um papel importante na separação de populações/espécies.

Existem artigos que apresentam discussões a respeito da utilização das informações cariotípicas na realização de inferências filogenéticas e do papel das mudanças cromossômicas nos processos de especiação (Sites & Moritz, 1987; Kluge, 1994; King, 1994; Sites & Reed, 1994). Há também estudos filogenéticos, populacionais e de delimitação de espécies usando dados cromossômicos aliados a dados morfológicos e de sequências de genes nucleares e mitocondriais realizado em lagartos (Flores-Villela *et al.* 2000; Bosch *et al.*, 2003; Pellegrino *et al.*, 2005) e roedores (Salazar-Bravo *et al.*, 2001; Catanesi *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2007). Em conjunto, esses trabalhos sugerem que o cariótipo seja uma valiosa informação, que aliada a dados filogeográficos, contribuem para a resolução de questões taxonômicas e sistemáticas.

Diante disso, o presente estudo pretende propor uma hipótese filogenética para as formas do leste do Brasil; contribuir para o entendimento da diversidade molecular no gênero; verificar se cariótipos distintos estão correlacionados a clados monofiléticos; e testar a validade dos agrupamentos em *Rhipidomys* propostos por Andrades-Miranda *et al.* (2002).

II. Material e Métodos

II.1. Amostra

Foram usadas amostras de tecidos (fígado ou músculo) de 48 espécimes de *Rhipidomys* com cariótipos previamente descritos, e 22 espécimes não cariotipados, totalizando 70 espécimes de 23 localidades do Brasil (Figura 1, Tabela 1).

Os códigos das amostras correspondem aos códigos dos coletores: Leonora P. Costa (LP e LPC), Valéria Fagundes (LGA e VF), Yuri L. R. Leite (YL), Ana Paula Carmignotto (APC), Bárbara M. A. Costa (BAC), Daniela M. Rossoni mais (DMR), Gabriel Marroig (LEM), Juliana Bragança (NSTO e PCH1), Lena Geise (FS, FU, HGB, IG, LG, LGP, PSP), Margarete S. Mattevi (EEB, FO, MAS), Raquel Moura (RM), Renata Pardini (AB, B), Yatiyo Yonenaga-Yassuda (CIT, MRT).

Os exemplares LGA, YL e LPC foram identificados por Bárbara M. A. Costa. Os demais espécimes foram identificados pelos coletores.

Para as análises filogenéticas, a sequência do roedor *Akodon montensis* retirada do Genbank foi usada para polarização das análises, como grupo externo.

II.2. Dados citogenéticos

Para a caracterização dos cariótipos utilizamos dados de número diplóide (2n), número de braços autossômicos (NFa) e morfologia dos cromossomos sexuais. Dados citogenéticos foram obtidos de Thomazini (2009, capítulo 1 do presente estudo), Geise (1995), Silva & Yonenaga-Yassuda (2003), Souza (2005) ou comunicação pessoal (Tabela 1).

II.3. Dados moleculares

Extração de DNA, amplificação do DNA e sequenciamento

Amostras de tecido (fígado e músculo) foram submetidas ao protocolo de extração de DNA total (SDS/NaCl/Proteinase K) segundo Brufford *et al.* (1992). O gene mitocondrial *Citocromo Oxidase I* (COI) foi amplificado através da clonagem *in vitro* pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se os *primers* COI-5285F e COI-6929R descritos por Spradling *et al.* (2004). Os produtos de PCR foram purificados com o Kit de Purificação de PCR (Invitrogen, Inc.), quantificados utilizando o espectrofotômetro NanoDrop ND1000 (Thermo Scientific), e sequenciados utilizando-se os *primers* COI-5285F e COI-6929R em um sequenciador automático ABI 377 (Applied Biosystems).

Análise das sequências

O programa MEGA (Tamura *et al.*, 2007) foi utilizado para alinhar as sequências de DNA. O alinhamento das sequências foi realizado manualmente, concomitante à correção das sequências no programa MEGA (Tamura *et al.*, 2007). A análise de similaridade com o gene COI foi realizada no GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando a ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

Análises dos dados

A composição nucleotídica e a divergência genética usando o modelo evolutivo K2P foram calculadas o programa MEGA 4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

O teste de saturação foi realizado para os segundo e terceiro códons separadamente e para os três códons juntos. Foram gerados os gráficos de transição versus transversão com o modelo evolutivo TN93, assim como o teste de Xia (Xia *et al.*, 2003), usando o programa DAMBE 5.0.23 (Xia & Xie, 2001).

Para identificar os haplótipos, calcular a diversidade haplotípica (Hd) e nucleotídica (Pi) foi usado o programa DNAsp 4.50.3 (Rozas *et al.*, 2003).

O modelo de substituição com a distribuição gama e o número de sítios invariáveis (GTR+G+I) para as reconstruções filogenéticas foram estimados com MODELTEST 3.06 (Posada & Crandall, 1998). Para a construção das hipóteses filogenéticas foram utilizadas as análises de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV) e Análise Bayesiana (AB). A MP foi inferida no programa PAUP 4.0.10 (Swofford, 2002). Todos os caracteres receberam o mesmo peso, e a busca heurística foi implementada com 10.000 replicações randômicas a partir de uma árvore de Neighbor-Joining (NJ). A MV foi inferida pelo programa PHYML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003) e a AB pelo MrBAYES 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2003), utilizando o servidor online Phylogeny.fr (<http://phylogeny.fr>; Dereeper *et al.*, 2008). A robustez dos clados foi acessada por porcentagens de bootstrap (BT) depois de 10.000 pseudoreplicações com 10 adições randômicas para MP usando o PAUP 4.0.10 (Swofford, 2002); e 500 pseudoreplicações para o MV usando o PHYML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003). A probabilidade posterior da análise Bayesiana (PPB) foi calculada através de árvores que foram amostradas a cada 100 gerações, depois de remover as 5.000 gerações iniciais.

Foram construídas redes de haplótipos pelo algoritmo median-joining (Bandelt *et al.*, 1999) com o programa NETWORK 4.1 (Rohl, 2000), e pela parcimônia estatística do programa TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000), para verificar a relações hierárquicas entre os haplótipos.

III. Resultados

III.1. Composição de bases e variação das sequências

A reação em cadeia da polimerase gerou somente um produto com o tamanho esperado (~1300 pb). O alinhamento das sequências do gene COI de 70 indivíduos resultaram em 1062 pb, correspondendo a 352 aminoácidos. A tradução da sequência de nucleotídeos não mostrou nenhum códon de parada inesperado. Os 1062 pb contêm 765 sítios constantes e 237 sítios polimórficos (277 mutações) dos quais 195 sítios são informativos para parcimônia. Dos 237 sítios polimórficos, 40 ocorreram na primeira posição, 99 na segunda posição e 98 na terceira posição. A média da composição das bases em todos os táxons foi T: 29,74%, A: 28,24%, C: 25,94% e G: 16,07%. O tipo de substituição mais comum foi transição com frequência de C para T com 31,82%, T para C com 28,31%, G para A com 14,97%, e A para G com 8,36% (Tabela 2).

No teste de Xia indicou pouca saturação para topologias simétricas e assimétricas em todas as posições. Os gráficos das taxas de transição versus transversão em cada posição do códon mostraram baixos níveis de saturação, somente na terceira posição do códon.

III.2. Diversidade haplotípica

A diversidade haplotípica geral (H_d) e a diversidade nucleotídica (P_i) foram altas ($H_d=0,9871$ e $P_i=0,06604$). Dos 55 haplótipos, 51 foram específicos de cada população analisada e somente quatro foram compartilhados: haplótipo 8 (H8) entre as populações de Ribeirão Cascalheiras e Vila Rica, ambas no Mato Grosso; o H16 e o H18 entre Ilhéus e Una, ambas na Bahia; e o H36 entre Jacutinga e Cariacica, ambas as localidades no Espírito Santo (Tabela 1).

III.3. Análises filogenéticas

As árvores de MP, MV e AB mostraram topologias congruentes, apresentando *Rhipidomys* com quatro linhagens monofiléticas distintas (Figura 1).

Os clados correspondem a arranjos biogeográficos de distribuição dos táxons por biomas. A Mata Atlântica apresentou dois clados, um clado ao sul (Clado Atlântico-Sul) ocorrendo do sul de São Paulo até o extremo sul do Espírito Santo com suporte de $BT=54\%$, e outro clado ao norte (Clado Atlântico-Norte) ocorrendo do norte do Rio de Janeiro até Pernambuco com suporte de $BT=89\%$. Esse dois clados apesar de compartilharem o mesmo bioma não são grupos-irmãos e possuem uma divergência genética de 10,8%. O clado Atlântico-Sul se apresenta como o mais basal, enquanto o Clado Atlântico-Norte é um dos mais derivados.

O terceiro clado é formado por espécimes do centro-norte do Brasil com ocorrência próxima a região Amazônica, desde o leste do Mato Grosso e de Tocantins, além de uma população disjunta no Ceará (Clado Cerrado-Amazônico). Esse clado tem o suporte de $BT=80\%$ e divergência

interna de 1,8%. O clado Cerrado-Amazônico se apresenta como grupo irmão do clado Atlântico-Norte com suporte de BT=89% e divergência entre os clados de 3,8%.

O quarto clado é formado por espécimes do Cerrado e da Caatinga (Clado Cerrado-Caatinga) com uma distribuição ampla que vai desde o sudoeste de Mato Grosso do Sul passando por Minas Gerais, norte de Goiás, leste de Tocantins, alcançando até o extremo sul do Ceará e Pernambuco, possui suporte de BT=90% e divergência dentro do grupo de 6,7%. O Clado Cerrado-Caatinga se apresenta como grupo-irmão do clado formado pela união dos clados Atlântico-Norte/Amazônico-Cerrado com divergência entre eles de 9,1%.

As relações reveladas nas redes de haplótipos foram congruentes com os arranjos obtidos nas análises filogenéticas (Figuras 2 e 3), porém fica mais claro nas redes a distinção entre os quatro grupos e a existência de linhagens com histórias evolutivas próprias dentro desses grupos, pelo fato das redes indicarem os passos intermediários, perdidos pelas árvores filogenéticas..

As diferenças na topologia das redes do programa NETWORK e TCS foram geradas pela maneira como cada programa trata os dados. O TCS constrói a rede a partir de um cálculo de confiança e só agrupa os haplótipos que estão dentro desse intervalo de confiança, enquanto o TCS não possui essa análise e dá a relação entre os haplótipos por mais divergentes que esses sejam.

Clado Atlântico Sul (Figura 4)

O clado Atlântico-Sul é o mais basal dentro de *Rhipidomys*, e une espécimes do sul do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, com valor de BT=54% e divergência genética baixa dentro do grupo (1,9%). Apesar do suporte baixo desse grupo, dentro desse clado são identificadas três linhagens com suporte alto (BT=91, 98 e 83%).

A linhagem do Espírito Santo apresenta-se como a mais basal desse clado. É formada por um espécime de Ibitirama e um de Muqui, com suporte de BT=91%, que compartilham o mesmo citótipo com $2n=44$, $NFa=50$ e par sexual do tipo XaYa, e apresentam baixa divergência entre si (0,6%) (Tabela 3). Os dois haplótipos observados, H38 (Ibitirama) e H39 (Muqui) se diferenciam por quatro transições e três transversões, sendo H38 considerado o mais basal para este clado.

A linhagem Rio de Janeiro (RJ) une espécimes de quatro localidades do Rio de Janeiro (Cachoeiras de Macau, Mangaratiba, Angra dos Reis e Paraty) e duas do extremo norte de São Paulo (Ubatuba e Bananal). Dos nove exemplares, quatro possuem cariótipo analisado, com $2n=44$, $NFA=48$ e par sexual do tipo XaYa. A divergência dentro do grupo é baixa (0,3%). Dentre os nove espécimes desse clado são encontrados seis haplótipos. Em Angra dos Reis ($n=4$) ocorreu apenas um haplótipo (H47) compartilhado entre todos os indivíduos; em Cachoeiras de Macau ($n=1$), Mangaratiba ($n=1$), Paraty ($n=1$), Ubatuba ($n=1$) e Bananal ($n=1$) ocorreram um haplótipo em cada (H41, H45, H46, H49 e H43, respectivamente). O H49 de Ubatuba é considerado o mais basal dentro dessa linhagem e se diferencia de H43 e H46 por uma transição, de H47 por uma

transversão, de H45 por duas transversões e quatro transições, e de H41 por cinco transições e duas transições.

A linhagem São Paulo (SP) une espécimes de quatro localidades de São Paulo: Cotia (n=5), sendo três espécimes cariotipados com $2n=44/NA=50$ e par sexual do tipo XbYb; um espécime de Capão Bonito com cariótipo $2n=44/NA=48$, e Ubatuba, e Ribeirão Grande, não cariotipados. A divergência genética dentro do grupo é baixa (0,6%). Entre os nove espécimes desse grupo são encontrados oito haplótipos. Cotia (n=5) apresenta quatro haplótipos (H50, H51, H52 e H53), sendo que H50 compartilhado entre dois espécimes. Capão Bonito (n=2) apresenta dois haplótipos (H54 e H55), diferenciados entre si por seis transições. Ubatuba (n=1) e Ribeirão Grande (n=1) apresentam haplótipos únicos (H48 e H44, respectivamente).

Os cladogramas RJ e SP se apresentam como grupos-irmãos na árvore de MV com suporte de BT=86%, divergindo 1,6% entre si. Os dois cladogramas estão distanciados entre si por sete transições e cinco transversões. O clado formado pelo RJ-SP se apresenta como grupo-irmão da linhagem ES e se diferenciam por 5,1% e cerca de 40 mutações.

Clado Cerrado-Caatinga (Figura 5)

O clado Cerrado-Caatinga é o segundo grupo mais basal em *Rhipidomys*, e inclui indivíduos de uma ampla área geográfica, incluindo indivíduos da Caatinga nas localidades de Crato (CE) e Buique (PE), até regiões de Cerrado de Ponte Alta do Tocantins (TO), Paranã (TO), Dourados (MS), Minaçu (GO), Andaraí (BA), Nova Ponte (MG), Coronel Murta (MG), Formoso (MG) e Serra da Canastra (MG), com valor de BT=90% e divergência genética dentro do grupo de 4,9% (Tabela 3).

Dentre os exemplares estudados (n=15), 10 foram cariotipados, dos quais cinco apresentaram $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa para Crato (n=2), Buique (n=1), Coronel Murta (n=1) e Andaraí (n=2), quatro apresentaram $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa para Nova Ponte (n=3) e Ponte Alta do Tocantins (n=1), e um revelou $2n=44$ e $NFa=48$ com par sexual do tipo XaYa para Formoso (n=1). Entre os 15 espécimes desse grupo, são encontrados 14 haplótipos, o único haplótipo compartilhado é o H29 entre dois espécimes de Minaçu (GO).

São identificadas três linhagens dentro desse grupo (Cerrado-norte, Cerrado-Sul e Caatinga).

A linhagem da Caatinga (Caatinga) é formada por um espécime de Buique (Pernambuco) e dois espécimes de Crato (Ceará) com suporte de BT=98%, que compartilham o mesmo cariótipos com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa, e apresentam baixa divergência entre si (1%). O H2 de Crato é considerado o mais basal dentro dessa linhagem e se diferencia de H3 também de Crato por duas transições, e do H4 de Buique por 11 transições e duas transversões.

O Cerrado apresenta duas linhagens, uma linhagem ao norte (Cerrado-norte) formada por espécimes do sul da Bahia (Andaraí), leste de Tocantins (Ponte Alta do Tocantins e Paranã) e extremo oeste de Minas Gerais (Nova Ponte e Formoso), com suporte de BT=80% e divergência dentro do grupo de 3,1%. Outra linhagem ao sul (Cerrado-sul) formada por espécimes do Mato Grosso (Dourados), extremo norte de Goiás (Minaçu) e Minas Gerais (Nova Ponte, Coronel Murta e Serra da Canastra), com suporte de BT=100% e divergência dentro do grupo de 2,2%. A divergência entre os clados norte e sul do Cerrado é de 6,7%.

Vale destacar que os três haplótipos presentes nos espécimes de Nova Ponte (H33, H34 e H35) se mostram pouco relacionados entre si (5,3%) apresentando-se mais próximos de haplótipos de outras localidades do que entre si.

A linhagem do Cerrado-norte é composta por cinco espécimes, dos quais quatro são cariotipados: um indivíduo de Nova Ponte e um de Ponte Alta de Tocantins com o cariótipo $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa, um Andaraí com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa, e um de Formoso com $2n=44$ e $NFa=48$ com par sexual do tipo XbYa. São encontrados cinco haplótipos nessa linhagem, que são bem diferenciados entre si. Os mais semelhantes entre si o H11 (Ponte Alta do Tocantins) e o H13 (Paraná) que se diferenciam por seis transições enquanto os outros haplótipos (H19 de Andaraí, H25 de Formoso e H34 de Nova Ponte) possuem mais de 13 mutações em relação a todos os outros haplótipos (Figura 2). Os haplótipos H19, H25 e H34 não se agruparam na análise do TCS (Figura 3) devido ao grande número de mutações, na rede geradas pelo NETWORK esses três haplótipos se diferenciaram por 17 mutações de H19 para H25 e 15 mutações de H25 para H34, nas árvores como um clado monofilético com suporte de (BT=88%).

Os clados Cerrado-norte e Caatinga se apresentam como grupos-irmãos na árvore de MV com suporte de BT=94%, divergindo 3,8% entre si.

A linhagem do Cerrado-sul é composta por sete espécimes, dos quais três são cariotipados: dois de Nova Ponte com o cariótipo $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa, e um de Coronel Murta com o cariótipo $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa, e espécimes não cariotipados da Serra da Canastra (Minas Gerais), de Dourados (Mato Grosso), de Minaçu (Goiás). São encontrados seis haplótipos nesse grupo, pois os espécimes de Minaçu compartilham o cariótipo H29. Na rede de haplótipos do TCS são formados dois grupos, um com os haplótipos H29 e H35 que se diferenciam por 11 transições. Outro grupo é formado pelo haplótipos H28, H33 e H37, sendo o H40 apontado como o mais basal, se diferenciado do H29 por uma transição e um transverso e do H37 por cinco transições. O H40 apresenta mais de 13 mutações em relação aos outros haplótipos e na rede de haplótipos de TCS não se mostra associado a nenhum outro haplótipo.

O clado formado pelas linhagens Caatinga/Cerrado norte como grupo irmão da linhagem Cerrado-sul e divergem em 6,7% entre eles.

Clado Cerrado-Amazônia (Figura 6)

O clado Cerrado-Amazônia une espécimes de Mato Grosso (Ribeirão Cascalheiras, Barra das Garças e Vila Rica), de Tocantins (Palmas e Peixe) e do Ceará (Ibiapaba) com suporte de BT=80% e divergência dentro do grupo de 1,8%. São identificadas três linhagens dentro desse grupo (Ibiapaba, Tocantins e Mato Grosso). As linhagens de Mato Grosso e a de Tocantins são grupos irmãos e divergem entre eles em 1,3% (Tabela 3).

A linhagem de Ibiapaba é composta por um espécime não cariotipado. O haplótipo desse espécime (H1) diverge em 4,1% do restante do Clado Cerrado-Amazônia e se diferencia por 53 mutações. O haplótipo H1 apesar de cair dentro do Clado Cerrado-Amazônia nas árvores filogenéticas, na rede de haplótipo do programa Network se mostra mais próximos dos espécimes do clado Atlântico-Sul (Figura 6B), do qual se diferencia por pelo menos 44 mutações.

A linhagem de Tocantins une um espécime de Palmas e um de Peixe, com suporte de BT=99% e divergência entre eles baixa (0,4%). No cariótipo dos exemplares de Peixe e Barra das Garças só foram identificados que o Nfa é baixo. O haplótipo de Palmas (H10) diverge do haplótipo de Peixe (H12) por três transições e uma transversão.

A linhagem Mato Grosso une espécimes de Barra das Garças, Ribeirão Cascalheiras e Vila Rica, com suporte de BT=96% e divergência baixa entre eles (0,7%). Dos oito espécimes desse grupo, seis são cariotipados, três espécimes de Vila Rica revelam $2n=44$ e Nfa=52 com par sexual do tipo XaYa, e três espécimes de Ribeirão Cascalheiras com par sexual do tipo revelam $2n=44$ Nfa=50XbYa. Os oito espécimes dessa linhagem apresentam seis haplótipos, o H8 é compartilhado entre dois espécimes de Ribeirão Cascalheiras e um de Vila Rica, os outros espécimes apresentam haplótipos únicos (H9, H14, H15, H26 e H27). Barra das Garças (n=2) apresenta dois haplótipos (H26 e H27) que se diferenciam entre si por quatro transições. Ribeirão Cascalheiras (n=3) com três haplótipos (H8, H14 e H15), sendo que H8 e H14 apresentam-se mais similares entre si e se diferenciam por duas transições, enquanto H15 se diferencia dos outros dois haplótipos por 10 transições. O H15 de Ribeirão Cascalheiras apresentou-se mais semelhante aos haplótipos de Barra das Garças (H26 e H27) e se diferencia de ambos por duas transições. Vila Rica (n=3) apresenta dois haplótipos (H8 e H9) que se diferenciam por duas transições. O H8 é considerado o mais basal do grupo diferenciado do H9 (Vila Rica) e H14 por duas transições, de H15 (Ribeirão Cascalheiras) por 10 transições, e de H26 (Barra das Garças) e H27 (Barra das Garças) por 11 transições.

Clado Atlântico-Norte (Figura 7)

O clado Atlântico-Norte é o mais derivado dentro de *Rhipidomys* une os espécimes da Mata Atlântica do sul do Rio de Janeiro (Casimiro de Abreu), da porção centro-norte do Espírito Santo (Jacutinga, Cariacica e Águia Branca), do sul da Bahia (Ilhéus e Una), e de Pernambuco (Caruaru),

com bootstrap de BT=98%, com divergência de 1,2% dentro de grupo. Foram identificadas três linhagens com suporte elevado (Norte, Centro e Sul). As linhagens Centro e Sul se apresentam como clados-irmãos, e divergem uma da outra por apenas 1,6% (Tabela 3). Essas duas linhagens se apresentam como as mais derivadas e se apresentam-se como grupo-irmão da linhagem Norte que diverge das outras duas linhagens em 2,2%.

A linhagem Sul une espécimes de Nova Viçosa (Bahia), Águia Branca (Espírito Santo), Jacutinga (Espírito Santo), Cariacica (Espírito Santo) e Casimiro de Abreu (Rio de Janeiro), todos com citótipo $2n=44$ e $NFa=74$, com suporte alto suporte (BT=95%) e divergência genética baixa (0,4%) dentro do grupo (Tabela 3). Entre os oito espécimes desse clado são encontrados cinco haplótipos. Cariacica ($n=3$) e Jacutinga ($n=1$) compartilham o mesmo haplótipo (H36). Águia Branca ($n=2$) com dois haplótipos (H31 e H32) que se diferenciam por uma transição e uma transversão. Nova Viçosa e Casimiro de Abreu revelam haplótipos únicos (H30 e H42, respectivamente). Segundo a rede de haplótipos do TCS (Figura 3) o haplótipo H36 presente em Jacutinga e Cariacica, ambas no Espírito Santo, é o mais basal dentro desse grupo e se diferencia do H42 de Casimiro de Abreu por uma transversão, do H31 de Águia Branca por quatro transições, do H32 de Águia Branca por cinco transições e uma transversão, e do para H30 de Nova Viçosa por cinco transições.

A linhagem Centro une espécimes de Una e Ilhéus, ambos na Bahia, com suporte alto (99%) e divergência baixa (0,2%). Os 13 espécimes desse grupo são cariotipados, dez espécimes apresentam $2n=44$ e $NFa=72$ de Una, um espécime com $2n=44$ e $NFa=74$ e dois espécimes com $2n=44$ e $NFa=70$ em Ilhéus. Entre esses 13 espécimes são encontrados oito haplótipos. Ilhéus ($n=3$) com três haplótipos (H16, H17 e H18) e Una ($n=10$) com sete haplótipos (H16, H18, H20, H21, H22, H23 e H24). Os H16 e H18 são compartilhados entre as duas populações, mas o H16 é o mais freqüente aparecendo em um indivíduo de Ilhéus e em cinco de Una. O H18 é considerado como o mais basal e se diferencia do H16, H20 e H21 por uma transição cada, do H22 e H24 por duas transições cada, do H17 por quatro transições, e do H23 por três transições e uma transversões.

A linhagem Norte é a mais basal dentro do clado Atlântico-Norte, e é formada por espécimes não cariotipados de Caruaru (Pernambuco), com suporte de BT=96%, e com divergência baixa (0,7%) dentro do grupo. Dentro desse grupo cada espécime ($n=3$) possui um haplótipo único (H5, H6 e H7). O H6 se apresenta como o mais basal dentro do grupo e se diferencia de H5 por oito transversões e de H7 por duas transições e oito transversões.

IV. Discussão

IV.1. Relações filogenéticas e considerações taxonômicas

Grupo *R. mastacalis*: uma subdivisão norte-sul da Mata Atlântica

A Mata Atlântica encontra-se subdivida em dois clados bem diferenciados e praticamente sem sobreposição, um com distribuição norte (Atlântico-Norte) e outro com distribuição ao sul (Atlântico-Sul), e que estes não se apresentam como grupo irmãos. O clado Atlântico Sul é o mais basal do grupo, enquanto o Atlântico-Norte é o clado mais derivado e se apresenta como grupo irmão de espécimes amazônicos. Esse mesmo padrão foi encontrado em estudos prévios para o gênero (Costa, 2007; Costa *et al.*, 2003).

O clado Atlântico-Norte (AN) possui uma distribuição ampla ocorrendo na Mata Atlântica de Pernambuco até a Serra da Mantiqueira no Rio de Janeiro. Neste clado é possível observar uma estruturação genética separando a Mata Atlântica em dois filogrupos, um norte e outro sul. Esse padrão de quebra norte/sul dentro da Mata Atlântica foi observado em diversos trabalhos com mamíferos (Costa *et al.* 2003; Gomes, 2008; Coutinho, 2008; Nogueira & Fagundes, 2008), répteis (Vanzolini, 1988; Pellegrino *et al.*, 2005; Grazziotin *et al.*, 2006), anfíbios (Lynch, 1979), aves (Bates *et al.*, 1998) e até mesmo para opilionídeos (Pinto-da-Rocha & da Silva, 2005), e sugerem que há uma história vicariante compartilhada nesta região e que a principal quebra dentro da Mata Atlântica ocorre na altura do rio Doce ou do rio Jequitinhonha.

De acordo com nossos dados moleculares, o rio Doce não atua como uma barreira natural entre os dois filogrupos de *R. mastacalis*. O espécime de Nova Viçosa na Bahia, localidade ao norte do rio Doce, se encontra no mesmo filogrupo das populações ao sul do rio Doce, divergindo apenas em 0,57% dos espécimes de seu filogrupo.

Por outro lado, o Rio Jequitinhonha se mostra como uma potencial barreira vicariante entre os espécimes do clado Atlântico Norte, a população com a distribuição mais ao norte do filogrupo AN-Sul é Nova Viçosa, que se encontra na margem sul do Rio São Francisco, enquanto a população mais ao sul do filogrupo AN-Norte é Una, que se encontra na margem norte do rio Jequitinhonha, portanto os limites da distribuição dessas duas formas ocorrem em margens opostas do rio Jequitinhonha. Apesar da possível barreira física entre esses dois filogrupos a divergência genética entre eles é baixa (1,6%), indicando uma homogeneização desses dois filogrupos.

O cariótipo também parece não servir como uma barreira reprodutiva eficiente entre esses filogrupos, apesar da linhagem AN-Sul ser exclusivamente composta por espécimes com $2n=44$ e $NFa=74$, na linhagem AN-Norte foi encontrado um espécime com este mesmo cariótipo na localidade de Ilhéus (Bahia).

Costa (2007) analisou espécimes de populações dos dois filogrupos e não encontrou diferenças morfológicas entre essas entidades que justificasse as separações dessas unidades em

categorias taxonômicas distintas, isso somado ao fato de sua análise de sequências de Citocromo b indicarem que essas populações formavam um clado, fez com que Costa (2007) os categorizasse como pertencentes à espécie *Rhipidomys mastacalis*.

Thomazini (2009, capítulo do presente trabalho) destacou que a pequena diferença entre os cariótipos, a distribuição geográfica contínua das formas cariotípicas da Mata Atlântica, com alguns pontos de simpatria na Bahia e a falta de evidências morfológicas, para distinguir os espécimes entre as formas $2n=44$ e $NFa=70, 72$ e 74 , podem indicar que esses cariótipos correspondem ao um único táxon *Rhipidomys mastacalis*.

A falta de caracteres morfológicos, a baixa diferenciação genética, e a falta de barreiras reprodutivas eficientes, sejam elas físicas ou biológicas entre esses filogrupos indicam que esses espécimes fazem parte da mesma entidade taxonômica. Nesse sentido reconhecemos que as linhagens AN-Norte e AN-Sul como *Rhipidomys mastacalis*, e que esta espécie esta associada aos cariótipos com $2n=44$ e $NFa=70, 2n=44$ e $NFa=72$ e $2n=44$ e $NFa=74$, com polimorfismos intra-específicos tanto cariotípicos como moleculares

Uma terceira linhagem formada por espécimes de Caruru (AN-Caruaru) em Pernambuco compõem o clado Atlântico-Norte. Tribe (1995) analisou 58 espécimes de *Rhipidomys mastacalis* em Caruru, como não há registros de outras espécies de *Rhipidomys* ocorrendo em simpatria nessa área. A baixa divergência genética (2,16%) entre o clado AN-Caruaru e as outras duas linhagens (AN-Norte e AN-Sul) do clado Atlântico-Norte, não dá suporte para afirmar se esses espécimes correspondem a outro táxon, porém revela uma distinção no grupo *R. mastacalis*.

Grupo *R. leucodactylus*: distinção entre os biomas Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica e Amazônia

Alguns clados do presente trabalho são equivalentes aos clados propostos por Costa (2007): clados Atlântico-Norte associado a *Rhipidomys mastacalis*; e clados Atlântico-Sul e Cerrado-Amazônico equivale a dois táxons novos não descrito (*Rhipidomys* sp2 e *Rhipidomys* sp, respectivamente).

No clado Cerrado-Amazônico (CAm), o espécime de Peixe e de Palmas, ambos no Tocantins forma um clado com baixa divergência (0,03%) sugerindo se tratar de um mesmo táxon. Considerando que Costa (2007) identificou o espécime de Peixe (Tocantins) como nova espécie nomeada em seu trabalho como *Rhipidomys* sp, reconhecemos os exemplares de Palmas como essa nova espécie, expandindo a distribuição geográfica para o norte do Tocantins .

A linhagem CAm-Ibiapaba apresenta-se com alta divergência do restante dos representantes do clado Cerrado-Amazônico (4,1% e 53 mutações).

Desta forma, apesar deste haplótipo de Ibiapaba estar associado ao clado Cerrado-Amazônico, devido ao grande número de mutações (53), o índice de divergência genético elevado

(4,1%), e distribuição disjunta com as outras populações, pois enquanto Ibiapaba encontra-se no bioma Cerrado, as outras populações do clado Cerrado-Amazônico estão numa zona de transição para a Amazônia, isto permite sugerir que a linhagem de CAM-Ibiapaba seja considerada uma linhagem distinta do clado Cerrado-Amazônico e corresponda a um táxon não identificado de *Rhipidomys*, mas que se apresente como grupo-irmão da espécie nova reconhecida por Costa (2007).

Esses dados quando comparados com outros táxons de mamíferos, mostra um nível elevado de divergência, equivalente a divergência interespecífica. Por exemplo, nos cetáceos do gênero *Stenella*, *Tursiops* e *Delphinus*, Amaral *et al.* (2007) obteve valores de divergência genética interespecífica entre 1,47% a 2,45%. Nos morcegos *Carollia brevicauda*, *Myotis riparius*, *Noctilio albiventris*, *Phylloderma stenops*, *Platyrrhinus helleri*, *Trachops cirrhosus*, Clare *et al.* (2006) encontrou que cada uma dessas espécies formavam duas ou três linhagens distintas e as linhagens-irmãs tinham valores de divergência entre 2,5 a 12,7%. Esse dado é ainda mais relevante levando em consideração que trabalhos anteriores sugerem que *Noctilio albiventris* seja na verdade um complexo de espécie (Lewis-Oritt *et al.* 2001; Wilson & Reeder 2005). Borisenko *et al.* (2008) mostrou que 90% das linhagens genéticas encontradas em seu trabalho, que equivalem a espécies de mamíferos reconhecidas (Wilson & Reeder, 2005) revelaram distância genética maior que 2% em relação ao seu vizinho mais próximo. Existem outros exemplos fora de mamíferos como em aves que a média de divergência entre espécies é de 3% (Hebert *et al.* 2004), e em borboletas com 5% (Hajibabaei *et al.* 2006).

Situação semelhante à da linhagem CAM-Ibiapaba no clado Cerrado-Amazônico, ocorre no clado Atlântico-Sul (AS), no qual a linhagem AS-Espírito Santo formado por espécimes de Ibitirama e Muqui, ambas no Espírito Santo, divergem em 5,1% em relação os outros espécimes do clado Atlântico-Sul, além de possuírem cariótipos distinto do restante do clado com $2n=44$ e $NFa=50XaYa$. O espécime de Ibitirama foi identificado por Costa (2007) como *R. macrurus*, porém a linhagem AS-Espírito Santo diverge 10,2% quando comparados com outros espécimes identificados como *Rhipidomys macrurus* por Costa (2007). Essa elevada divergência genética e o cariótipo distinto entre os espécimes do clado AS-Espírito Santo e dos outros indivíduos identificados como *R. macrurus* por Costa (2007), sugerem que o clado AS-Espírito Santo não corresponde à espécie *Rhipidomys macrurus*, e provavelmente é uma nova espécie para o gênero.

As outras duas linhagens que compõem o clado Atlântico-Sul (AS-Rio de Janeiro e AS-São Paulo) compartilham o cariótipo $2n=44$ $NFa=48$ $XaYa$, mas a linhagem AS-São Paulo possui um cariótipo não compartilhado na localidade de Cotia com $2n=44$ e $NFa=50$ $XbYc$. Apesar das diferenças cariotípicas essas duas linhagens se apresentam bem homogêneas com divergência genética baixa de 1,69% entre eles. Espécimes de Angra dos Reis e Bananal foram identificados por Costa (2007) como uma espécie nova denominada em seu trabalho como *Rhipidomys* sp2. Levando em consideração a homogeneidade das linhagens e sua distribuição contínua,

propomos que linhagens AS-Rio de Janeiro e AS-São Paulo correspondem a esta espécie ainda não descrita.

No clado Cerrado-Caatinga (CCa), verificamos três cladogramas (CCa-Crato, CCa-Norte, CCa-Sul), porém a adição de novos indivíduos trouxe novas informações sobre a identificação de alguns exemplares. Em nossa análise foram amostrados três espécimes de Nova Ponte (MG) e cada espécime revelou um haplótipo distinto, com divergência de 5,35% entre eles. Os haplótipos de Nova Ponte (MG) se apresentaram como grupo irmão de haplótipos de espécimes tanto do clado CCa-Norte (*Rhipidomys macrurus* de Costa, 2007) como do clado CCa-Sul (*Rhipidomys* sp3 de Costa, 2007), sugerindo que mais de um táxon está representado pelos espécimes de Nova Ponte (MG). Em Costa (2007) foi amostrado na análise molecular apenas um espécime da localidade de Nova Ponte e este foi associado ao táxon *Rhipidomys macrurus*, o que levou a autora a propor que indivíduos de Nova Ponte (MG) correspondessem a *R. macrurus*, dado contestado pelos dados adicionais do presente estudo.

Na linhagem dos brejos da Caatinga de Crato e Buique observamos uma baixa divergência genética (1,01%) e o mesmo cariótipo com $2n=44$ e $NFa=50$ XbYa, sugerindo que esses indivíduos correspondam a um mesmo táxon. Costa (2007) identificou os espécimes de Crato como *R. cariri*.

Além de inferir as relações filogenéticas em *Rhipidomys* foi possível testar a eficiência do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) na identificação *Rhipidomys*. O COI conseguiu resgatar praticamente as relações filogenéticas encontradas com o Citocromo b (Cit b), analisado por Costa (2007), mostrando que há marcadores suficientes que permitam a identificação das espécies desse gênero. Este estudo reforça a conclusão de estudos anteriores com COI (Hebert *et al.*, 2003; Clare *et al.*, 2007; Borisenko *et al.*, 2008), encorajando o uso de sequências de COI como uma ferramenta para verificar a organização taxonômica de espécies ou espécimes de pequenos mamíferos, e realçar casos que necessitam de atenção sistemática. Também ilustra o potencial desse gene em revelar a diversidade críptica na uniformidade morfológica e pouco estudada de grupos de roedores.

IV.2. Evolução cariotípica x agrupamentos no gênero *Rhipidomys*

Os roedores sigmondontíneos revelam elevados níveis de diversidade cariotípica, devido a isso dados cromossômicos têm sido usados para estabelecer filogenias em diferentes níveis taxonômicos (Salazar-Bravo *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 2007). No nosso estudo foram amostradas oito formas cariotípicas, que quando valores de $2n$ e NFa foram plotados nas árvores filogenéticas, alguns padrões emergiram.

Os dados indicam uma tendência do aumento no número de braços autossômicos (Figura 7), com os grupos basais com o $2n=44$ e $NFa=48$ e 50 (clados Atlântico-Sul e Cerrado-Caatinga) e os mais derivados com $2n=44$ e $NFa=50$ e 52 (Clado Cerrado Amazônico), seguindo do clado

formado por espécimes com $2n=44$ e $NFa=70, 72$ e 74 (Clado Atlântico-Norte). Embora os roedores sigmodontíneos exibam uma tendência geral de redução do $2n$ e NFa (Gardner & Patton, 1976), segundo Aguilera *et al.* (2000), o grupo-irmão de *Rhipidomys*, o gênero *Thomasomys* apresenta dois grupos cariotípicos: um mais primitivo encontrado em *T. aureus*, *T. kalinowskii*, *T. notatus*, *T. taczanowskii*, e *T. laniger* com $2n$ mais baixo e composto praticamente por cromossomos acrocêntricos (NFa baixo), e outro exemplificado em *T. niveipes* (Gómez-Laverde *et al.*, 1997), que é caracterizado pela prevalência de cromossomos metacêntricos (NFa alto), e pode ser considerado como uma condição derivada em *Thomasomys*. Outro exemplo de grupo com essa mesma tendência é o roedor africano *Mastomys* (Volobouev *et al.*, 2002).

Thomazini (2009, Capítulo 1 do presente trabalho) baseada na distribuição das formas cariotípicas e a diversificação dos sigmodontíneos na América do Sul sugeriu que o cariótipo basal para o gênero *Rhipidomys* seria um cariótipo com $2n=44$ e NFa =baixo. Os dados do presente trabalho corroboram com essa hipótese, pois esta condição ancestral com NFa baixo foi encontrada nos clados mais basais da filogenia (Atlântico-Norte e Cerrado-Caatinga), e apontamos o cariótipo com $2n=44$, $NFa= 50$ XaYa de Ibitirama e Muqui no Espírito Santo e par sexual como mais basal para o gênero.

Levando em consideração o cariótipo ancestral de *Rhipidomys* com $2n=44$ e NFa =baixo, Thomazini (2009, Capítulo 1 do presente trabalho) sugeriu que a diversificação do gênero *Rhipidomys* pode ter ocorrido por três linhagens independentes, uma linhagem que ficou restrita ao norte do Rio Negro, linhagem essa que teve uma tendência de aumentar seu número diplóide (amostra não analisada no presente estudo). As outras duas linhagens teriam alcançado a Mata Atlântica distintamente e seguido rumos evolutivos distintos. Essa invasão múltipla da Mata Atlântica é corroborada pelo fato de existir dois clados distintos na Mata Atlântica e esses não se representam grupos-irmãos, bem divergentes entre si, com características cariotípicas distintas: o clado Atlântico-Sul é formado por espécimes com $2n=44$ e $NFa=48$ e 50 , e o clado Atlântico-Norte com $2n=44$ e $NFa=70, 72$ e 74 .

Nossa proposta é de que as duas rotas de invasão até a Mata Atlântica tenha se iniciado a partir dos Andes onde ocorreu uma separação das linhagens uma seguindo pelas terras baixas amazônicas seguindo pelo norte, alcançando o nordeste do Brasil e se dispersando para o sudeste até alcançar a Serra da Mantiqueira. Essa proposta é corroborada pelos nossos dados que mostram que a linhagem Atlântico-Norte é mais relacionada com os espécimes das proximidades da Amazônia (clado Cerrado-Amazônico). A outra linhagem, das terras baixas da Amazônia se dispersou para o Cerrado pelo centro do Brasil, alcançando a Mata Atlântica. Apesar de não termos amostrados grupos estritamente amazônicos, em Costa (2003) e Costa (2007) é mostrado que o clado sul da Mata Atlântica é grupo irmão de espécimes ao sudoeste da Amazônia, confirmando essa relação próxima dos espécimes no sul da Mata Atlântica com espécimes da Amazônia.

Nossa filogenia não corresponde ao esquema cromossômico proposto por Andrades-Miranda *et al.* (2002): três grupos de espécies baseado em dados cromossômicos. Apesar do grupo *Rhipidomys nitela* não ter sido amostrado, conseguimos fazer considerações sobre os outros grupos de *Rhipidomys*. Assim como proposto por Andrades-Miranda *et al.* (2002) foi diagnosticado que os espécimes com $2n=44$ e NFa alto formam um grupo monofilético, correspondendo neste trabalho ao clado Atlântico-Norte e a espécie *Rhipidomys mastacalis*. Nosso trabalho também confirma a hipótese de Thomazini (2009, Capítulo 1 do presente trabalho) que as formas com $2n=44$ e NF alto são derivadas dentro de *Rhipidomys*.

Por outro lado, os espécimes com $2n=44$ e NFa baixo, representados pelos clados Atlântico-Sul, Cerrado-Amazônico e Cerrado-Caatinga, se mostraram polifiléticos, pelo menos duas origens uma linhagem originando o clado Atlântico-Sul, o mais basal do grupo, e outra linhagem originando os outros clados. Além disso, se mostra parafilético, pois não é possível agrupar todos os clados com $2n=44$ e NFa baixo e seus descendentes sem incluir o clado com $2n=44$ e NFa baixo. Portanto nossos dados vão de encontro com a hipótese de Andrades-Miranda *et al.* (2002) em relação ao grupo com $2n=44$ e NFa baixo, esta divisão dada por ela seria artificial.

Uma questão importante para entender e dar importância ao cariótipos de um grupo é saber se o cariótipo serve como uma barreira reprodutiva eficiente. No clado Amazônico-Cerrado, grupo irmão do clado Atlântico-Norte, seus espécimes cariotipados possuem $2n=44$ e o NA baixo ($2n=44/NA=50$ XbYa e $2n=44/NA=52$ XaYa). Espécimes amostrados de Vila Rica (Mato Grosso) com cariótipo $2n=44/NA=52$ XaYa e de Ribeirão Cascalheiras (Mato Grosso) com $2n=44/NA=50$ XbYa, compartilham o mesmo haplótipo (H8), sugerindo que talvez o cariótipo não funcione como barreira reprodutiva entre esses dois citótipos. Por outro lado, o H8 foi indicado como o haplótipo ancestral para todo o clado Cerrado-Amazônico. Isso corrobora a hipótese de que esses espécimes com diferentes citótipos compartilham o mesmo haplótipo por descendência em comum, considerando isso como mais um caso de retenção de haplótipo ancestral os espécimes dessas duas localidades se apresentariam como grupos irmãos. Casos de retenção de haplótipo ancestral são bens comuns na natureza como no caso de primatas (O'hUigin *et al.*, 2002), roedores (Edwards *et al.*, 1997, Belfiore *et al.*, 2008), gafanhotos (Bulgin *et al.*, 2003) e em fungos (Ward *et al.*, 2002).

V. Conclusão

Neste trabalho associando a informação citogenética, de distribuição geográfica e análises moleculares identificamos oito táxons, sendo seis táxons já propostos na literatura, e sugerimos a existência de mais dois táxons novos para *Rhipidomys*, quais sejam:

1. *Rhipidomys mastacalis* com distribuição do sul do Rio de Janeiro a Pernambuco, associado à Mata Atlântica. Possui três formas cariotípicas, $2n=44$ e $NFa=70$, 72 e 74 .
2. *Rhipidomys cariri*, anteriormente descrito apenas para o Ceará, neste trabalho teve sua área de ocorrência para Pernambuco. Esta associada a forma cariotípica com $2n=44$ e $NFa=50$ XbYa.
3. *Rhipidomys macrurus* distribuído pelas matas de galerias do Mato Grosso ao Ceará. Esta associado aos cariótipos com $2n=44$ e $NFa=48$ com par sexual do tipo XaYa, $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa e $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa.
4. *Rhipidomys* spreconhecido por Costa (2007) com ocorrência na região do Mato Grosso e Tocantins, associados as formas com $2n=44$ e $NFa=50$ e $2n=44$ e $NFa=52$.
5. *Rhipidomys* sp2 reconhecido por Costa (2007) para o leste de São Paulo e sul do Rio de Janeiro com $2n=44$ e $NFa=48$ XaYa e $2n=44$ e $NFa=50$ XbYc.
6. *Rhipidomys* sp3 reconhecido por Costa (2007) distribuído pela região oeste da Bahia e noroeste de Minas Gerais, associado aos cariótipos com $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XbYa e $2n=44$ e $NFa=50$ com par sexual do tipo XaYa.
7. Uma espécie nova para a localidade de Ibiapaba (CE), na região nordeste do Brasil, sem cariótipo associado, porém com divergência de 5% das demais do gênero.
8. Uma espécie nova para a região montanhosa sul do Espírito Santo, na região de Ibitirama e Muqui, associada ao cariótipo com $2n=44$ e $NFa=50$, XaYa, com 4% de divergência das demais espécies.

Os dados moleculares e citogenéticos trabalhados em conjuntos proporcionam uma visão global e polarizada dos acontecimentos cromossômicos, servindo para confirmar e refutar propostas citogenéticas anteriores.

Foi possível (1) refutar a proposta de separação dos *Rhipidomys* de acordo com o cariótipo, pois apesar dos espécimes com NFa alto se mostrarem monofiléticos, os espécimes com NFa baixo se mostraram polifiléticos e parafiléticos; (2) apoiar a sugestão do cariótipo ancestral de *Rhipidomys* ser com $2n=44$ e NFa baixo; (3) propor que os *Rhipidomys* se dispersara pela América do Sul por três linhagens independentes; (4) propor que apesar dos diferentes citótipos citados não formarem clados monofiléticos eles revelam a história evolutiva do cariótipo mostrando uma propensão do grupo para aumento do $2n$ e do NFa .

Do ponto de vista taxonômico e evolutivo, ainda há muitas questões a serem respondidas, principalmente em relação a evolução cariotípica. Apesar de termos encontrado fatos que nos sugerem como ocorreu o processo de diversificação em *Rhipidomys*, é necessário adicionar as outras formas cariotípicas e novas populações de toda a América do Sul, principalmente da região Andina para testar a hipótese do estoque cariotípico ancestral de *Rhipidomys* estar estabelecido nesse local. Se possível associar os dados citogenéticos e moleculares com estudos morfológicos, tomando como partida as relações colocadas em prova nesse trabalho, e as sugestões de novas espécies.

VI. Referências

- AGUILERA, M.M.; PÉREZ-ZAPATA, A.; OCHOA J.O.G.; SORIANO P. (2000). **karyology of *Aepeomys* and *Thomasomys* (Rodentia: Muridae) from the Venezuelan Andes.** *Journal of Mammalogy*, 81(1):52-58.
- ALMEIDA, F.C.; BONVICINO, C.R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. (2007). **Phylogeny and temporal diversification of *Calomys* (Rodentia, Sigmodontinae): implications for the biogeography of an endemic genus of the open/dry biomes of South America.** *Molecular Phylogenetics Evolution*, 42 (2):449-66.
- AMARAL, A.R.; SEQUEIRA, M.; COELHO, M.M. (2007). **A first approach to the usefulness of cytochrome *c* oxidase I barcodes in the identification of closely related delphinid cetacean species.** *Marine and Freshwater Research* 58(6): 505–510.
- ANDRADES-MIRANDA, J.; OLIVEIRA, L.F.B. de; LIMA-ROSA, C.A.V.; SANA, D.A., NUNES, A.P.; MATTEVI, M.S. (2002). **Genetics studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil.** *Acta Theriologica*, 47 (2): 125-135.
- BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; ROHL, A. (1999). **Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies.** *Molecular Biology and Evolution*, 16 (1): 37-48.
- BATES, J.M., HACKETT, S.J., CRACRAFT, J. (2004). **Area-relationships in the Neotropical lowlands: an hypotheses based on raw distribution of passerine birds.** *Journal of Biogeography*, 25: 783-93.
- BELFIORE, N.M.; LIU, L.; MORITZ, C. (2008). **Multilocus phylogenetics of rapid radiation in the genus *Thomomys* (Rodentia: Geomyidae).** *Systematic Biology*, 57 (2): 294-310.
- BORISENKO, A.V.; LIM, B.K.; IVANOVA, N.V.; HANNER, R.H.; PAUL D. N. HEBERT, P.D.N. O (2008). **DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname.** *Molecular Ecology Resources*, 8: 471–479.
- BOSCH, H.A.J.; ODIERNA, G.; APREA, G.; BARUCCA, M.; CANAPA, A.; CAPRIGLIONE, T.; OLMO, E. (2003). **Karyological and genetic variation in middle eastern lacertid lizards, *Lacerta laevis* and the *Lacerta kulzeri* complex: a case of chromosomal allopatric speciation.** *Chromosome Research*, 11: 165-178.
- BRUFFORD, M.W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J.F.Y.; BURKE, T. (1992). **Single-locus and multilocus DNA fingerprint.** In: *Molecular genetic analyses of populations. A practical Approach.* A.R. Hoelzel (Ed).
- BULGIN, N.L.; GIBBS, H.L.; VICKERY, P.; BAKER, A.J. (2003) **Ancestral polymorphism in genetic markers obscure detection of evolutionary distinct polymorphism.** *Molecular Ecology*, 12: 831-844.

- CATANESI, C.I.; VIDAL-RIOJA, L.; ZAMBELLI, A. (2006). **Molecular and phylogenetic analysis of mitochondrial control region in robertsonian karyomorphs of *Graomys griseoflavus* (rodentia, sigmodontinae).** *Mastozoología Neotropical*, 13(1):21-30,
- CLARE, E.L.; LIM, B.K.; ENGSTROM, M.D.; EGER, J.L.; HEBERT, P.D.N. (2006). **DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana.** *Molecular Ecology Notes*.
- CLEMENT, M.; POSADA, D.; CRANDALL, K. (2000). **TCS: a computer program to estimate gene genealogies.** *Molecular Ecology*, 9(10): 1657-1660.
- COSTA, B.M.A. (2007). **Sistemática de *Rhipidomys* (Mammalia: Rodentia) do leste do Brasil.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo. Brasil.
- COSTA, L.P. (2003). **The historical bridge between the Amazon and Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals.** *Journal of Biogeography*, 30: 71-86.
- COUTINHO, L. C. (2008). **Diversificação de populações em um gradiente latitudinal da Mata Atlântica: evidências de rios atuando como barreiras geográficas em *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia, Cricetidae).** Monografia de graduação. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES.
- DEREEPER, A.; GUIGNON, V.; BLANC, G.; AUDIC, S.; BUFFET, S.; CHEVENET, F.; DUFAYARD, J.F.; GUINDON, S.; LEFORT, V.; LESCOT, M.; CLAVERIE, J.M.; GASCUEL, O. (2008). **Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist** *Nucleic Acids Research*. Jul 1; 36 (Web Server Issue):W4659. Epub 2008 Apr 19.
- DITCHFIELD, A.D. (2000) **The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals.** *Molecular Ecology*, 9: 1307–1318.
- EDWARDS, S.V.; CHESNUT, K.; SATTA, Y.; WAKELAND, E.K. (1997). **Ancestral polymorphism of Mhc class II genes in mice: implications for balancing selection and the mammalian molecular clock.** *Genetics*, 146(2):655-68.
- EMMONS, L.H.; FEER, F. (1997). **Neotropical Rainforests Mammals. A field guide.** 2ed. The University of Chicago Press, Chicago, 307p.
- FLORES-VILELA, O.; KJER, K.M.; BENABIB, M.; SITES, J.M. (2000) **Multiple data sets, congruence, and hypothesis testing for the phylogeny of basal groups of lizard genus *Sceloporus* (Squamata, Phrynosomatidae).** *Systematics Biology*, 49 (4): 713-739.
- GARDNER, A.L.; PATTON, J.L. (1976). **Karyotypic variation in oryzomyine rodents (Cricetidae) with comments on chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex.** *Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University*, 49:1–48.

- 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.
- GOMES, J. A. S. (2008). **Sistemática molecular de *Thaptomys nigrita*.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES.
- GÓMEZ-LAVERDE, M.; MONTENEGRO-DÍAZ, O.; LÓPEZ-ARÉVALO, H.; CADENA, A.; BUENO, M. L. (1997). **Karyology, morphology, and ecology of *Thomasomys laniger* and *T. niveipes* (Rodentia) in Colombia.** Journal of Mammalogy, 78:1282–1289.
- GRAZZIOTIN, F.G.; MONZEL, M.; ECHEVERRIGARAY, S.; BONATTO, S.L. (2006). **Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest.** Molecular Ecology, 15 (13): 3969-3982.
- GUINDON, S.; GASCUEL, O. (2003). **A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood.** Systematic Biology, 52(5):696-704.
- HAJBABAELI, M.; JANZEN, D.H.; BURNS, J.M.; HALLWACHS, W.; HEBERT, P.D.N. (2006). **DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera.** Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 103: 968–971.
- HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A., BALL, S.L., DEWAARD, J.R., (2003). **Biological identifications through DNA barcodes.** Proceedings of the Royal Society of London, 270: 313–321.
- HOGG, I.D.; HEBERT, P.D.N. (2004) **Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes.** Canadian Journal of Zoology, 82: 749–754.
- KING, M. (1994). **Unbuckling the cladistic straight jacket: na exercise in elementary cytogenetics and a reply to Kluge (1994).** Herpetologica, 50: 222-237.
- KLUGE, A.G. (1994). **Principles of phylogentic systematic and the informativeness of the karyotype in documenting gekkotan lizard relationships.** Herpetologica, 50: 210-221.
- LEITE, Y.L.R.; CHRISTOFF, A.U.; FAGUNDES, V. (2008). **A new species of Atlantic Forest tree rat, genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae) from southern Brazil.** Journal of mammalogy, 89(4): 845-851.
- LEWIS-ORITT, N.; VAN, D.E.N.B.; BUSSCHE, R.A.; BAKER, R.J. (2001). **Molecular evidence for evolution of piscivory in *Noctilio* (Chiroptera: Noctilionidae).** Journal of Mammalogy, 82: 748–759.
- LIMA-ROSA, C.A.V.; HUTZ, M.H.; OLIVEIRA, L.F.B.; ANDRADES-MIRANDA, J.; MATTEVI, M.S. (2000). **Heterologous Amplification of Microsatellite Loci from Mouse and Rat in Oryzomyine and Thomasomyine South American Rodents.** Biochemical Genetics, 38 (3-4): 97-108.

- LYNCH, J.D. (1979). **The amphibians of the lowland tropical forest**. In W. E. Duellman (ed.). *The South American herpetofauna: its origin, evolution, and dispersal*. Monographs Museum Natural History. University of Kansas, 189-215.
- NOGUEIRA, C.D.A.; FAGUNDES, V. (2008). ***Akodon cursor* Winge, 1887 (Rodentia: Sigmodontinae): one or two species? New evidences based on molecular data**. *Zootaxa*, 1768: 41-51.
- O'HUIGIN, C.; SATTA, Y.; NAOYUKI, T.; KLEIN, J. (2002). **Contribution of homoplasy and the ancestral polymorphism to the evolution of genes in anthropoid primates**. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 1501-1513.
- PELLEGRINO, K.C., RODRIGUES, M.M.T., WAITE, A.N. MORANDO, M., YASSUDA, Y.Y., SITES, J.W. (2005). **Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest**. *Biological Journal of the Linnean Society* 85 (1): 13–26.
- PINTO-DA-ROCHA, R., DA-SILVA, M. B., E BRAGAGNOLO, C.(2005). **Faunistic similarity and historic biogeography of the harvestmen of southern and southeastern Atlantic Rain Forest of Brazil**. *Journal of Arachnology*, v33 (2): 290-299.
- POSADA, D.; CRANDALL, K. (1998). **MODELTEST: testing the model of DNA substitution**. *Bioinformatics*, 14: 817-818.
- ROHL, A. (2000). **Network: Phylogenetic Network Analysis**, v3.1.1.1 Fluxus Technology, Ltd: Germany.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P.(2003). **MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models**. *Bioinformatics* , 19 (12): 1572-1574.
- ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; MESSEGYER, X.; ROZAS, R. (2003). **DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods**. *Bioinformatics*, 19:2496-2497.
- SALAZAR-BRAVO, J.; DRAGOO, J.W.; TINNIN, D.S.; YATES, T.L. (2001). **Phylogeny and Evolution of the Neotropical Rodent Genus *Calomys*: Inferences from Mitochondrial DNA Sequence Data**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 20 (2): 173-184.
- SILVA, M.J.J.; 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.
- SITES, J.W.; MORITZ, C. (1987). **Chromosomal evolution and speciation revisited**. *Systematics Zoology*, 36: 153-174.
- SITES, J.W.; REED, K.M. (1994). **Chromosomal evolution, speciation, and systematics: some relevant issues**. *Herpetologica*, 50: 237-249.

- SOUSA, M.A.N.S. (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 de mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- SPRADLING, T.A.; BRUNT, S.V.; HAFNER, M.S.; DICKERSON, C.J. (2004). **DNA data support a rapid radiation of pocket gopher genera (Rodentia: Geomyidae).** *Journal of Mammalian Evolution*, 11(2): 105-125.
- SWOFFORD, D. (2002). **PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and others methods).** Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. (2007). **MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0.** *Molecular Biology and Evolution*, 24: 1596-1599.
- TRIBE, C.J. (1996). **The Neotropical rodent genus *Rhipidomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) – a taxonomic revision,** Dissertação de PhD. University College London, Londres.
- TRIBE, C.J. (2005). **A new species of *Rhipidomys* (Rodentia, Muroidea) from north-eastern Brazil.** *Arquivos do Museu Nacional*, 63(1): 131-146.
- VANZOLINI, P.E. (1988). **Distributional patterns of South American lizards.** In *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns* (P.E. Vanzolini & W.R. Heyer, eds.). Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 317-342.
- VOLOBOUEV, V.T.; ANISKIN, V.M.; LECOMPTE, E.; DUCROZ, J.F. (2002). **Patterns of karyotype evolution in complexes of sibling species within three genera of African murid rodents inferred from the comparison of cytogenetic and molecular data.** *Cytogenetics Genome Research*, 96: 261-275.
- WARD, T.J.; BIELAWSKI, J.P.; KISTLER, H.C.; SULLIVAN, E.; O'DONNELL, K. (2002). **Ancestral polymorphism and adaptive evolution in trichothecene mycotoxin gene cluster of phytopathogenic *Fusarium*.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (14): 9278-9283
- WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (2005) *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference*, 3rd edn. JohnsHopkinsUniversity Press, Baltimore, Maryland.
- XIA, X.; XIE, Z. (2001) **DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution.** *Journal of Heredity*, 92:371-373.
- XIA, X.; XIE, Z.; SALEMI, M.; CHEN, L.; WANG. (2003). **An index of substitution saturation and its application.** *Molecular Phylogenetics Evolution*, 26:1-7.

ANEXO

Figuras, tabelas e lista de localidades

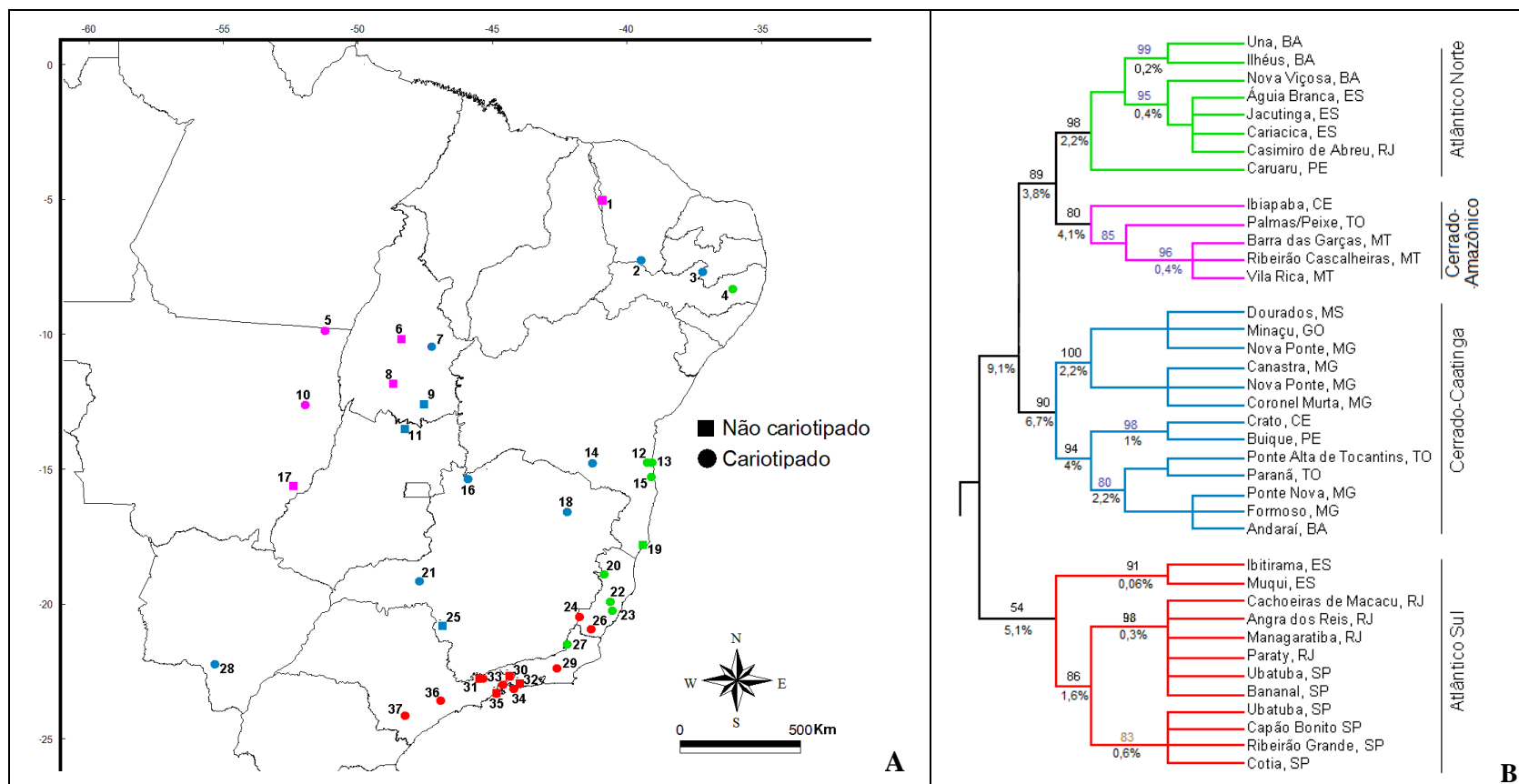


Figura 1 – A) Localidades da amostra de *Rhipidomys* do presente estudo. As cores dos símbolos correspondem as cores dos ramos na árvore filogenética. **B) Árvore simplificada de Máxima Verossimilhança (MV) do gene mitocondrial COI de *Rhipidomys*.** Valores de bootstrap (BT) acima de 50% estão representados acima dos ramos (em porcentagem) e a divergência genética entre os grupos estão abaixo dos ramos (em porcentagem). Os dados cariotípicos e a discriminação dos haplótipos se encontram na Tabela 1.

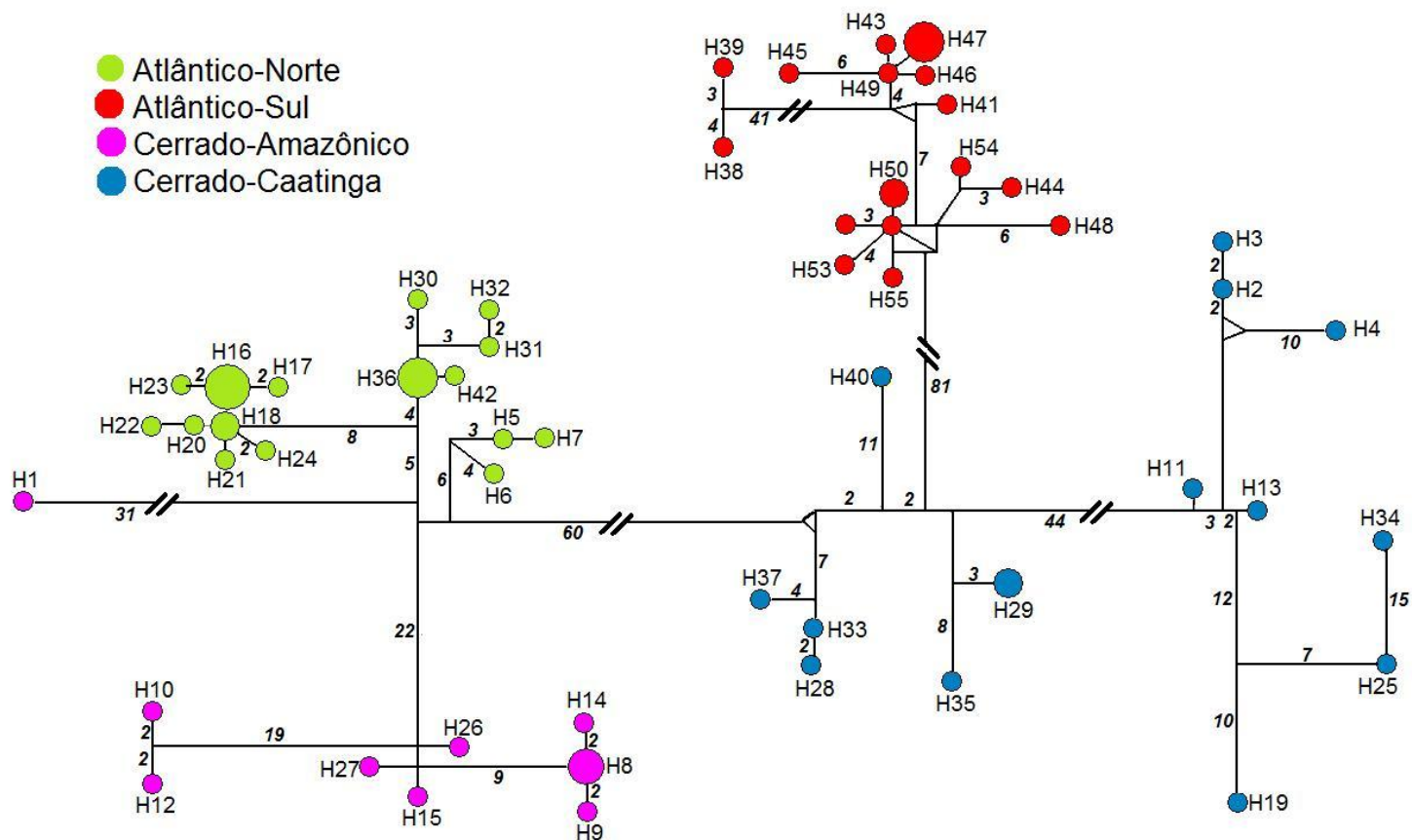


Figura 2 – Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK 4.1 (Rohl, 2000), representando as relações filogenéticas entre os haplótipos do gene mitocondrial COI. Os círculos representam os haplótipos amostrados e seus tamanhos são proporcionais à frequência de cada haplótipo. As cores dos círculos correspondem ao clados designados na árvore de MV da Figura 1B. Os números em cinza correspondem ao número de mutações entre os haplótipos, ausência de números corresponde a apenas uma mutação. Os haplótipos estão designados na Tabela 1.

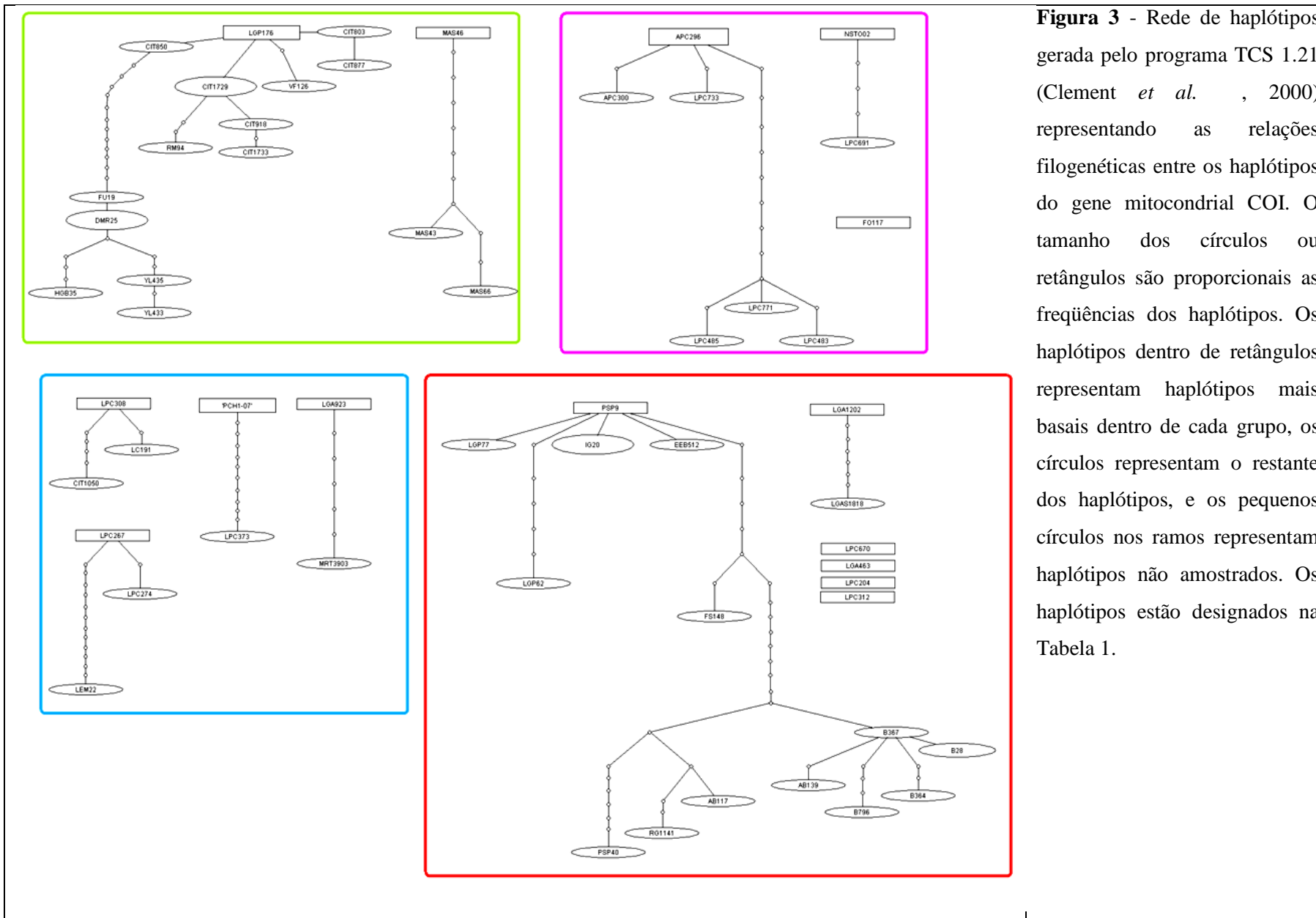


Figura 3 - Rede de haplótipos gerada pelo programa TCS 1.21 (Clement *et al.* , 2000) representando as relações filogenéticas entre os haplótipos do gene mitocondrial COI. O tamanho dos círculos ou retângulos são proporcionais as frequências dos haplótipos. Os haplótipos dentro de retângulos representam haplótipos mais basais dentro de cada grupo, os círculos representam o restante dos haplótipos, e os pequenos círculos nos ramos representam haplótipos não amostrados. Os haplótipos estão designados na Tabela 1.

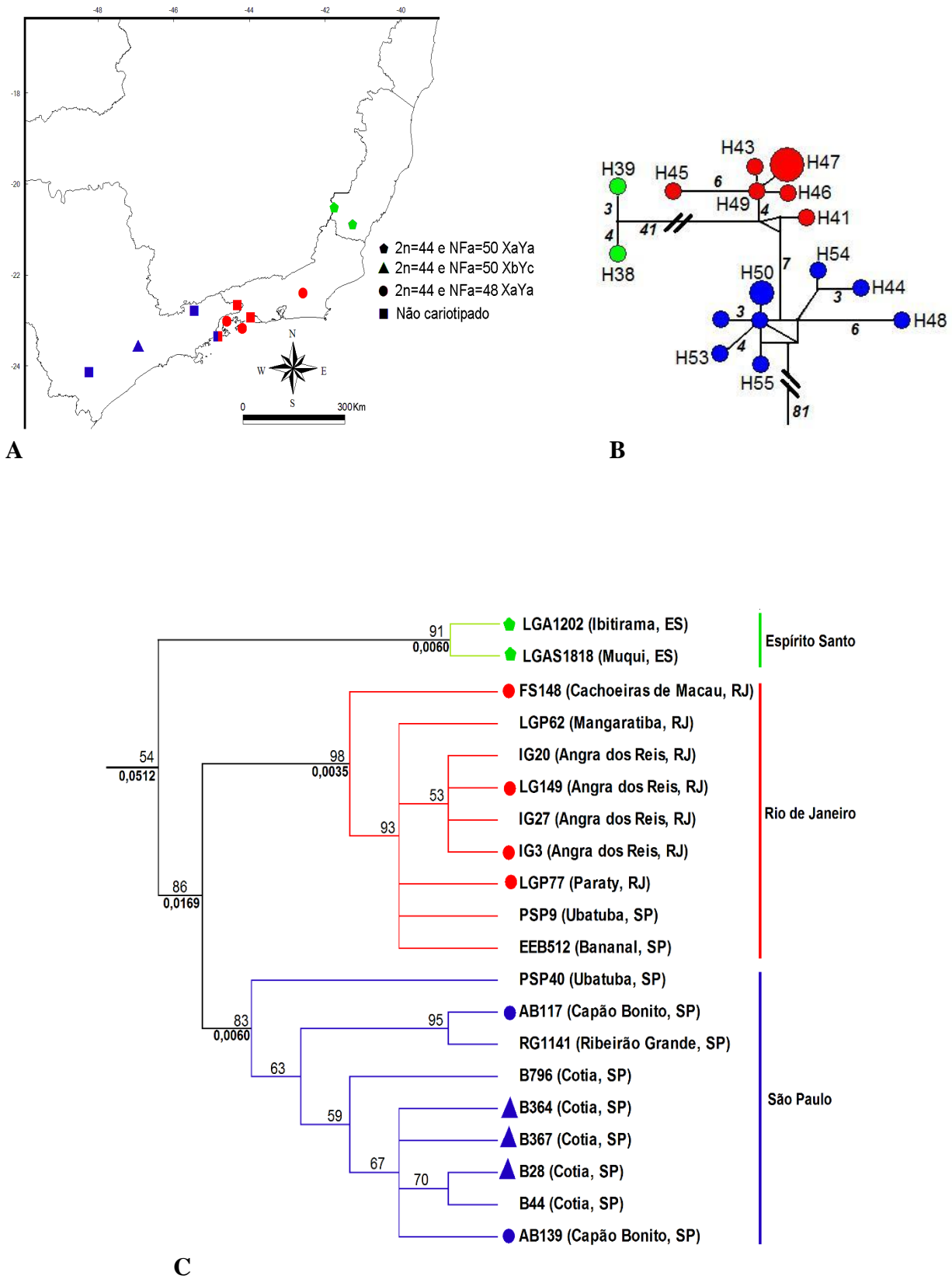


Figura 4- Clado Atlântico Sul (AS). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado AS. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C).Árvore de MV.

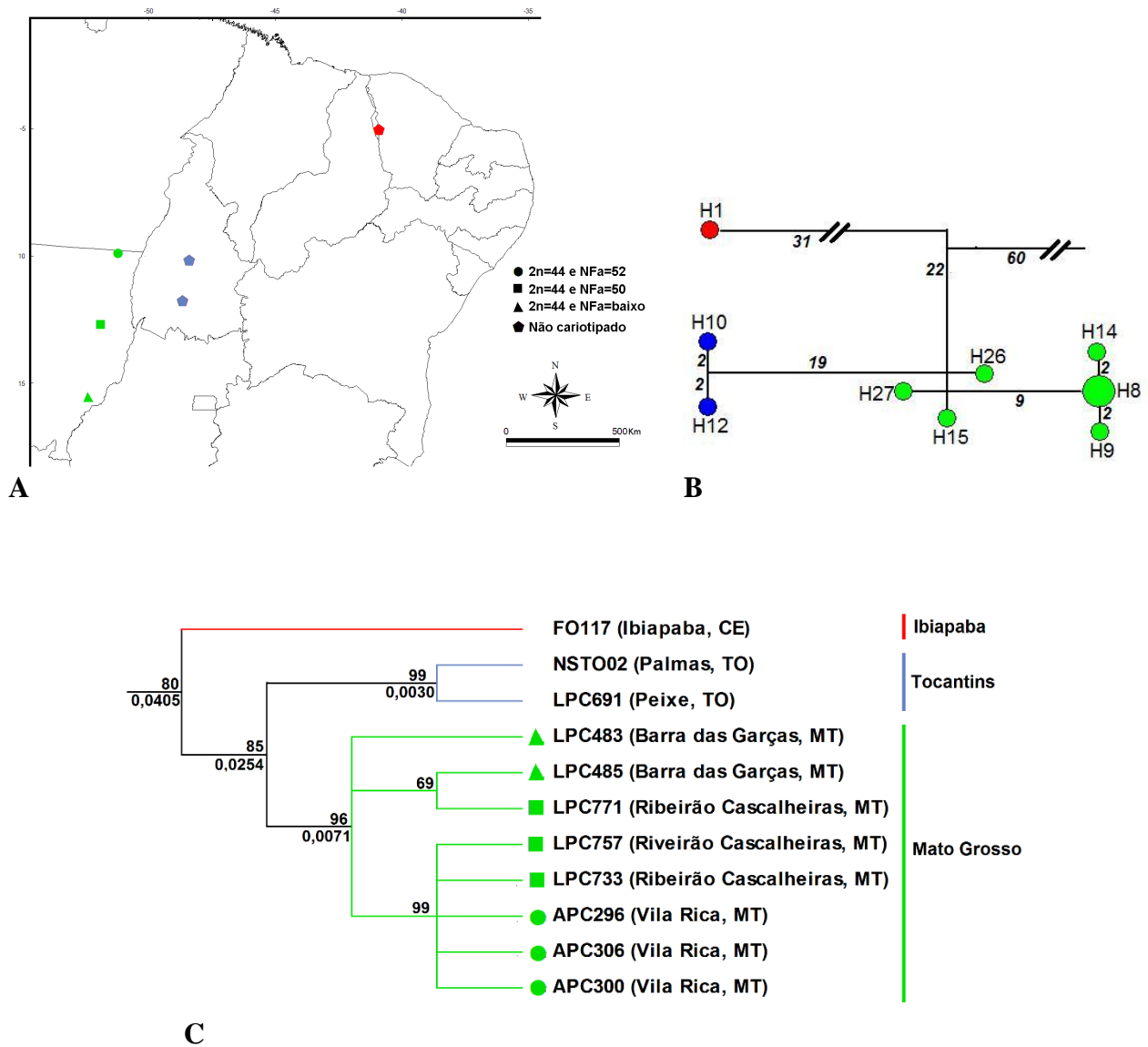


Figura 5 - Clado Cerrado-Amazônico (CAM). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado CAM. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C). Árvore de MV.

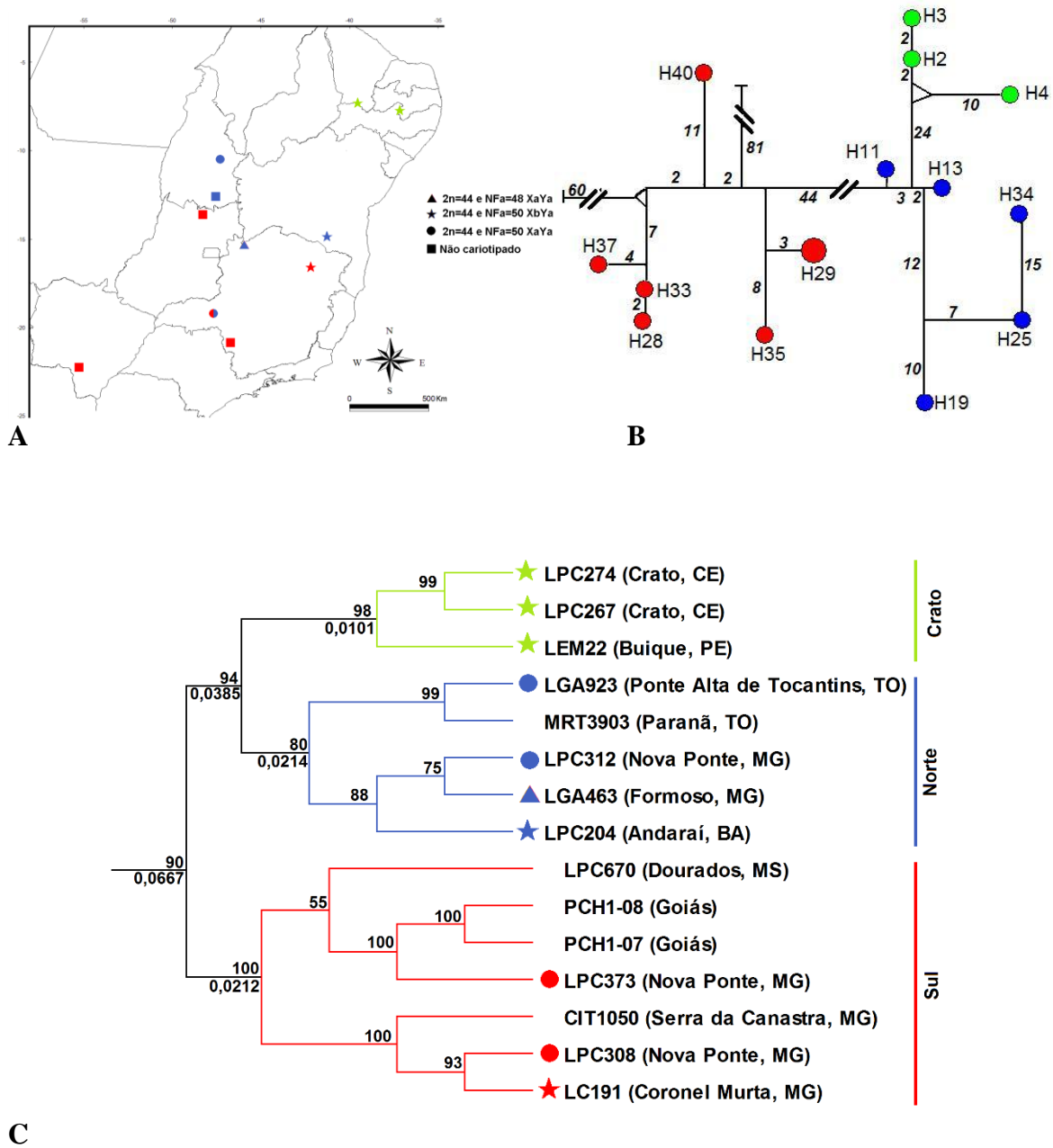
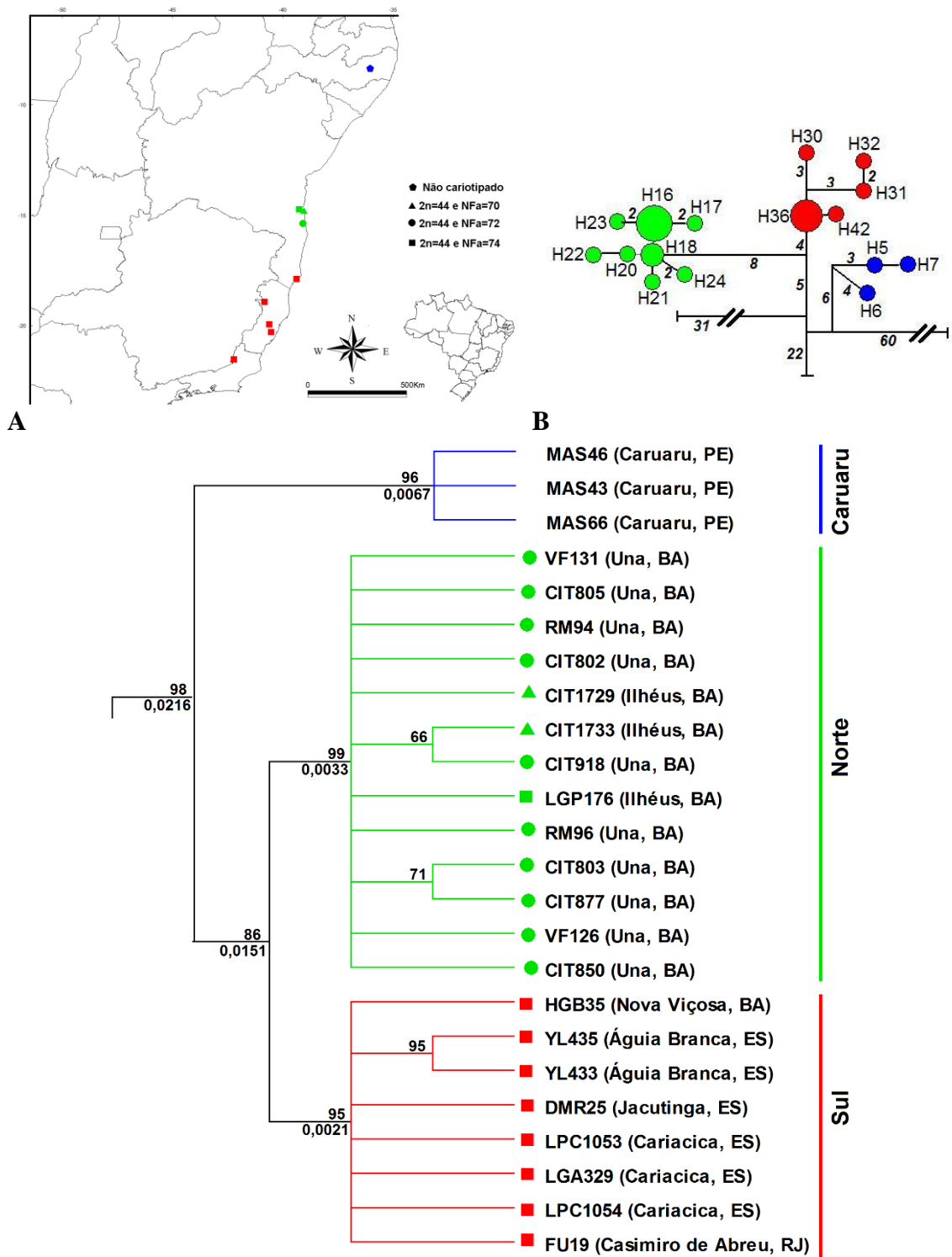


Figura 6 – Clado Cerrado-Caatinga (CCa). A)- Localidades de ocorrência dos espécimes do clado CCa; B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C). Árvore de MV.



C
Figura 7- Clado Atlântico Norte (AN). A) Localidades de ocorrência dos espécimes do clado AN. B) Rede de haplótipos gerada pelo programa NETWORK. C) Árvore de MV.

Tabela 1 – Localidades, cariótipos e haplótipos dos espécimes.

Estado	Localidade	Espécime	Cariótipo (2n/NFa)	Haplótipos
BA	Andaraí	LPC204	44/50	H19
		CIT1733	44/70	H17
	Ilhéus	CIT1729	44/70	H16
		LGP176	44/74	H18
	Nova Viçosa	HGB35	44/74	H30
		CIT850	44/72	H21
		CIT805, CIT 802, CIT 918, VF 131	44/72	H16
	Una	CIT877	44/72	H22
		CIT803	44/72	H20
		VF126	44/72	H24
		RM94	44/72	H23
	RM96	44/72	H18	
CE	Crato	LPC267	44/50	H2
		LPC274	44/50	H3
	Ibiapaba	FO117	NA	H1
ES	Águia Branca	YL435	44/74	H31
		YL433	44/74	H32
	Alto Misterioso	DMR25	44/74	H36
	Cariacica	LPC1053, LPC 1054, LGA 329	44/74	H36
	Ibitirama	LGA1202	44/50	H38
	Muqui	LGA1818	44/50	H39
GO	Minaçu	PCH1-07, PCH1-08	NA	H29
MG	Coronel Murta	LC191	44/50	H28
	Nova Ponte	LPC308	44/50	H33
		LPC312	44/50	H34
		LPC373	44/50	H35
	Formoso	LGA463	44/48	H25
Serra da Canastra	CIT1050	NA	H37	
MS	Dourados	LPC670	44/bx	H40
MT	Barra Das Garças	LPC483	44/bx	H26
		LPC485	44/bx	H27
		LPC733	44/50	H14
	Ribeirão Cascalheiras	LPC757	44/50	H8
		LPC771	44/50	H15
PE	Vila Rica	APC296, APC 306	44/52	H8
		APC300	44/52	H9
	Buique	LEM22	44/50	H4
	Caruaru	MAS43	NA	H5
MAS46		NA	H6	
MAS66		NA	H7	
RJ	Cachoeiras De Macau	FS148	44/48	H41
	Angra dos Reis	LG149, IG3	44/48	H47
		IG20, IG27	NA	H47
	Casimiro De Abreu	FU19	44/74	H42
	Mangaratiba	LGP62	NA	H45
	Paraty	LGP77	44/48	H46
SP	Bananal	EEB512	NA	H43
	Capão Bonito	AB117	44/48	H54
		AB139	44/48	H55
		B28	44/50	H50
	Cotia	B44	NA	H50
		B364	44/50	H51
		B367	44/50	H52
		B796	NA	H53
		PSP9	NA	H49
	Ubatuba	PSP40	NA	H48
Ribeirão Grande		RG1141	NA	H44
TO	Paraná	MRT3903	NA	H13
	Ponte Alta do Tocantins	LGA923	44/50	H11
	Peixe	LPC691	NA	H12
	Palmas	NSTO-02	NA	H10

Legenda: NA=não analisado citogeneticamente.

Tabela 2- Probabilidade de substituição nucleotídica

	A	T	C	G
A	-	2.45	2.18	8.36
T	2.33	-	28.31	1.3
C	2.33	31.82	-	1.3
G	14.97	2.45	2.18	-

Cada entrada mostra a probabilidade de substituição de uma base (linha) pela outra (coluna). Apenas as entradas na mesma linha devem ser comparadas. Taxas de transição são mostradas em negrito e as transversões são mostradas em itálico.

Tabela 3- Valores de divergência genética dentro dos grupos/linhagens e entre os grupos/linhagens

		Atlântico-Sul			Cerrado-Amazônico			Cerrado-Caatinga			Atlântico-Norte		
		Espírito Santo	Rio de Janeiro	São Paulo	Ibiapaba	Tocantins	Mato Grosso	Crato	Norte	Sul	Caruaru	Sul	Norte
Atlântico-Sul	Espírito Santo	0.0060											
	Rio de Janeiro	0.0503	0.0035										
	São Paulo	0.0506	0.0169	0.0060									
Cerrado-Amazônico	Ibiapaba	0.1057	0.1123	0.1100	n/c								
	Tocantins	0.0955	0.1014	0.0987	0.0388	0.0030							
	Mato Grosso	0.1030	0.1011	0.0985	0.0410	0.0254	0.0071						
Cerrado-Caatinga	Crato	0.1000	0.1056	0.1031	0.1013	0.0933	0.0957	0.0101					
	Norte	0.0997	0.1004	0.0984	0.0961	0.0878	0.0860	0.0385	0.0214				
	Sul	0.0970	0.1031	0.0960	0.0953	0.0857	0.0876	0.0696	0.0638	0.0212			
Atlântico-Norte	Caruaru	0.1052	0.1085	0.1085	0.0440	0.0360	0.0340	0.0943	0.0869	0.0844	0.0067		
	Sul	0.1026	0.1092	0.1077	0.0404	0.0411	0.0373	0.0943	0.0870	0.0862	0.0212	0.0021	
	Norte	0.1069	0.1107	0.1093	0.0427	0.0363	0.0356	0.0938	0.0859	0.0835	0.0214	0.0151	0.0033

Valores de distância genética dentro do grupo estão representados em negrito, distância genética entre os grupos são os outros valores.

Lista de localidades: PAÍS: Estado: número da localidade. Município, localidades, localidade mais específica quando houver (referência) [códigos dos espécimes analisados no presente estudo]

BRASIL:**Ceará:** **1.** Ibiapaba [FO117]; **2.** Crato, Chapada do Araripe [LPC267; LPC274].
Pernambuco: **3.** Buique, PARNA Catimbau [LEM22]; **4.** Caruaru [MAS43; MAS46, MAS66].
Mato Grosso: **5.** Vila Rica [APC296; APC300; APC306]; **10.** Ribeirão Cascalheiras, Fazenda Noruimbá [LPC733; LPC757; LPC771]; **17.** Barra das Garças, Fazenda São Luis [LPC483; LPC485]. **Tocantins:** **6.** Palmas [NSTO-02]; **7.** Ponte Alta do Tocantins, EE Serra Geral do Tocantins [LGA923]; **8.** Peixe, Rio Santa Teresa [LPC691]; **9.** Paranã [MRT3903]. **Goiás:** **11.** Minaçu [PCH1-07; PCH1-08]. **Bahia:** **12.** Ilhéus [LGP176]; **13.** Ilhéus, Centro Experimental Almada [CIT1729; CIT1733]; **14.** Andaraí, Fazenda Santa Rita [LPC204]; **15.** Una [CIT802; CIT803; CIT805; CIT850; CIT877; CIT918, VF126; VF131]; **19.** Nova Viçosa [HGB35]; **25.** Serra da Canastra [CIT1050]. **Minas Gerais:** **16.** Formoso, PN Grande Sertão Veredas [LHA463]; **18.** Coronel Murta, Ponte do Colatino [LC191]; **21.** Nova Ponte, Mata do Vasco [LPC308; LPC312; LPC373]. **Espírito Santo:** **20.** Águia Branca [YL433; YL435]; **22.** Santa Teresa, Jacutinga, Região do Alto Misterioso [DMR25]; **23.** Cariacica, ReBio Duas Bocas [LGA329; LPC1053; LPC1054] ;**24.** Ibitirama, PARNA Caparaó [LPC1202]; **26.** Muqui, Fazenda Recanto [LGA1818]. **Rio de Janeiro:** **27.** Cabo Frio, Casimiro de Abreu [FU19]; **29.** Cachoeiras de Macaú [FS148]; **32.** Mangaratiba [LGA62]; **33.** Paraty [LGP77]; **34.** Angra Dos Reis [IG3; IG20; IG27; LG149]. **Mato Grosso do Sul:** **28.** Dourados, Fazenda Maringá [LPC670]. **São Paulo:** **30.** Bananal [EEB512]; **31.** Ribeirão Grande [RG1141]; **35.** Ubatuba [PSP9; PSP40]; **36.** Cotia, Reserva do Morro Grande [B28; B44; B364; B367; B796]; **37.** Capão Bonito [AB117; AB139].

CONCLUSÃO

Neste estudo encontramos duas novas descrições de cariótipos, um cariótipo com NFa alto inédito ($2n=44$ e $NFa=72$) e outro com uma combinação inédita de cromossomos X e Y ($2n=44$, $NFa=50$, $XbYc$). Adicionando nossos dados aos da literatura observou-se 22 cariótipos descritos para o gênero *Rhipidomys*. Desses 22 cariótipos, 14 foram associados a 12 dos 21 táxons reconhecidos em *Rhipidomys*, e oito cariótipos não estão associados a nenhum táxon reconhecido. Além disso, identificamos seis espécies de *Rhipidomys* reconhecidas e sugerimos a presença de mais dois novos táxons para o leste do Brasil. Encontramos indícios que a barreira vicariante na Mata Atlântica é marcada pelo rio Jequitinhonha e não pelo rio Doce, como sugerido em muitos trabalhos. Revelamos que o grupo com NFa alto é monofilético, enquanto o grupo com NFa baixo é polifilético e parafilético, fato esse que vai de encontro com a hipótese dos agrupamentos cariotípicos. Descobrimos que há uma tendência do aumento no número de braços autossômicos no gênero, encontrando-se as formas cariotípicas mais derivadas a mais distantes do provável ponte de origem do gênero na América do Sul. Ainda, foi proposto que a origem da radiação de *Rhipidomys* ocorreu nos Andes e as populações dessa região carregaria as condições primitivas do grupo, como o $2n=44$ e o NFa baixo. A partir desse cariótipo ancestral propomos um modelo de evolução cariotípica levando em consideração na distribuição das formas cromossômicas em cada região.