

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

**CARIOLOGIA E FILOGENIA MOLECULAR EM
TRINOMYS E *PROECHIMYS* (ECHIMYIDAE, RODENTIA)**

MARIANNA XAVIER MACHADO

VITÓRIA

2017

MARIANNA XAVIER MACHADO

**CARIOLOGIA E FILOGENIA MOLECULAR EM
TRINOMYS E *PROECHIMYS* (ECHIMYIDAE, RODENTIA)**

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

Orientadora: Valéria Fagundes

VITÓRIA

2017

MARIANNA XAVIER MACHADO

**CARIOLOGIA E FILOGENIA MOLECULAR EM
TRINOMYS E *PROECHIMYS* (ECHIMYIDAE, RODENTIA)**

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

__provada em 22 de fevereiro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Valéria Fagundes - Orientadora
Universidade Federal do Espírito Santo

Dra. Roberta Paresque - Examinador Interno
Universidade Federal do Espírito Santo

Dr. Yuri Luiz Reis Leite - Examinador Interno
Universidade Federal do Espírito Santo

Dr. Wander Calmon Tosta - Examinador Externo
Universidade Federal do Espírito Santo

Dra. Ana Paula Carmignotto - Examinador Externo
Universidade Federal de São Carlos

À minha família.

Agradecimentos

Depois de 13 anos, encerro um grande ciclo de formação dentro da Universidade Federal do Espírito Santo e não teria chegado até aqui sem o apoio das pessoas e instituições que me formaram enquanto pessoa e pesquisadora.

Sendo assim, começo a agradecer aos meu pais, Adelaide e Manoel, educadores incansáveis que desde sempre me ensinaram que a educação era o bem mais importante que eles poderiam me oferecer. Como valeu a pena me dedicar aos estudos! Hoje, podem se orgulhar, vocês tem uma filha professora federal e Doutora!

A minha irmã de sangue e alma, somos tão diferentes mas você me completa! Obrigada pela parceria, pelo equilíbrio e ajuda na finalização da tese. Te amo irmã e a próxima Doutora da família será você!

Ao Giuliano (meu nego lindo!), meu marido, por toda paciência, amor, carinho e dedicação... Obrigada por me acompanhar nas noites em claro escrevendo, por todas as ajudas com o texto, tabelas e por adiar seus sonhos por esse meu grande sonho! Temos muito que comemorar, essa conquista é nossa!

A minha linda Eloisa, por todo amor e carinho mas que não entendia porque a madrinha nunca parava em casa... A dinha agora vai ficar muito tempo com você!

Mas a minha paixão pelos cromossomos teve início com uma pessoa que me aceitou como aluna de IC ainda na graduação, Valéria Fagundes. Eu sei que essa caminhada juntas não foi fácil mas obrigada por ser amiga, dura nos momentos certos, orientadora e meu exemplo de mulher firme que não desiste dos seus objetivos, por maior que sejam as adversidades. Você marcou a minha história e é responsável pela profissional que me tornei, sem você o meu sonho em ser Doutora não seria possível! Obrigada por toda ajuda, principalmente nessa reta final!

A família LGA: Ao Arturo, pelas idéias brilhantes, por rodar milhares de vezes as minhas análises e me tirar do sufoco inúmeras vezes! Ao Eduardo (Dudu), por compartilhar comigo as angústias da finalização desse processo e pela leitura crítica do texto. Deu tudo certo, Dudu! A Ana Heloisa, pela ajuda com os programas, mapas e tabelas. A Débora, pelas longas conversas de desabafo e estímulo para continuar. A Thaís, pela alegria contagiante, sempre alto astral que melhorava os dias no laboratório! Ao Gabriel, Fernanda e Marina pelas ajudas com os programas e a boa conversa nos momentos de distração. Mas da família científica preciso fazer um agradecimento especial... Ao Victor, não sei como descrever todo o apoio que você me deu ao longo desses anos... Obrigada por ser meu amigo, pelas orientações quando eu estava perdida

e pela paciência em me ensinar todas as metodologias que para mim eram novidades! Quanto trabalho eu te dei... Muito obrigada por tudo, de coração!

As amigas que a Biologia me presenteou: Josi, Rayani e Clara pelo carinho e torcida para que tudo desse certo. À Maressa, obrigada pela preocupação e ajuda na revisão do texto nessa reta final. Serei eternamente grata!

Aos doutores Yatiyo Yonenaga -Yassuda (USP), Ana Paula Carmignoto (UFSCar), Yuri Luiz Reis Leite, Leonora Pires Costa, Roberta Paresque e a pesquisadora Simone Lóss de Freitas (UFES), pela coleta e/ou disponibilidade de parte do material analisado no presente estudo. Ao doutor James Patton, que gentilmente cedeu grande parte do material de sequências permitindo que o trabalho fosse realizado.

A Camila Moreira, que com toda calma e paciência me ajudou nas tentativas com as hibridações na USP. O resultado não saiu como esperávamos mas a bagagem de conhecimentos gerada foi grande!

A Juliana Justino, pela disponibilidade em me acompanhar e ajudar na rotina de laboratório.

Ao Jeronymo, que mesmo longe, me ajudou com artigos, tutoriais e trocas de idéias a respeito dos equimídeos.

Aos professores do PPGBAN por compartilharem os seus conhecimentos ao longo desses anos na minha formação acadêmica.

Aos colegas da turma de doutorado, pelas conversas e trocas de experiências.

Aos órgãos financiadores FAPES, CNPq, IFF e CAPES pelo apoio financeiro e concessão da bolsa.

Ao Instituto Federal Fluminense, a diretora geral do Campus Itaperuna Michelle Freitas e ao coordenador Willians Salles, pela forma humana como me trataram e compreenderam a dificuldade em trabalhar no Rio de Janeiro e estudar no Espírito Santo. Obrigada por ajustarem meus horários na instituição e pela compreensão quando eu necessitava me ausentar. Agradeço ainda aos colegas do instituto pela torcida, apoio, auxílio na aplicação provas no meu lugar e trocando os horários de aulas comigo. Em especial a Quézia, Murilo e Filipe, grandes amigos que sempre torceram por essa conquista!

Agradeço a banca pela disponibilidade em avaliar o trabalho. A Roberta Paresque e Yuri Leite que conhecem a minha trajetória desde o início, e são parte da minha construção científica.

Muito obrigada a todos!

Resumo

A família Echimyidae Gray, 1825 é a mais diversa dos roedores neotropicais, sendo um exemplo de rápida diversificação ecológica e fenotípica ao longo da história evolutiva. Apresenta história taxonômica confusa, com vários nomes genéricos propostos, diversos abandonados, tornando os dados sobre a família e gêneros altamente instáveis. Entretanto, recentes trabalhos envolvendo estudos morfométricos e filogenéticos têm esclarecido as relações entre os membros da família e o diagnóstico das espécies tem sido melhor definido com o auxílio de dados cariotípicos. Dentro da família Echimyidae, *Proechimys* é o gênero mais complexo e taxonomicamente pouco entendido. Por cerca de um século, foi dividido em dois subgêneros: *Trinomys* restrito a Mata Atlântica e *Proechimys* distribuído de Honduras ao sul do Paraguai. Somente em 1996, através de estudos baseados em sequências de DNA mitocondrial, *Trinomys* foi elevado a gênero. *Trinomys*, por sua vez, é tratado como um dos gêneros mais complexos no leste do Brasil. Os dados cariotípicos presentes na literatura tem revelado que os gêneros *Proechimys* e *Trinomys* abrigam uma diversidade maior de táxons do que se reconhece, revelando a necessidade de uma investigação utilizando ferramentas com bom poder discriminatório. O presente trabalho teve como objetivo compilar, reinterpretar e determinar a diversidade cariotípica de *Trinomys* e *Proechimys*, associando cariótipos à distribuição geográfica e, por meio de filogenias geradas por sequências de DNA de genes nucleares e mitocondriais, associar clados e cariótipos. O primeiro capítulo aborda um estudo de filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys*, no qual cariótipos e sequências de 62 novos exemplares foram somados aos disponíveis na literatura para recuperar filogenias moleculares utilizando os genes citB e vWF, visando avaliar se o cariótipo é um bom marcador para a diagnose dos táxons. Os cariótipos de *T. paratus* e *T. setosus denigratus* foram descritos pela primeira vez. A reconstrução filogenética dos dados concatenados recuperou dez linhagens evolutivas com alto suporte, cada qual associada às espécies de *Trinomys*. Os cariótipos associados a cada clado são distintos entre si, não havendo compartilhamento de formas cariotípicas entre as espécies. Os cariótipos idênticos, aliados à ausência de monofiletismo e baixos valores de divergência genética, não dão suporte à manutenção da divisão entre *T. graciosus graciosus* e *T. g. bonafidei*, bem como de *T. albispinus minor* e *T. a. albispinus*. Entretanto, confirmam três subespécies para *T. setosus*: *T. s. setosus*, *T. s. elegans* e *T. s. denigratus*, recuperando o status de *denigratus* como subespécie válida. Assim, os resultados obtidos reforçam a importância dos dados cariotípicos na caracterização das

espécies de *Trinomys*. O segundo capítulo investiga a variação cariotípica em uma nova espécie de *Proechimys* do grupo *goeldii*, sendo analisados os cariótipos e as sequências de DNA mitocondrial de dois exemplares, um com $2n=15$ e outro com $2n=17$, e reconstruída a filogenia molecular com vários representantes de *Proechimys*, visando buscar evidências para identificar o mecanismo de evolução cariotípica e a posição filogenética desses espécimes no gênero *Proechimys*. Verificou-se que os exemplares com $2n=15$ e $2n=17$ recuperam um clado monofilético dentro do grupo de espécies *goeldii*, com baixa divergência intraclado (2,26%), distintos de *P. goeldii* e de *P. longicaudatus*, com divergência interclado de 12,78% e 12,06%, respectivamente. Ao contrário do que sugerido na literatura, no qual se sugere que a variação cariotípica é devido a um sistema múltiplo de determinação do sexo do tipo $XX:XY_1Y_2$, com $2n=17$ exclusivo a machos, nossos dados associados à reinterpretação e análise de todos os dados cariotípicos disponíveis na literatura, confirmou que se trata de um rearranjo em autossômicos, presente em ambos os sexos, e que o cariótipo com $2n=17$ seria resultado de um processo de fusão/fissão dos pares 1 e 7 (a partir de um hipotético $2n=18$ com todos os cromossomos acrocêntricos) e o cariótipo com $2n=16$ seria a forma homomórfica com rearranjo entre 1 e 7. Os cariótipos com $2n=15$ e $2n=14$ seriam as formas heteromórficas e homomórficas, respectivamente, do rearranjo entre os pares 2 e 3. A divergência genética desse clado é compatível com outros para divergência intraespecífica, envolvendo os indivíduos com $2n=15$ e $2n=17$, e equivalente à espécie distinta das demais válidas para *Proechimys*. Os dados reforçam a associação desses exemplares com as espécies que formam o grupo *goeldii* e ainda que devam pertencer a uma unidade taxonômica distinta, não descrita para *Proechimys*. O terceiro capítulo avalia a utilização do cariótipo como um marcador específico para o gênero *Proechimys* com a análise citogenética de 43 novos exemplares, os quais foram incorporados aos disponíveis na literatura, permitindo a compilação de 1125 exemplares cariotipados de *Proechimys*, com levantamento de 39 cariótipos a ele atribuídos. Também foi gerada uma filogenia molecular dos genes *vWF* e *citB*, que recuperou treze linhagens evolutivas, sendo duas ainda não descritas para espécies do gênero. Os cariótipos quando disponíveis foram associados a sua respectiva sequência de DNA na filogenia a fim de verificar se o cariótipo está associado aos clados monofiléticos. O presente estudo mostrou a formação de subclados em alguns táxons, com alto suporte dentro de cada um desses grupos. Em *P. cuvieri*, o clado A ($2n=28/FN=46$) apresentou 8,86% de divergência genética entre o clado B ($2n=28/FN=48$) e de 10,36% em relação ao clado C (sem cariótipo associado), enquanto que o clado B divergiu em 3%, do

clado C, sugerindo que A (*P. cuvieri*, $2n=28/FN=46$) é uma unidade taxonômica distinta de B ($2n=28/FN=48$) e C, que devem representar uma espécie ainda não descrita. Em *P. longicaudatus*, ocorreu a formação de dois clados divergentes entre si em 10,75%, tendo o clado associado ao cariótipo $2n=28/FN=50$ identificado como *P. longicaudatus*, enquanto que o associado a $2n=28/FN=48,50$ deve pertencer a uma unidade taxonômica ainda não descrita. Em *P. roberti*, o cariótipo $2n=30/FN=56$ no clado A mostrou baixa divergência em relação aos clados B (3,31%) e C (2,93%), mas alta divergência em relação ao clado D (6,94%), associado ao cariótipo $2n=30/FN=56$, com a morfologia do último par distinta do citótipo A. Nossa análise sugere que o clado D, com distribuição disjunta, alta divergência e cariótipo distinto deva corresponder à uma unidade taxonômica distinta. *Proechimys guyannensis* se apresentou como a espécie mais complexa devido à grande diversidade cariotípica associada à espécie. A filogenia mostrou três subgrupos: A, B e C, com relativamente baixa divergência, o clado B diverge em 2,45% do clado A, o clado C em 5,22% de B e o clado C em 5,49% de A. Embora baixa diversidade, a monofilia, localização geográfica disjunta e os cariótipos distintos permitiram associar os cariótipos de *P. guyannensis*: $2n=40/FN=50-52$, para o Amapá, Guiana Francesa e Venezuela (clado B); $2n=46/FN=50$ para o leste do Amazonas, Roraima e Pará (clado A) e $2n=38/52$ ao clado C para o extremo noroeste do Amazonas. Esse último apresenta variações cariotípicas marcantes e a maior divergência com os demais clados, podendo significar uma barreira no intercruzamento desses indivíduos com os dos demais clados. Devido à ausência de resolução filogenético dos basal em *P. guyannensis*, baixo número de exemplares analisados molecularmente e cariotipados, esforços adicionais são necessários, pois esse táxon pode representar um conjunto de espécies. Representantes de *P. steerei* não foram cariotipados no presente estudo mas a revisão bibliográfica permitiu associar cada cariótipo a sua respectiva sequência. São reconhecidos os citótipos $2n=24/ FN=40-42$, com variações do FN devido a eventos de inversão pericêntrica no par 3. Análise do presente estudo indicou que não há estruturação na distribuição dos cariótipos, podendo se considerar a variação do FN dentro de *P. steerei* (FN=40, 41, 42) como um polimorfismo cromossômico, sendo FN=41 a forma intermediária entre as duas homomórficas.

Palavras-chave: *Proechimys*, *Trinomys*, citogenética, cariótipo espécie-específico, filogenia molecular.

Abstract

The family Echimyidae Gray, 1825 is the most diverse of the neotropical rodents, being a good example of rapid ecological and phenotypic diversification throughout the evolutionary history. The taxonomic history is confused, with several generic names proposed and others abandoned. However, recent works involving morphometric and phylogenetic studies have clarified the relationships between family members and also the karyotypes has been helpful to the diagnosis of the species. Within the Echimyidae family, *Proechimys* is the most complex genus. For about a century, it was divided into two subgenres: *Trinomys* restricted to the Atlantic Forest and *Proechimys* distributed from Honduras to the south of Paraguay. Only in 1996, based on studies with mitochondrial DNA sequences, *Trinomys* was elevated to gender. *Trinomys*, in turn, is treated as one of the most complex genera in eastern Brazil. The karyotype data present in the literature have revealed that the genera *Proechimys* and *Trinomys* harbor a greater diversity of taxa than is recognized, revealing the need for an investigation using tools with good discriminatory power. The present work aimed to compile, reinterpret and determine the karyotype diversity of *Trinomys* and *Proechimys*, associating karyotypes to the geographic distribution and, through phylogenies generated by DNA sequences of nuclear and mitochondrial genes, associates clades and karyotypes. The first chapter addresses a study of molecular phylogeny and cytotaxonomy of *Trinomys*, in which karyotypes and sequences of 62 new specimens were added to those available in the literature to recover molecular phylogenies using the *citB* and *vWF* genes, in order to evaluate if the karyotype is a good marker for the diagnosis of taxa. The karyotypes of *T. paratus* and *T. setosus denigratus* were described for the first time. The phylogenetic reconstruction of the concatenated data recovered ten evolutionary lineages with high support, each associated to a *Trinomys* species. The karyotypes associated with each clade were distinct from each other, with no sharing of karyotype forms among species. Identical karyotypes, together with the absence of monophyletic and low values of genetic divergence, do not support the division of *T. gratiosus* into two subspecies (*T. g. gratiosus* and *T. g. bonafidei*), as well as *T. albispinus* (*T. a. minor* and *T. a. albispinus*). However, we confirmed the three subspecies for *T. setosus*: *T. s. setosus*, *T. s. elegans* and *T. s. denigratus*, recovering the status of a valid subspecies for *denigratus*. Thus, the results obtained reinforce the importance of karyotype data in the characterization of *Trinomys* species. The second chapter investigates the karyotype variation in a new species of *Proechimys* from the

goeldii group, and analyzed the karyotypes and mitochondrial DNA sequences of two specimens, one with $2n=15$ and one with $2n=17$, and reconstructed the molecular phylogeny with several representatives of *Proechimys*, aiming to find evidences to identify the mechanism of karyotype evolution and the phylogenetic position of these specimens in the genus *Proechimys*. It was verified that the specimens with $2n=15$ and $2n=17$ recovered a monophyletic clade within the *goeldii* species group, with low intraclade divergence (2,26%), distinct from *P. goeldii* and *P. longicaudatus*, with interclade divergence of 12,78% and 12,06%, respectively. Contrary to what has been suggested in the literature, in which the karyotype variation is due to a multiple sex determination system of type XX:XY1Y2, with $2n = 17$ exclusive to males, our data associated with reinterpretation and analysis of all karyotypic data available in the literature, confirmed that this is an autosomal rearrangement, present in both sexes, and that the karyotype with $2n=17$ would be resulted of a fusion/fission process of pairs 1 and 7 (from a putative $2n=18$, with all the acrocentric chromosomes) and the karyotype with $2n=16$ would be the homomorphic form with rearrangement between 1 and 7. The karyotypes with $2n=15$ and $2n=14$ are heteromorphic and homomorphic forms, respectively, of the rearrangement between the pairs 2 and 3. The genetic divergence within this clade is compatible with others for intraspecific divergence, involving individuals with $2n=15$ and $2n=17$, and equivalent to a new species other than those valid for *Proechimys*. Our data reinforce the association of this táxon to the *goeldii* species group and still deserves a formal species description. The third chapter evaluates the use of the karyotype as a specific marker for the genus *Proechimys*, with cytogenetic analysis of 43 new specimens, which were incorporated into those available in the literature, allowing the compilation of 1125 karyotype specimens of *Proechimys*, with a collection of 39 karyotypes. The molecular phylogeny of the vWF and citB genes recovered thirteen evolutionary lineages, two of which have not yet been described for species of the genus. The karyotypes, when available, were associated with their respective DNA sequence in phylogeny in order to verify if the karyotype is associated with the monophyletic clades. We showed the formation of subgroups in some taxa, with high support. In *P. cuvieri*, clade A ($2n=28/FN=46$) presented 8,86% of genetic divergence between clade B ($2n=28/FN=48$) and 10,36% in relation to clade C, with no associated karyotype), whereas clade B differed by 3% from clade C, suggesting that A (*P. cuvieri*, $2n=28/FN=46$) is a taxonomic unit other than B ($2n =28/ FN=48$) and C, which should represent a species still to be described. In *P. longicaudatus*, two clades diverged from each other by 10.75%, and the clade associated with the $2n=28/FN=50$ karyotype was

identified as *P. longicaudatus*, while that associated with $2n=28/FN=48-50$ should belong to a taxonomic unit not yet described. In *P. roberti*, the karyotype $2n=30/FN=56$ in clade A showed low divergence in relation to clades B (3,31%) and C (2,93%), but high divergence in relation to clade D (6,94%), associated with the karyotype $2n=30/FN=56$, but the morphology of the last pair is distinct from the cytotype in A. Our analysis suggests that the clade D with disjunct distribution, high divergence and distinct karyotype should correspond to a distinct taxonomic unit. *Proechimys guyannensis* presented as the most complex species due to the great karyotypic diversity associated to this species. The phylogeny showed three subgroups: A, B and C, with relatively low divergence, clade B diverged in 2.45% of clade A, clade C in 5,22% of B and clade C in 5,49% of A. Although low diversity, monophyly, disjunct geographical location and distinct karyotypes allowed to associate the karyotypes of *P. guyannensis*: $2n=40/FN=50-52$, for Amapá, French Guiana and Venezuela (clade B); $2n=46/FN=50$ to the east of Amazonas, Roraima and Pará (clade A) and $2n=38/52$ to clade C to the extreme northwest of Amazonas. The latter presents remarkable karyotypic variations and the greater divergence when compared to the other clades, could represent an effective barrier to the intercrossing between these individuals and those of the other clades. Due to the absence of phylogenetic resolution of the basal in *P. guyannensis*, low number of specimens analyzed under molecular and karyotype approaches, additional efforts are necessary, since this taxon can represent a set of species. Representatives of *P. steerei* were not karyotyped in this study but the review in literature allowed to associate each karyotype with their respective sequence. The cytotypes $2n=24/FN=40-42$, with variation of the FN due to pericentric inversion events in pair 3 are recognized. Our analysis indicated no structuring in the distribution of the karyotypes and the variation of the FN within *P. steerei* (FN=40-42) as a chromosomal polymorphism, with FN=41 being the intermediate form between the two homomorphic.

Keywords: *Proechimys*, *Trinomys*, cytogenetics, species-specific karyotype, molecular phylogeny.

Apresentação

A família Echimyidae Gray, 1825 é a mais diversa dos roedores neotropicais, compreendendo 22 gêneros e 88 espécies (Emmons et al., 2015), sendo um exemplo de rápida diversificação ecológica e fenotípica ao longo da história evolutiva (Fabre et al., 2012). A história taxonômica desse grupo é muito confusa, com vários nomes genéricos propostos, diversos abandonados, tornando os dados sobre a família e gêneros altamente instáveis. Recentes revisões e análises filogenéticas têm esclarecido as relações entre os membros da família, mas ainda pouco se sabe a respeito da composição e da história evolutiva da família em todos os níveis taxonômicos (Lara et al., 1996; Leite e Patton, 2002; Carvalho e Salles 2004; Galewski et al., 2005; Iack-Ximenes, 2005; Fabre et al., 2012).

Nas últimas décadas, análises da variação cromossômica foram úteis no reconhecimento de novas espécies, na resolução de problemas taxonômicos e relações filogenéticas entre táxons difíceis de serem resolvidos baseando-se exclusivamente em caracteres morfológicos, como ocorreu em algumas espécies de roedores sigmodontinos (Yonenaga et al., 1975; Bonvicino e Geise, 1995; Langguth e Bonvicino, 2002; Bonvicino e Geise, 2006; Almeida et al., 2007; Paresque et al., 2009).

O diagnóstico das espécies de Echimyidae nem sempre foi obtido com morfologia (ex. *Phyllomys*, *Trinomys*, *Proechimys* e *Thrichomys*), sendo as relações taxonômicas melhores definidas com o auxílio de dados cariotípicos (Reig et al., 1980; Gardner e Emmons, 1984; Bonvicino, et al., 2002; Pessoa et al., 2004; Corrêa et al. 2005; Machado et al., 2005). Porém, ainda há confusão taxonômica devido à grande variação morfológica intra e interespecífica (Lara e Patton, 2000).

É importante destacar que grande parte dos dados cariotípicos em Echimyidae são baseados disponíveis em bibliografia não publicada (comunicações pessoais, dissertações e teses) e restritas à descrição ou citação do número diplóide (2n) e número de braços autossômicos (FN).

Essa falta de dados citogenéticos ocorre pela necessidade de manter o animal vivo, agravada pela problemática de que, em maneira geral, as preparações cromossômicas de Echimyidae não apresentam uma boa qualidade, pelo grande número de cromossomos e da característica inerente à estrutura cromossômica, que torna os cromossomos extremamente curtos, condensados, que dificulta a identificação da morfologia de cromossomos menores, obtenção de bandas longitudinais e contagem do número de braços autossômicos. Parte das

controvérsias observadas nos cariótipos se deve a dados de NF incongruentes. Ainda, verifica-se que alguns gêneros apresentam dados cariológicos controversos, com cariótipos descritos, mas não associados à espécie (ex. *Proechimys*, *Phyllomys*, *Thrichomys*) ou espécies distintas apresentando o mesmo cariótipo; e espécies sem a descrição cariotípica (ex. *Carterodon* e *Diplomys*).

Dentro da família Echimyidae *Proechimys* é o gênero mais complexo e taxonomicamente pouco entendido (da Silva, 1998; Patton et al., 2000; Voss et al., 2001), com 22 espécies e cerca de 39 cariótipos conhecidos. É o gênero de roedor mais especioso da família Echimyidae e por cerca de um século foi tradicionalmente dividido em dois subgêneros, *Trinomys*, restrito a Mata Atlântica e *Proechimys*, distribuído de Honduras ao sul do Paraguai. Somente em 1996, Lara e colaboradores, através de estudos baseados em sequências de DNA mitocondrial, elevaram *Trinomys* ao status de gênero.

Trinomys, por sua vez é representado por dez espécies (Pessôa et al, 2015) e tratado como um dos gêneros mais complexos no leste do Brasil quanto ao estabelecimento de limites morfológicos que mapeiam as unidades específicas no gênero. Em relação aos dados cariotípicos, possui problemas como a presença de espécies diferentes compartilhando o mesmo cariótipo (*T. albispinus* e *T. dimidiatus* com $2n=60/FN=116$) e espécies diferentes com complementos cromossômicos similares (*T. yonenagae* com $2n=54/FN=104$, *T. setosus elegans* com $2n=56/FN=104$, *T. moojeni* com $2n=56/FN=106$).

Nesse contexto, os gêneros *Proechimys* e *Trinomys* são bons grupos para estudos de evolução cromossômica. Com base na diversidade cariotípica presente na literatura, há evidências de que espécies pertencentes a esses gêneros podem abrigar uma diversidade maior de táxons do que se reconhece atualmente, revelando a necessidade de uma investigação utilizando ferramentas com bom poder discriminatório, a partir de uma amostragem representativa da distribuição geográfica do taxon.

Assim, o presente trabalho pretendeu analisar, de forma abrangente e conciliadora, a diversidade cariotípica observada em *Trinomys* e *Proechimys*, corrigindo distorções geradas pelas análises independentes dos cariótipos disponíveis para o gênero, associando-os à distribuição geográfica e principalmente, por meio de filogenias geradas por sequências de DNA de genes nucleares e mitocondriais, associar clados e cariótipos. O primeiro capítulo aborda a filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys*. O segundo capítulo investiga a variação cariotípica em uma nova espécie de *Proechimys* do grupo *goeldii* e o terceiro capítulo avalia a utilização do cariótipo como um marcador específico

para o gênero *Proechimys*. Ao final desse estudo, verificamos que estamos lidando com a ponta do iceberg em se tratando de diversidade genética em Echimyidae.

Referências

Bonvicino CR e Geise L (2006) Relevância dos estudos citológicos na taxonomia de alguns gêneros de Oryzomyini (Rodentia, Sigmodontinae). In: Freitas TRO, Vieira E, Pacheco S, Christoff A (Org.). Mamíferos do Brasil: genética, sistemática, ecologia e conservação. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora.

Bonvicino CR, Lindbergh SM e Maroja LS (2002) Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. *Brazilian J Biol* 62:765–774. doi: 10.1590/S1519-69842002000500005.

Bonvicino CR e Geise L (1995) Taxonomic status of *Delomys dorsalis collinus* Thomas, 1917 (Rodentia, Cricetidae) and description of a new karyotype. *Zeitschrift für Saugtierkunde* 60:124-127.

Carvalho GAS e Salles LO (2004) Relationships among extant and fossil echimyids (Rodentia: Hystricognathi). *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 142, p. 445–477. doi:10.1111/j.1096-3642.2004.00150.x.

Corrêa MMO, Lopes MOG, Câmara EVC, Oliveira LC e Pessoa LM (2005) The Karyotypes of *Trinomys moojeni* (Pessoa, Oliveira & Reis 1992) and the *Trinomys setosus elegans* (Lund, 1842) (Rodentia, Echimyidae) from Minas Gerais, eastern Brazil. *Arq do Mus Nac* 63:169–174.

da Silva MNF (1998) Four new species of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from the western Amazon of Brazil. *Proc Biol Soc Washingt* 111:436–471.

Emmons LH, Leite YLR e Patton JL (2015) Family Echimyidae Gray, 1825. In: Patton JL, Pardiñas UFJ and D'Elía GD (Eds), *Mammals of South America*, Volume 2, Rodents, University of Chicago Press, Chicago, p. 950-989.

Gardner AL e Emmons L (1984) Species Groups in *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) as Indicated by Karyology and Bullar morphology. *J Mammal* 65:10–25.

Fabre PH, Galewski T, Tilak MK e Douzery EJP (2013) Diversification of South American spiny rats (Echimyidae): A multigene phylogenetic approach. *Zool Scr* 42:117–134. doi: 10.1111/j.1463-6409.2012.00572.x

Galewski T, Mauffrey JF, Leite YLR, Patton JL e Douzery EJP (2005) Ecomorphological diversification among South American spiny rats (Rodentia; Echimyidae): A phylogenetic and chronological approach. *Mol Phylogenet Evol* 34:601–615. doi: 10.1016/j.ympev.2004.11.015

Iack-Ximenes, GE (2005) Revisão de *Trinomys* Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae). Universidade de São Paulo, São Paulo, 265 pp.

Lara MC e Patton JL (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zool J Linn Soc* 130:661–686. doi: 10.1006/zjls.2000.0240

Lara MC, Patton JL e da Silva MNF (1996) The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Mol Phylogenet Evol* 5:403–413. doi: 10.1006/mpev.1996.0035

Langguth A e Bonvicino CR (2002) The *Oryzomys subflavus* species group, with description of two new species (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). *Arquivos do Museu Nacional* 60:285-294.

Leite YLR e Patton JL (2002) Evolution of South American spiny rats (Rodentia, Echimyidae): The star-phylogeny hypothesis revisited. *Mol Phylogenet Evol* 25:455–464. doi: 10.1016/S1055-7903(02)00279-8

Machado T, Maria MJ, Leal-Mesquita ER, Carmignotto AP e Yonenaga-Yassuda Y (2005) Nine karyomorphs for spiny rats of the genus *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. *Genet Mol Biol* 28:682–692. doi: 10.1590/S1415-47572005000500007

Paresque R, Christoff AU e Fagundes V (2009) Karyology of the Atlantic forest rodent *Juliomys* (Cricetidae): A new karyotype from southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 32:301-305.

Patton JL, Da Silva MNF e Malcolm JR (2000) Mammals of the Rio Juruá and the Evolutionary and Ecological Diversification of Amazonia. Bull Am Museum Nat Hist 244:1. doi: 10.1206/0003-0090(2000)244<0001:MOTRJA>2.0.CO;2

Pessôa LM, Tavares WC, Oliveira JA e Patton JL (2015) Genus *Trinomys* Thomas, 1921. In: Patton, J.L., Pardiñas, U.F.J. & D'Elía, G. (Eds), Mammals of South America. Vol. 2. Rodents. University Of Chicago Press, Chicago.

Pessoa LM, Correa MMD, De Oliveira JA e Lopes MOG (2004) Karyological and morphometric variation in the genus *Thrichomys* (Rodentia : Echimyidae). Mamm Biol 69:258–269. doi: 10.1078/1616-5047-00141

Reig OA, Aguilera M, Barros MA e Useche M (1980) Chromosomal speciation in a Rassenkreis of Venezuelan spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). Genetica 52–53:291–312. doi: 10.1007/BF00121839

Voss RS, DP Lunde e NB Simmons (2001) The mammals of Paracou, French Guiana: A neotropically lowland rainforest fauna. Part 2. Nonvolant species. Bulletin of the American Museum of Natural History Number 263 :3-236. doi: [http://dx.doi.org/10.1206/0003-0090\(2001\)263<0003:TMOPFG>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1206/0003-0090(2001)263<0003:TMOPFG>2.0.CO;2)

Yonenaga Y (1975) Karyotypes and chromosome polymorphism in Brazilian rodents. Caryologia 28:269–286. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00087114.1975.10796617>

Lista de Tabelas

Capítulo 1. Filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys* Thomas, 1921

(Rodentia, Echimyidae)

Tabela 1. Número de sequências utilizadas no presente estudo para cada gene.....	30
Tabela 2. Dados cariotípicos disponíveis para <i>Trinomys</i> , com descrição do número diplóide (2n), número de braços autossômicos (FN) e morfologia dos autossomos e cromossomos sexuais (M/SM = cromossomos de dois braços, A/St = cromossomos de um braço).....	36
Anexo 1. Relação dos exemplares utilizados no presente estudo para as análises citogenéticas.....	61
Anexo 2. Relação de exemplares utilizados nos estudos moleculares, contendo informações do cariótipo (quando houver), localidades geográficas e o código de acesso do GenBank no caso de sequências retiradas do mesmo.....	64
Anexo 3. Divergências genéticas intraespecíficas (em vermelho) e interespecíficas (quadrante abaixo) em <i>Trinomys</i> , baseada em 150 sequências do gene citocromo b, conforme Anexo 2. Acima estão os desvios padrão.....	75
Anexo 4. Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de <i>T. gratosus</i> (em cinza) e as demais espécies de <i>Trinomys</i> do presente estudo.....	76
Anexo 5. Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de <i>T. setosus</i> (em cinza) e as demais espécies de <i>Trinomys</i> do presente estudo	77
Anexo 6. Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de <i>T. albispinus</i> (em cinza) e as demais espécies de <i>Trinomys</i> do presente estudo.....	78
Capítulo 2. Variação cariotípica do tipo fusão cêntrica em uma nova espécie de <i>Proechimys</i> do grupo <i>goeldii</i> (2n=15-17)	
Tabela 1. Compilação dos cariótipos dos menores valores de 2n descritos na literatura e apresentados no presente estudo para <i>Proechimys</i>	88
Anexo 1. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>Proechimys</i>	96
Anexo 2. Códigos dos exemplares utilizados no presente estudo para a filogenia molecular.....	97
Capítulo 3. Capítulo 3. Cariótipos espécie-específicos e citotaxonomia no gênero <i>Proechimys</i> (Rodentia: Echimyidae)	
Tabela 1. Diferenças entre as formas cariotípicas de <i>P. cuvieri</i>	114
Tabela 2: Comparação citogenética par-a-par, e número mínimo de mudanças cromossômicas que diferenciam os cariótipos de <i>P. guyannensis</i>	127
Anexo 1. Relação dos exemplares de <i>Proechimys</i> utilizados no presente estudo para análises citogenéticas.....	140
Anexo 2. Compilação de todos os dados cariotípicos descritos para representantes de <i>Proechymis</i>	142

Anexo 3. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>Proechimys</i>	162
Anexo 4. Relação de exemplares de <i>Proechimys</i> analisados nas análises filogenéticas no presente estudo.....	163
Anexo 5. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>P. cuvieri</i> e subgrupos relacionados.....	176
Anexo 6. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>P. longicaudatus</i> e subgrupos relacionados.....	177
Anexo 7. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>P. roberti</i> e subgrupos relacionados.....	178
Anexo 8. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>P. guyannensis</i> e subgrupos relacionados.....	179
Anexo 9. Distâncias genéticas molecular do gene citocromo b de <i>P. steerei</i> e subgrupos relacionados.....	180

Lista de Figuras

Capítulo 1. Filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys* Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae)

- Figura 1.** Cariótipo de *Trinomys paratus* com $2n=58/FN=112$, em coloração convencional (a), bandeamento C mostrando blocos heterocromáticos coincidentes com a Ag-RON, identificados pelas setas (b), e localização das Ag-RONs no par 7, identificadas pelas setas (c)..... 32
- Figura 2 .** Cariótipo de *Trinomys graciosus graciosus* com $2n=56/FN=108$, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 10 identificado pelas setas (b) e bandamento C mostrando pequenos blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas maioria dos cromossomos (c)..... 33
- Figura 3.** Cariótipo de *Trinomys setosus* com $2n=56/FN=108$ em coloração comum (a) e coloração das Ag-RONs no par 9, identificado pela seta (b)..... 34
- Figura 4.** Cariótipo de *Trinomys albispinus*, com $2n=60/FN=116$, em coloração comum (a), coloração da Ag-RON indicando o par 10 na seta (b) e a hibridação *in situ* fluorescente com sonda telomérica evidenciando os telômeros em todos os cromossomos (c)..... 35
- Figura 5.** Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$ 40
- Figura 6.** Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, destacando as subespécies *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar, estão descritos..... 41
- Figura 7.** Localidades de *Trinomys graciosus* e as subespécies *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*. 42
- Figura 8.** Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, destacando os clados A, B e C correspondentes às subespécies de *T. setosus*, respectivamente, *T. s. denigratus*, *T. s. elegans* e *T. s. setosus*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar, estão descritos..... 44

Figura 9. Localidades de <i>Trinomys setosus</i> e as subespécies <i>T. s. setosus</i> , <i>T. s. elegans</i> e <i>T. s. denigratus</i>	45
Figura 10. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Trinomys</i> , construída com sequências de CitB e vWF, destacando os clados A e B da espécie <i>T. albispinus</i> . Valores indicam probabilidade posterior Bayesiana (PPB).....	47
Capítulo 2. Variação cariotípica do tipo fusão cêntrica em uma nova espécie de <i>Proechimys</i> do grupo <i>goeldii</i> (2n=15-17)	
Figura 1. Cariótipo em coloração comum: a. Exemplar fêmea (MZUSP31924) com 2n=15 e FN=16. b. Exemplar macho (LPC742) com 2n=17 e FN=16. c. Cariótipo de 2n=17 do presente estudo, organizado segundo Amaral et al. (2013)...	86
Figura 2. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (CitB), com destaque para os grupos <i>goeldii</i> e <i>P. longicaudatus</i> . Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar se encontram associados a respectiva sequência.....	87
Capítulo 3. Cariótipos espécie-específicos e citotaxonomia no gênero <i>Proechimys</i> (Rodentia: Echimyidae)	
Figura 1. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$	111
Figura 2. Cariótipo de <i>Proechimys cuvieri</i> com 2n=28/FN=46, em coloração convencional (a), bandamento C mostrando blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas dos pares de 7 a 10 (b) localização das Ag-RONs no par 8 (c)....	113
Figura 3. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , com destaque para os grupos de <i>P. cuvieri</i> e seus subgrupos, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.....	116
Figura 4. Mapa de distribuição de <i>P. cuvieri</i> , com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos.....	117

Figura 5. Cariótipo de <i>Proechimys longicaudatus</i> com 2n=28/FN=50, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b).....	117
Figura 6. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , com destaque para os grupos de <i>P. longicaudatus</i> e <i>Proechimys</i> sp2, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) ≥ 0,95. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.....	119
Figura 7. Mapa de distribuição de <i>P. longicaudatus</i> e <i>Proechimys</i> sp2, com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos.....	120
Figura 8. Cariótipo de <i>Proechimys roberti</i> com 2n=30/FN=56, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b), bandamento C mostrando blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas dos pares de 7 a 10 (c), bandamento G (d).....	123
Figura 9. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , com destaque para os grupos de <i>P. roberti</i> , construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) ≥ 0,95. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.....	124
Figura 10. Mapa de distribuição dos espécimes identificados como <i>P. roberti</i> com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos.....	125
Figura 11. Cariótipo de <i>Proechimys guyannensis</i> com 2n=46FN=50, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b)	126
Figura 12. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , com destaque para os grupos de <i>P. guyannensis</i> , construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) ≥ 0,95. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.....	130
Figura 13. Mapa de distribuição dos espécimes identificados como <i>P. guyannensis</i> com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos.....	131
Figura 14. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de <i>Proechimys</i> , com destaque para os grupos de <i>P. steerei</i> , construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) ≥ 0,95. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.....	134

Sumário

Agradecimentos	4
Resumo	6
Abstract	10
Apresentação	13
Lista de Tabelas	18
Lista de Figuras	20
Capítulo 1. Filogenia molecular e citotaxonomia de <i>Trinomys</i> Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae)	24
Capítulo 2. Variação cariotípica do tipo fusão cêntrica em uma nova espécie de <i>Proechimys</i> do grupo <i>goeldii</i> (2n=15-17).....	79
Capítulo 3. Cariótipos espécie-específicos e citotaxonomia no gênero <i>Proechimys</i> (Rodentia: Echimyidae)	102
Conclusões	181

CAPÍTULO 1

**Filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys* Thomas,
1921 (Rodentia, Echimyidae)**

Artigo a ser submetido na revista BMC Genetics

Filogenia molecular e citotaxonomia de *Trinomys* Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae)

Resumo

Trinomys é um gênero de roedores terrestres da família Echimyidae, distribuídos no leste do Brasil pela Mata Atlântica e Caatinga. Por mais de um século foram considerados subgênero de *Proechimys*, até que grandes esforços nos estudos envolvendo morfologia, análises biogeográficas e análises de sequências de DNA mitocondrial, permitiram elevá-lo a *status* genérico. Atualmente, *Trinomys* é considerado um dos gêneros mais diversos em Hystricognathi, com dez espécies e seis subespécies. As espécies desse grupo podem ser diagnosticadas com base em caracteres morfológicos, entretanto há uma grande sobreposição de características, tornando-o complexo do ponto de vista taxonômico e sistemático. Assim, a diagnose das espécies é facilitada com os dados cariotípicos. No presente trabalho, foram analisados os cariótipos de 62 exemplares e comparados aos dados disponíveis na literatura. Foram geradas filogenias moleculares utilizando os genes *citB* e *vWF* de 150 representantes de *Trinomys*, visando avaliar se o cariótipo é um bom marcador para a diagnose dos táxons nesse gênero, através da associação dos dados cariotípicos disponíveis aos ramos recuperados nas árvores filogenéticas. Os cariótipos de *T. paratus* e *T. s. denigratus* são descritos pela primeira vez no presente estudo. A reconstrução filogenética dos dados concatenados recuperou dez linhagens evolutivas com alto suporte, cada qual associada às espécies de *Trinomys*. Os cariótipos associados a cada clado são distintos entre si, não havendo compartilhamento de formas cariotípicas entre as espécies. O presente estudo, utilizando evidências citogenéticas aliadas aos baixos valores de divergência genética, não dão suporte à divisão entre *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*, bem como entre *T. a. minor* e *T. a. albispinus*. Entretanto, confirmam três subespécies para *T. setosus*: *T. s. setosus*, *T. s. elegans* e *T. s. denigratus*, recuperando o status de *denigratus* como subespécie válida. Assim, os resultados obtidos no presente estudo reforçam a importância dos dados cariotípicos na caracterização das espécies de *Trinomys* e mostram que o número diploide (2n) e número fundamental (FN) devem ser usados como caracteres diagnósticos no gênero, que apresenta cariótipos espécie-específicos.

Palavras-chave: *Trinomys*, subespécies, cariótipo, filogenia molecular.

Introdução

Trinomys Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae) é um gênero de roedores de espinhos de hábito terrestre, distribuídos na Caatinga e principalmente na Mata Atlântica do Leste do Brasil, abrangendo os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia e Sergipe (Rocha, 1995; Lara e Patton, 2000; Lara et al., 2002; Corrêa et al., 2005; Pessôa et al., 2005; Attias et al., 2009; Pessôa et al., 2015). Esse gênero possui uma história taxonômica complexa, sendo classificado como subgênero de *Proechimys* por mais de um século devido às similaridades craniodentais e corpóreas que compartilham com esse grupo. Somente a partir de 1996, a associação de vários estudos envolvendo filogenias moleculares, dados morfológicos de caracteres dentários e análises biogeográficas trouxe evidências para apoiar a separação de *Trinomys* como um gênero pleno (Lara et al., 1996; Lara e Patton, 2000; Carvalho e Salles, 2004; Attias et al., 2009).

Atualmente, *Trinomys* possui dez espécies (*T. albispinus*, *T. dimidiatus*, *T. eliasi*, *T. graciosus*, *T. iheringi*, *T. mirapitanga*, *T. moojeni*, *T. paratus*, *T. setosus* e *T. yonenagae*) e seis subespécies (*T. a. albispinus*, *T. a. minor*, *T. g. bonafidei*, *T. g. graciosus*, *T. s. setosus*, *T. s. elegans*) reconhecidas por meio de dados morfológicos e moleculares. Apesar do grande avanço na taxonomia do grupo, com a descrição de novas espécies, a caracterização da distribuição geográfica e a identificação de variações intraespecíficas (Lara e Patton, 2000; Carvalho e Salles, 2004; Attias et al., 2009; Dalapicolla e Leite, 2015), o gênero *Trinomys* ainda é um dos mais complexos entre os Hystricognathi do leste do Brasil (Pessoa et al., 2015).

A complexidade do grupo é decorrente de uma grande variação morfológica intra e interpopulacional e por apresentarem muitos caracteres primitivos e poucos derivados, o que gera um número reduzido de sinapomorfias (Lara et al., 1996; Lara e Patton, 2000). Diante desse contexto, é desafiador o estabelecimento dos limites que distinguem as espécies em *Trinomys* (Lara et al., 2002).

Do ponto de vista cariotípico, das dez espécies, somente *T. mirapitanga* e *T. paratus* não apresentam cariótipos associados, enquanto os demais mostram pelo menos um cariótipo por espécie. Embora escassos os estudos com abordagem integrativa envolvendo o cariótipo como caráter diagnóstico (Yonenaga-Yassuda et al., 1985; Leal-Mesquita et al., 1992; Corrêa et al., 2005; Pessôa et al., 2005; Gomes e Souza, et al., 2006), é consenso entre esses estudos que a diagnose das espécies/subespécies em *Trinomys* é facilitada com a análise dos cariótipos. A distinção entre *T. moojeni* e *T. setosus elegans*, ambas espécies coletadas na região da Serra do Cipó em Minas Gerais, foi possível por

apresentarem diferentes composições cariotípicas, com $2n=56/FN=106$ e $2n=56/FN=104$, respectivamente (Corrêa et al., 2005). Outro bom exemplo da importância do cariótipo no grupo foi verificado em Leal-Mesquita et al. (1992), que descreveram o cariótipo de $2n=54/FN=104$ para exemplares coletados em Ibiraba (Bahia), sugerindo uma nova espécie, que mais tarde foi descrita por Rocha (1995) como *T. yonenagae*.

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o cariótipo é um bom marcador para a diagnose dos táxons em *Trinomys*. Para tanto, pretendeu-se calcular as divergências genéticas entre as espécies e subespécies e avaliar se cada agrupamento monofilético recuperado na filogenia molecular está associado a um citótipo único, corroborando as evidências de que o cromossomo é uma boa ferramenta para a identificação das espécies e subespécies em *Trinomys*.

Materiais e Métodos

As etapas do presente estudo envolveram levantamentos de dados da literatura, tanto cariotípicos, quanto de sequências de DNA, com reanálise de todos os cariótipos publicados; a análise cromossômica de novos exemplares; geração de novas sequências de indivíduos com cariótipo descrito e análises de filogenias envolvendo exemplares cariotipados e não cariotipados.

O levantamento dos cariótipos disponíveis na literatura para *Trinomys* foi realizada até Junho de 2016, com registro de dados citogenéticos presentes em artigos, monografias, teses, dissertações, livros, resumos de congressos e encontros científicos. A busca se baseou em bibliotecas virtuais, acervos de laboratórios, acervos pessoais e na internet, utilizando as bases de dados bibliográficos como Google, Google acadêmico, Scopus, Web of Knowledge e na plataforma Lattes, através das palavras: *cytogenetics*, citogenética, *karyotype*, cariótipo, cromossomo, *chromosome*, *cromossomas*, em conjunto com o nome do gênero *Trinomys*.

As informações cariotípicas coletadas foram organizadas em uma planilha, contendo o número diplóide ($2n$), o número fundamental (FN), morfologia dos autossomos, morfologia do par sexual, coloração, tipos de bandeamentos cromossômicos, espécie associada, as localidades (município, estado e país), coordenadas geográficas e as referências bibliográficas. Para inclusão do dado na planilha foram considerados os trabalhos que continham ao menos a citação do número diplóide do exemplar. Consideraram-se cariótipos distintos aqueles que apresentaram diferenças no $2n$, FN,

morfologia dos autossomos e/ou do par sexual. Para as análises comparativas foram considerados apenas os trabalhos que apresentavam uma figura do cariótipo ou a descrição completa da morfologia dos pares autossômicos e dos sexuais.

Para a padronização do cariótipo das espécies/subespécies, a classificação da morfologia dos cromossomos seguiu-se a seguinte metodologia: **M**, para metacêntrico, **SM** para submetacêntrico, **ST** para subteloentrico (cromossomos de dois braços) e **A** para acrocêntrico/teloentrico (cromossomos de um braço). Para classificar o tamanho do cromossomo utilizaram-se as letras sobrescritas **g** para grande, **m** para médio, **p** para pequeno e **mi** para minúsculos.

Análises citogenéticas

Foi realizada a análise citogenética de 62 exemplares, sendo 35 fêmeas e 27 machos, coletados nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo (Anexo 1). Os cromossomos foram obtidos a partir da preparação direta de medula óssea, após injeção *in vivo* de solução de colchicina 0,1% incubadas em solução de KCl (0,075M), fixadas em solução Carnoy (metanol/ácido acético 3: 1), pingadas em lâminas e secas ao ar, segundo Fagundes (1993). As análises se basearam em coloração comum, padrões de bandeamento C (BC, Sumner, 1972) e da coloração das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-RONs, Howell e Black, 1980). As regiões teloméricas foram identificadas nos cromossomos usando a técnica de Híbridaçãõ *in situ* Fluorescente (FISH) com o kit comercial “DAKO Telomere PNA FISH Kit/Cy3 (K 5326)” e as imagens capturadas usando-se o software ISIS (MetaSystems) em microscópio Carl Zeiss.

Foram contadas em média 20 metáfases por indivíduo tanto para o estabelecimento do número diplóide (2n) e do número de braços autossômicos (FN), após coloração convencional, como para a identificação dos cromossomos portadores das RONS e suas posições relativas. As melhores metáfases foram fotodocumentadas e editadas possibilitando a montagem e comparação dos cariogramas.

Sequenciamento de DNA e análises moleculares

Foram geradas as matrizes de dados de sequências de DNA para *Trinomys* de cada gene analisado, 150 sequências do mitocondrial citocromo b (CitB) e 50 sequências do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF), assim como uma matriz com os dados concatenados (Anexo 2).

O DNA foi extraído de amostras de músculo, fígado ou de preparações citogenéticas em suspensão ou em lâminas utilizando o protocolo de extração salina descrito por Bruford et al. (1992). Para a extração do DNA presente nas lâminas precedeu-se à raspagem do material contendo medula, seguida de lavagem em solução salina de PBS 1X. Na extração do DNA de medula em suspensão, o material citogenético foi previamente submetido a duas lavagens em PBS 1X e seguiu-se o protocolo padrão de extração de DNA. Foram geradas sequências parciais do CitB com 801 pb utilizando os primers MVZ05 e MVZ16 (Smith e Patton, 1993) e do vWF com 954 pb utilizando os primers V2 e W1 (Huchon et al., 1999). Os produtos de PCR foram purificados com a enzima ExoSap e sequenciados em uma única direção com os primers MVZ05 e V2 em sequenciador automático ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Inc.) no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Espírito Santo (NGACB-UFES). As sequências obtidas foram submetidas à ferramenta BLAST no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015), alinhadas e conferidas manualmente usando o mesmo programa.

As sequências utilizadas foram geradas no presente estudo ou cedidas pelos pesquisadores, Dr. James Patton, do Museu de Zoologia de Vertebrados, Berkeley (EUA) e Dr. Yuri Leite, da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória (Brasil) e ainda obtidas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Tabela 1). A partir dos dados do presente estudo, 32% e 84,3% dos exemplares com sequências do CitB e vWF da filogenia obtida, respectivamente, possuem o cariótipo conhecido.

A fim de determinar os haplótipos e detectar a saturação de substituições nas diferentes posições dos códons foi utilizado o programa DAMBE5 (Xia, 2013). Quando as sequências foram idênticas, uma única sequência por localidade foi mantida. Não foi detectada a saturação nas bases. Para as inferências filogenéticas foram gerados cladogramas utilizando dois critérios de otimização: Máxima Verossimilhança (ML), com 1000 replicações, na plataforma online PhyML 3.0 (Guindon et al., 2010) e Inferência Bayesiana (IB) com 20⁶ replicações no programa Mr. Bayes 3.2 (Ronquist et al., 2012). O melhor modelo de substituição nucleotídica para as inferências de ML e IB foi determinado no programa jModelTest 2.1.10 (Darriba e Posada, 2012), permitindo três e onze esquemas de substituição utilizando, respectivamente, os critérios de informação de Akaike corrigido (AICc) e o Bayesiano (BIC). Foram considerados clados confiáveis apenas aqueles que apresentaram valores de *bootstrap* acima de 75 (ML) e probabilidades posteriores acima de 0,95 (IB). *Clyomys laticeps* (AF422918/AJ849306) e *Euryzygomatomys spinosus* (EU544667/AJ849319) foram utilizados como grupos

externos. As análises das sequências de cada gene foram realizadas de forma independente e posteriormente concatenadas. Os cálculos de divergência genética foram feitos no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015) por meio do modelo evolutivo Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980).

Tabela 1 – Número de sequências utilizadas no presente estudo para cada gene.

Gene	Sequências geradas	Sequências doadas	GenBank	Com cariótipo	Total
Cit b	26	3 ¹ , 23 ²	98	48 (32%)	150
vWF	19	23 ²	8	42 (84%)	50

¹JJPaton; ²YLeite

Resultados

Análises citogenéticas

A partir das análises citogenéticas realizadas nos 62 espécimes do presente estudo (Tabela 2, Anexo 1) foram encontrados quatro cariótipos, sendo dois inéditos na literatura.

2n=58, FN=112 - Trinomys paratus

Cariótipo: 28 pares autossômicos com dois braços. Os cromossomos sexuais são do tipo X submetacêntrico grande e o Y acrocêntrico pequeno. A fórmula cariotípica é dada por $28^M + X^{Mg} + Y^{Ap}$ (Figura 1a). A heterocromatina (HC) se distribui em pequenos blocos centroméricos em todos os pares e na região distal do braço longo do cromossomo X (Figura 1b). A marcação pela Ag-RON ocorreu em um par, sendo coincidente com a região da constrição secundária do par 10 (Figura 1c). Esse cariótipo é inédito na literatura.

Localidades: Cariacica, Guarapari, Serra, Viana - Espírito Santo.

Amostra: 16♀, 17♂

2n=56, FN=108 - Trinomys graciosus graciosus

Cariótipo: 27 pares autossômicos com dois braços (m, metacêntricos/submetacêntricos). Os cromossomos sexuais são do tipo X submetacêntrico grande e o Y submetacêntrico pequeno. A fórmula cariotípica é dada por $27^M + X^{SMg} + Y^{SMp}$ (Figura 2a). O par 10 apresenta uma constrição secundária, coincidente com a marcação pela Ag-RONs (Figura 2b). A HC se distribui em pequenos blocos centroméricos em todos os pares (Figura 2c).

Localidades: Domingos Martins, Ibitirama, Irupi, Muqui, Santa Leopoldina, Santa Maria de Jetibá e Santa Teresa - Espírito Santo.

Amostra: 17♀, 8♂

2n=56/FN=108 - *Trinomys setosus denigratus* (Vide discussão)

Cariótipo: 27 pares autossômicos com dois braços metacêntricos ou submetacêntricos. Os cromossomos sexuais são do tipo X acrocêntrico grande e o Y é acrocêntrico pequeno. A fórmula cariotípica é dada por $27^M+X^{Ag}+Y^{Ap}$ (Figura 3a). A marcação pela Ag-RON foi observada no par 10 (Figura 3b). Essa é a primeira descrição do cariótipo para a espécie.

Localidades: Pancas e Sooretama - Espírito Santo; Turmalina - Minas Gerais.

Amostra: 2♀, 1♂

2n=60/FN=116 - *Trinomys albispinus*

Cariótipo: 29 pares autossômicos com dois braços, cromossomo X é o segundo maior submetacêntrico e o Y o acrocêntrico pequeno. A fórmula cariotípica é $29^M+X^{SMg}+Y^{Ap}$ (Figura 4a). O par 10 possui RON coincidente com a constrição secundária (Figura 4b). Os telômeros foram detectados pela FISH nas porções terminais de todos os cromossomos (Figura 4c).

Localidade: Andaraí - Bahia.

Amostra: 1♂

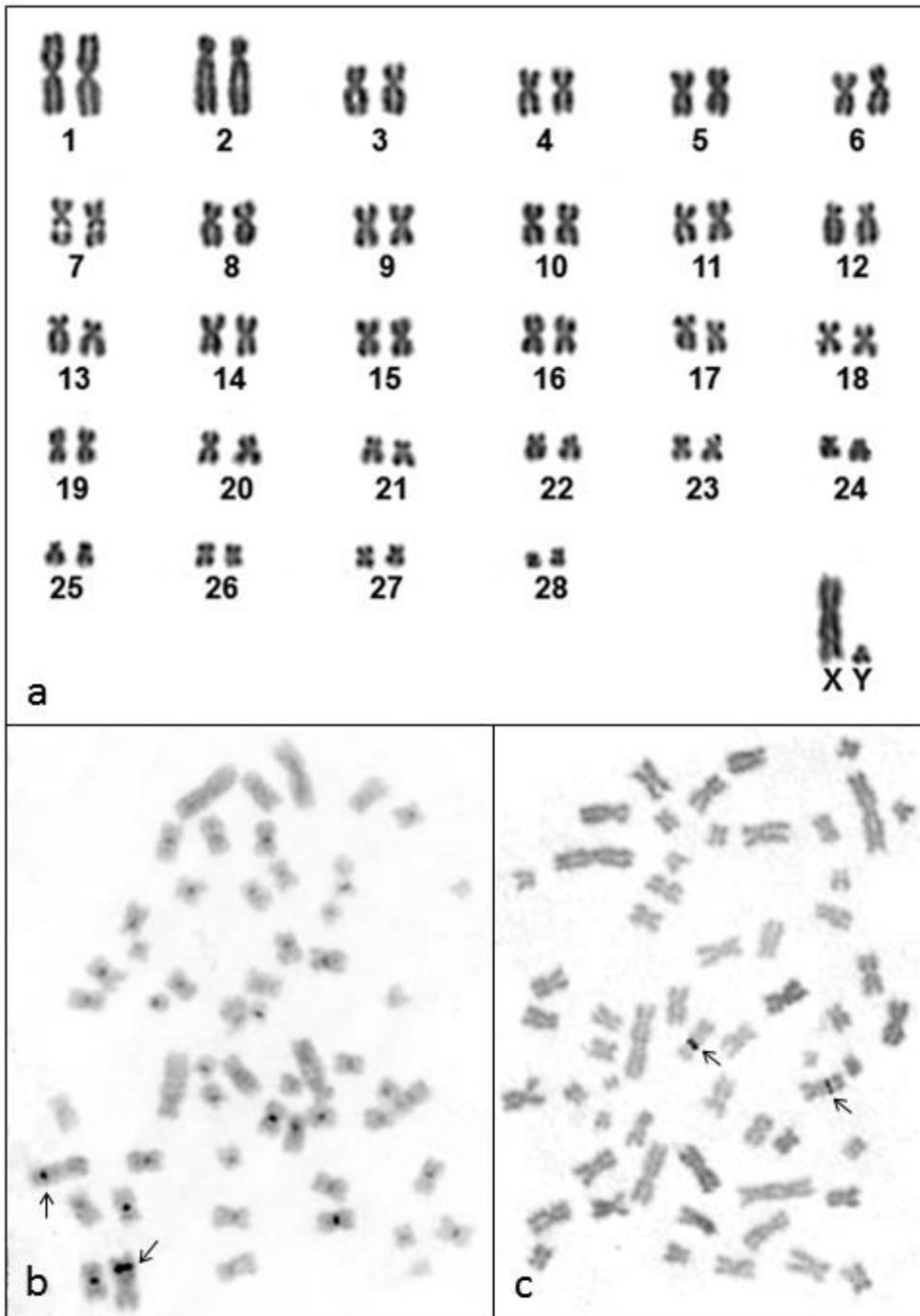


Figura 1. Cariótipo de *Trinomys paratus* com $2n=58/FN=112$, em coloração convencional (a), bandeamento C mostrando blocos heterocromáticos coincidentes com a Ag-RON, identificados pelas setas (b), e localização das Ag-RONs no par 7, identificadas pelas setas (c).

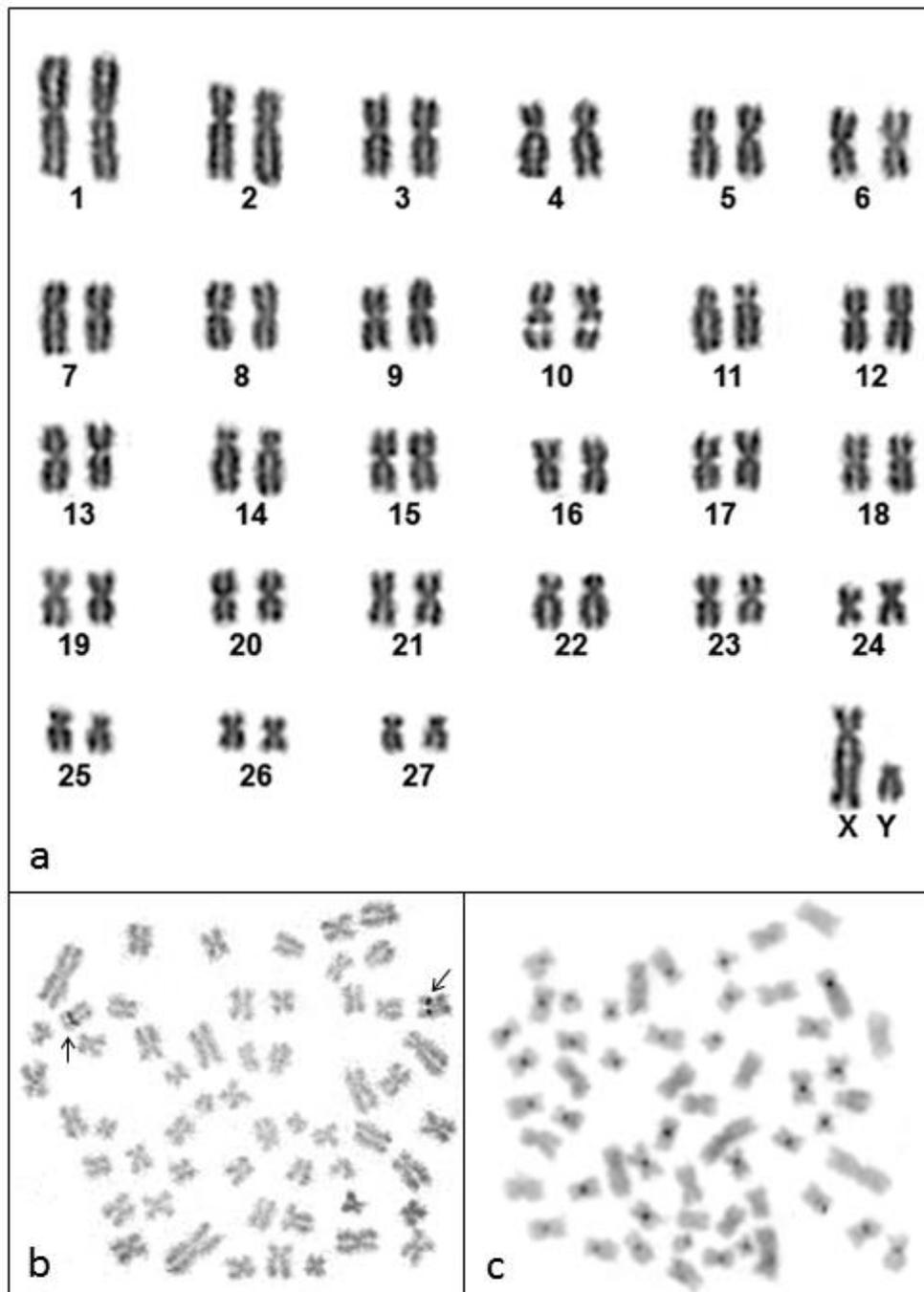


Figura 2 . Cariótipo de *Trinomys gratosus gratosus* com $2n=56/FN=108$, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 10 identificado pelas setas (b) e bandamento C mostrando pequenos blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas maioria dos cromossomos (c).

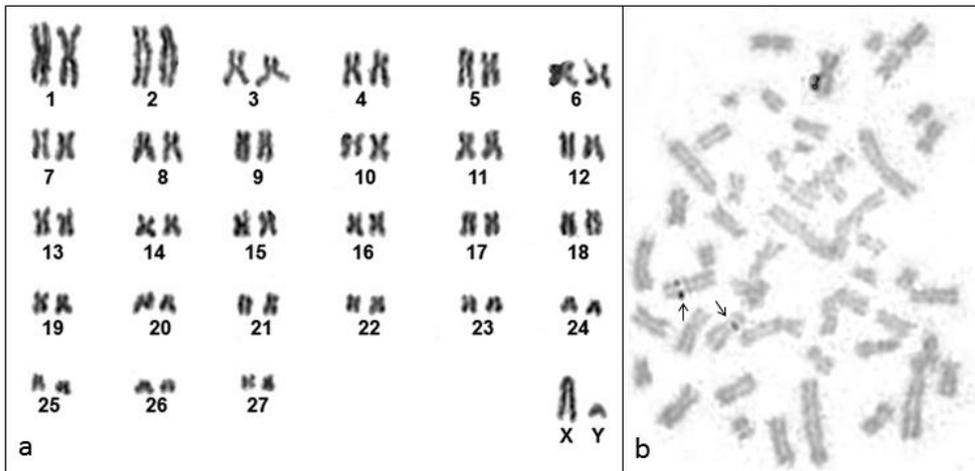


Figura 3. Cariótipo de *Trinomys setosus* com $2n=56/FN=108$ em coloração comum (a) e coloração das Ag-RONs no par 9, identificado pela seta (b).

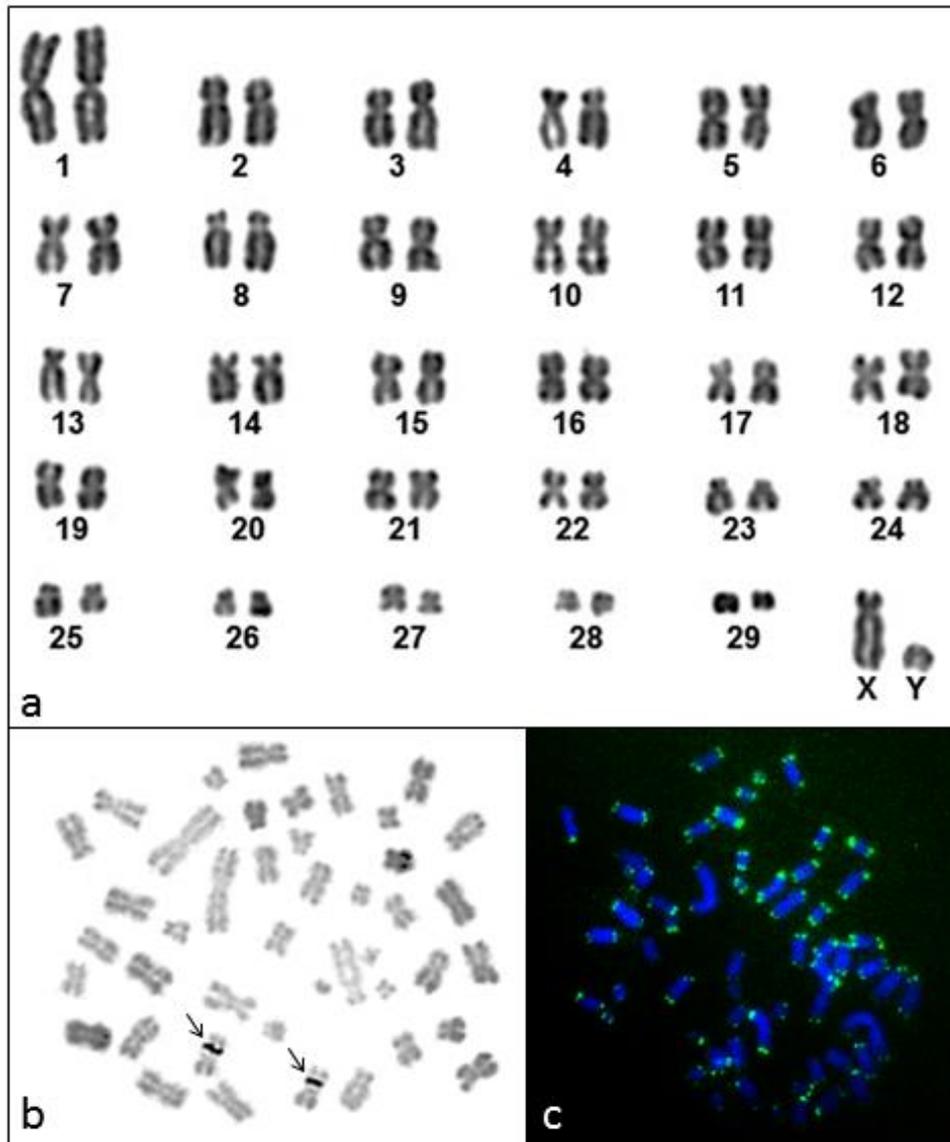


Figura 4. Cariótipo de *Trinomys albispinus*, com $2n=60/FN=116$, em coloração comum (a), coloração da Ag-RON indicando o par 10 na seta (b) e a hibridação *in situ* fluorescente com sonda telomérica evidenciando os telômeros em todos os cromossomos (c).

Tabela 2. Dados cariotípicos disponíveis para *Trinomys*, com descrição do número diplóide (2n), número de braços autossômicos (FN) e morfologia dos autossomos e cromossomos sexuais (M/SM = cromossomos de dois braços, A/St = cromossomos de um braço).

2N	Autossomos ⁶			Sexuais		Espécie	Procedência ¹		Referências	Coloração ²
	FN	M/SM/ST	A	X	Y		Município, Estado			
54	104	26	-	Ag	Mp	<i>T. yonenagae</i>	Ibiraba, BA		Leal-Mesquita et al., 1992	CO, BC, BG, BR, RON
54	104	26	-	Ag	Mp	<i>T. yonenagae</i>	Queimadas, BA		Fagundes, 1993	CO, BC, BG, RON
56	104	25	2	Ag	Ap	<i>T. s. elegans</i>	Santa Barbára, MG		Côrrea et al., 2005	CO
56	104	ND	-	Ag	Ap	<i>T. s. elegans</i>	Cambucí, RJ		Nacif et al., 2015 ³	CO, BC
56	108	27	-	Ag	-	<i>T. s. denigratus</i>	Turmalina, MG		Presente estudo	CO
56	108	ND	-	-	-	<i>T. s. denigratus</i>	Almenara, MG		Pessôa et al., 2015 ³	-
56	108	27	-	Ag	Ap	<i>T. s. denigratus</i>	Sooretama e Pancas, ES		Presente estudo	CO, RON
56	106	26	1	SMg	Mm	<i>T. moojeni</i>	Morro do Pilar, MG		Côrrea et al., 2005	CO
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Venda Nova do Imigrante, ES		Zanchin, 1988	BC, BG, RON
56	108	27	-	SMg	-	<i>T. g. graciosus</i>	Santa Teresa, ES		Paresque et al., 2004 ⁴	CO
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Santa Teresa, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Santa Maria de Jetibá, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Domingos Martins, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Ibitirama, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Irupi, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Muqui, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. graciosus</i>	Santa Leopoldina, ES		Presente estudo	CO, BC, RON
56	108	27	-	SMg	SMp	<i>T. g. bonafidei</i>	Teresópolis, RJ		Pessôa et al., 2005 ⁵ ,	CO
56	108	ND	-	SMg	SMp	<i>T. g. bonafidei</i>	Teresópolis, RJ		Nacif et al., 2015 ^{3,5}	CO, BC
58	112	28	-	SMg	Mm	<i>T. eliasi</i>	Maricá, RJ		Pessôa et al., 2005	CO
58	112	ND	-	ND	ND	<i>T. eliasi</i>	São Francisco do Itabapoana, RJ		Geise e Pinheiro, 2008 ³	-
58	112	-	-	-	-	<i>T. eliasi</i>	Silva Jardim, RJ		Pessôa et al., 2015 ³	-
58	112	28	-	SMg	Ap	<i>T. paratus</i>	Viana, ES		Presente estudo	CO, BC, RON

Tabela 2. Continuação

		Autossomos ⁶		Sexuais ⁷		Procedência ¹			
2N ⁸	FN ⁹	M/SM/ST ¹⁰	A ¹¹	X	Y	Espécie	Município, Estado	Referências	Coloração ²
58	112	28	-	SMg	Ap	<i>T. paratus</i>	Serra, ES	Presente estudo	CO, BC, RON
58	112	28	-	SMg	Ap	<i>T. paratus</i>	Cariacica, ES	Presente estudo	CO, BC, RON
58	112	28	-	SMg	Ap	<i>T. paratus</i>	Guarapari, ES	Presente estudo	CO, BC, RON
60	116	29	-	SMg	Ap	<i>T. a. minor</i>	Morro do Chapéu, BA	Leal-Mesquita et al., 1992	CO, BC, BG, RON FISHt
60	116	29	-	SMg m	Ap	<i>T. a. minor</i>	Morro do Chapéu, BA	Fagundes, 1993	CO, BC, BG, RON
60	116	29	-	SMg m	Ap	<i>T. minor</i>	Andaraí, BA	Presente estudo	CO, RON, FISHt
60	116	29	-	SMg m	Ap	<i>T. a. albispinus</i>	Morro do Chapéu, BA	Gomes e Souza et al., 2006	CO, RON
60	116	29	-	SMg	Mm	<i>T. dimidiatus</i>	Rio Bonito, RJ	Pessôa et al., 2005	CO
60	116	29	-	SMg	Mm	<i>T. dimidiatus</i>	Ubatuba, SP	Pessôa et al., 2005	CO
61-65	116	ND	-	SMg	Mp	<i>T. iheringi</i>	Ilha Grande, RJ	Nacif et al., 2015 ³	-
61	116	29+1b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP	Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
61	116	29+1b	-	SMg	-	<i>T. iheringi</i>	Ubatuba, SP	Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
62	116	29+2b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP	Yonenaga-Yassuda, 1975	CO
64	116	29+4b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP	Yonenaga-Yassuda, 1975	CO
64	116	29+4b	-	SMg	-	<i>T. iheringi</i>	Santa Virgínia, SP	Di-Nizo et al., 2014	CO
62	116	29+2b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP	Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
62	116	29+2b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iporanga, SP	Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
62	116	29+2b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Ubatuba, SP	Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
63	116	29+3b	-	SMg	-	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP	Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON

Tabela 2. Continuação

2N ⁸	FN ⁹	Autossomos ⁶		Sexuais ⁷		Espécie	Procedência ¹		Referências	Coloração ²
		M/SM/ST ¹⁰	A ¹¹	X	Y		Município, Estado			
63	116	29+3b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iguape, SP		Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
63	116	29+3b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iporanga, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
63	116	29+3b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iguape, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
64	116	29+4b	-	SMg	-	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP		Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
64	116	29+4b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iporanga, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
64	116	29+4b		SMg	-	<i>T. iheringi</i>	Iguape, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
65	116	29+5b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Casa Grande, SP		Yonenaga-Yassuda et al., 1985	CO, BC, BR, RON
66	116	29+6b	-	SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iporanga, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr
66	116	29+6b		SMg	SMP	<i>T. iheringi</i>	Iguape, SP		Fagundes et al., 2004	CO, BC, BR, RON, FISHt, FISHr

¹BA=Bahia, MG=Minas Gerais, RJ=Rio de Janeiro, ²CO=Convencional, BC=banda C, BG=Banda G, BR=banda R, RON=coloração das Ag-RONs, FISHt=hibridação com sonda telomérica, FISHr=hibridação com sonda ribossômica; ³Não apresenta a foto do cariótipo; ⁴Espécime identificado pelos autores como *T. iheringi*.⁵Cariótipo foi reinterpretado. ND: Não definido pelo autor; ⁶ Morfologia e números de pares dos cromossomos autossômicos; ⁷Morfologia dos cromossomos Sexuais X e Y; ⁸2N=Número diplóide; ⁹FN=Número Fundamental; ¹⁰M=Metacêntrico, SM=Submetacêntrico; ST=Subtelocêntrico; ¹¹Acrocêntrico.

Análises filogenéticas

A matriz de dados composta pelas sequências de CitB de *Trinomys* gerou GTR+I+G (I=0.4670; G=2.0180) e HKY+I+G (I=0.4740; G=2.1230) como os melhores modelos evolutivos para as inferências filogenéticas de ML e IB, respectivamente. Para o gene vWF, o melhor modelo evolutivo para as inferências filogenéticas de ML e IB foi o HKY+G (G=0.3990). Nos dois critérios de otimização utilizados (ML e IB) *Trinomys* foi recuperado como grupo monofilético com alto suporte (Figura 5) e as árvores recuperadas em ambos critérios foram muito semelhantes, sendo ilustrado somente as árvores de inferência Bayesiana concatenada.

A reconstrução filogenética dos dados concatenados recuperou dez linhagens evolutivas com alto suporte, organizadas em 3 clados (Figura 5), cada qual associada às espécies de *Trinomys*: *T. iheringi* (1), *T. dimidiatus* (1), *T. mirapitanga* (1), *T. gratiosus* (1), *T. moojeni* (0,99), *T. albispinus* (1), *T. paratus* (1), *T. eliasi* (1), *T. setosus* (1) e *T. yonenagae* (1).

As divergências genéticas intraespecíficas do gene CitB em *Trinomys* variaram de 0,52% em *T. paratus* a 5,20% em *T. setosus*, e interespecíficas de 5,42% entre *T. eliasi* e *T. paratus* e 20,50% entre *T. iheringi* e *T. albispinus* (Anexo 3). O clado 1 é formado por (*T. yonenagae*(*T. setosus*(*T. eliasi* + *T. paratus*))), com divergência variando entre 5,42% entre *T. eliasi* e *T. paratus*; 17,09% entre *T. setosus* e *T. eliasi* e 10,59% entre *T. yonenagae* e *T. setosus*. O clado 2 é formado por ((*T. moojeni* + *T. gratiosus*)(*T. mirapitanga*(*T. dimidiatus* + *T. iheringi*))), com divergência de 13,22% entre *T. dimidiatus* e *T. iheringi*, 11,61% entre *T. mirapitanga* e *T. dimidiatus* e 10,99% entre *T. moojeni* e *T. gratiosus*. O clado 3 formado por *T. albispinus*, que mostrou as maiores divergências interespecíficas, com 20,50% com *T. iheringi* e 15,52% com *T. yonenagae*. Esse clado é irmão do clado 2.

Trinomys gratiosus

Os dois exemplares de Serra do Paquequer, Teresópolis (RJ) de *T. g. bonafidei* (n=2) formam um grupo monofilético com alto suporte, com 0,29% de divergência (Figura 6). Os exemplares de *T. g. gratiosus* (n=24) com procedência do Espírito Santo e Minas Gerais não formam um único agrupamento, mostrando-se parafilético em relação à *bonafidei*, sem estruturação geográfica dos clados em relação à região geográfica (Figura 7). A divergência

entre os exemplares de *T. g. graciosus* é de 2,24%. A divergência entre *T. g. bonafidei* e *T. g. graciosus* é de 2,95% (Anexo 4). Da amostra de *T. g. graciosus*, 17 exemplares do Espírito Santo possuem cariótipo, todos com $2n=56/FN=108$. Os exemplares de Minas Gerais não tiveram os cariótipos analisados.

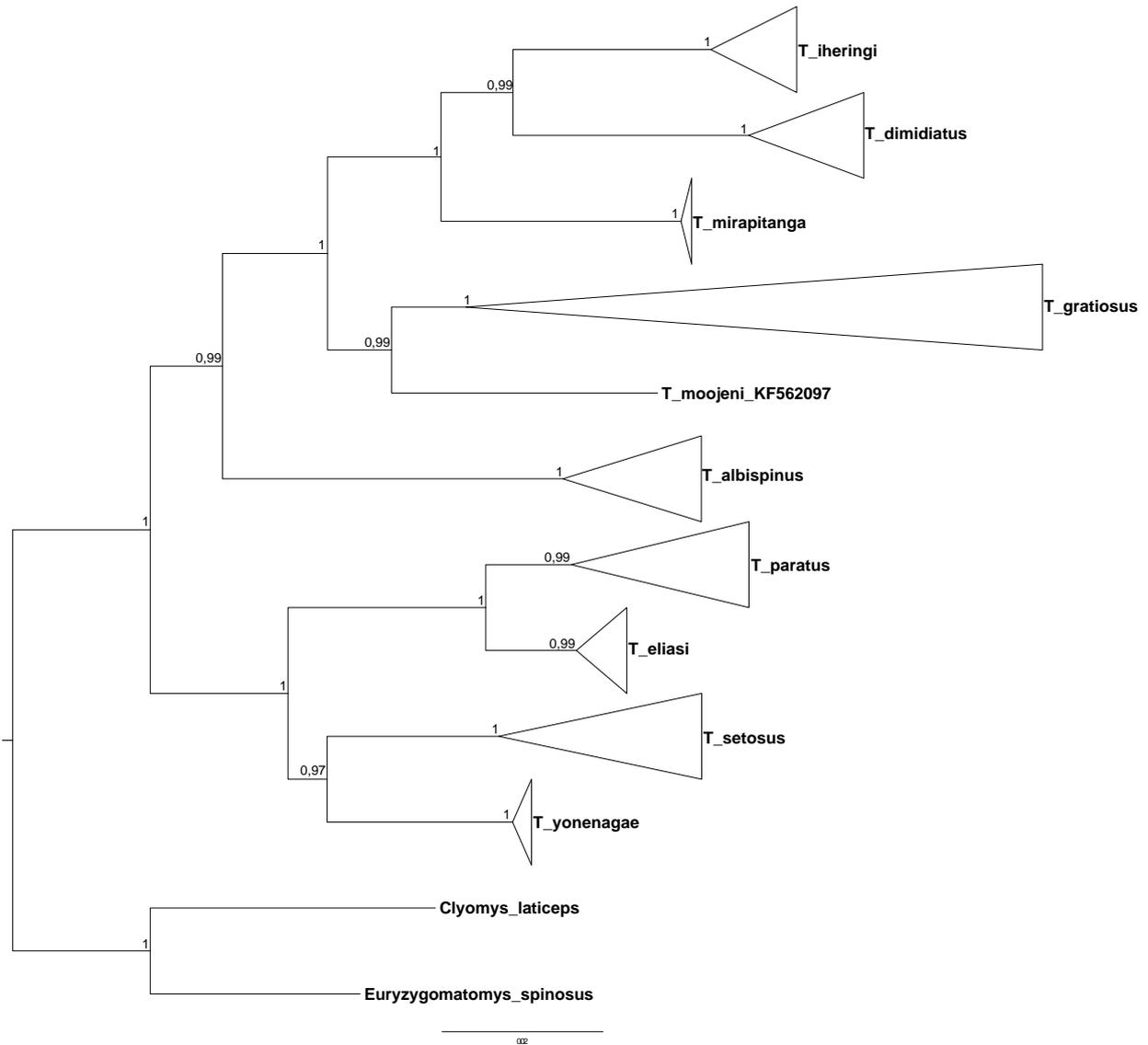


Figura 5. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Citb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$.

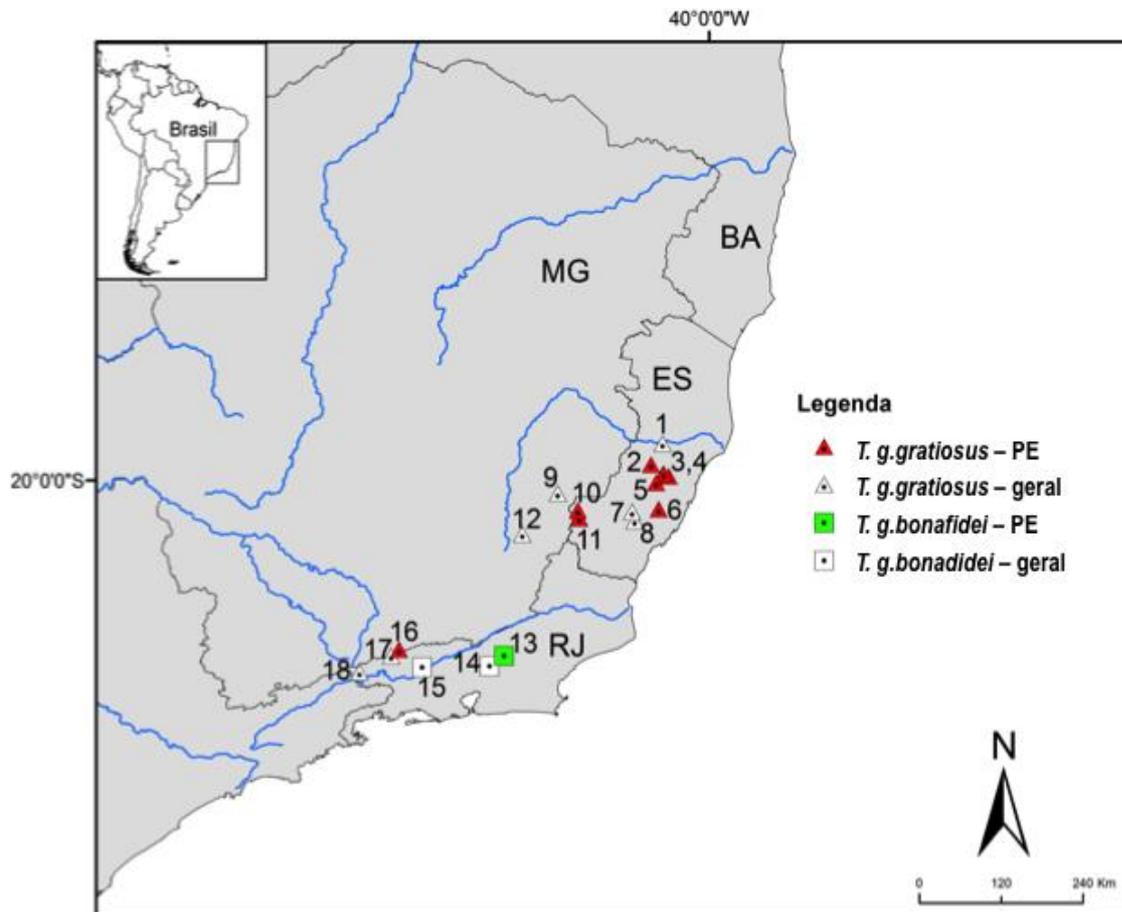


Figura 7. Localidades de *Trinomys gratiosus* e as subespécies *T. g. gratiosus* e *T. g. bonafidei*. **Espírito Santo:** 1. Colatina; 2. Alto Misterioso, Jacutinga, Santa Teresa; 3. Valsugana Velha, Santa Teresa; 4. Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa; 5. Santa Maria de Jetibá; 6. Central Hidrelétrica, Domingos Martins; 7. Domingos Martins; 8. Castelo; 10. Irupi; 11. Ibitirama. **Minas Gerais:** 9. Simonésia; 12. Araponga; 16. Santa Rita de Jacutinga; 17. Passa Vinte. **Rio de Janeiro:** 13. Bonsucesso; 14. Teresópolis; 15. Valença; 18. Itatiaia.

Trinomys setosus

Os exemplares de *T. setosus* (n=15) se organizaram em três clados com alto suporte (Figura 8). O clado A é formado por exemplares do norte e leste de Minas Gerais e norte do Espírito Santo (n=8), com divergência de 1,80% e foi subdividido em 3 suclados (A1, A2 e A3). Os representantes de Minas Gerais do subclado A1 divergem entre si em 0,16% e 2,2 a 2,4% dos subclados A2 e A3, respectivamente. Somente representantes do Espírito Santo (subclado A2) apresentam o cariótipo, com $2n=56/FN=108$, com divergência entre si de 1,24% e 2,63% do subclado A3. O clado B é formado por representantes do sul de Minas (n=2), com divergência entre si de 0,31%. Não há cariótipo associado às sequências desse grupo. O clado C (n=5) é formado por exemplares de Sergipe e norte da Bahia, com divergência de 0,57%, sem cariótipo associado. Cada clado representa uma área geográfica distinta (Figura 9), com zona de contato entre os clados A e B, que divergem entre si por 3,57%, e clado C distinto dos demais, divergente em 7,65% e 8,38% dos clados B e A, respectivamente (Anexo 5).

O exemplar KF562096 de Morro de Pilar (MG) apresenta 0,16% de divergência genética de outros exemplares do clado Clado A1 de Conceição do Mato Dentro (MG). Nesse caso, acreditamos que tenha havido erro de identificação do exemplar (chamado de *T. s. elegans* no trabalho original), devendo o mesmo ser considerado, tanto pela localidade de coleta (27 km de Conceição do Mato Dentro), quanto pela baixa divergência (0,16%) como *T. s. denigratus* (conforme discussão abaixo).

Outro caso de possível erro de identificação ocorreu com o exemplar AF194283 de Rio Casca (MG), reconhecido como *T. s. setosus* (*T. s. denigratus*), mas que apresenta 0,31% de divergência de outro exemplar de *T. s. elegans* da mesma localidade (Clado B). Assim, propomos que esse exemplar deva pertencer a *T. s. elegans* e tenha sido equivocadamente identificado como *T. s. setosus* (*T. s. denigratus*).

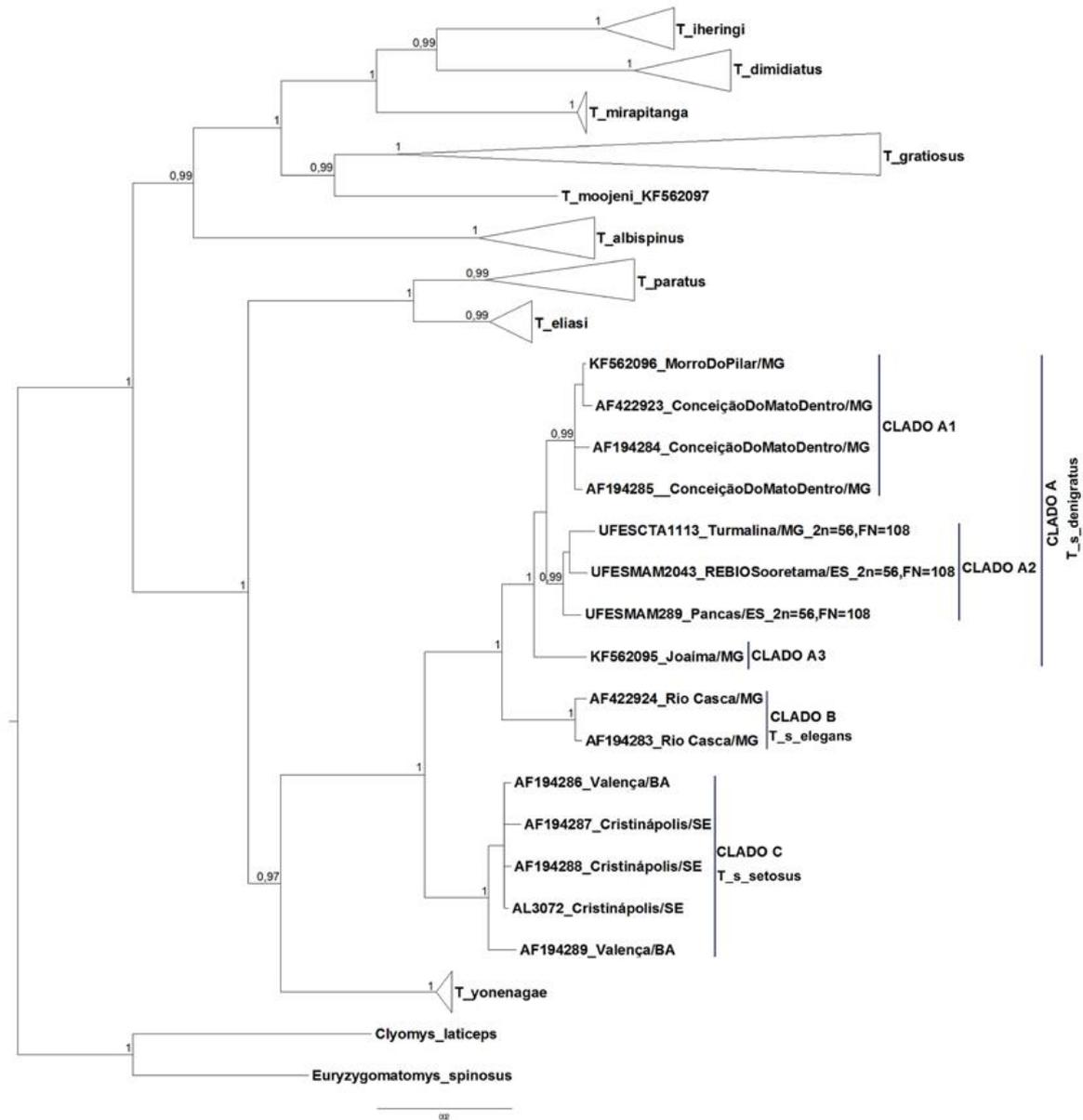


Figura 8. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, destacando os cladogramas A, B e C correspondentes às subespécies de *T. setosus*, respectivamente, *T. s. denigratus*, *T. s. elegans* e *T. s. setosus*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar se encontram associados a respectiva sequência.

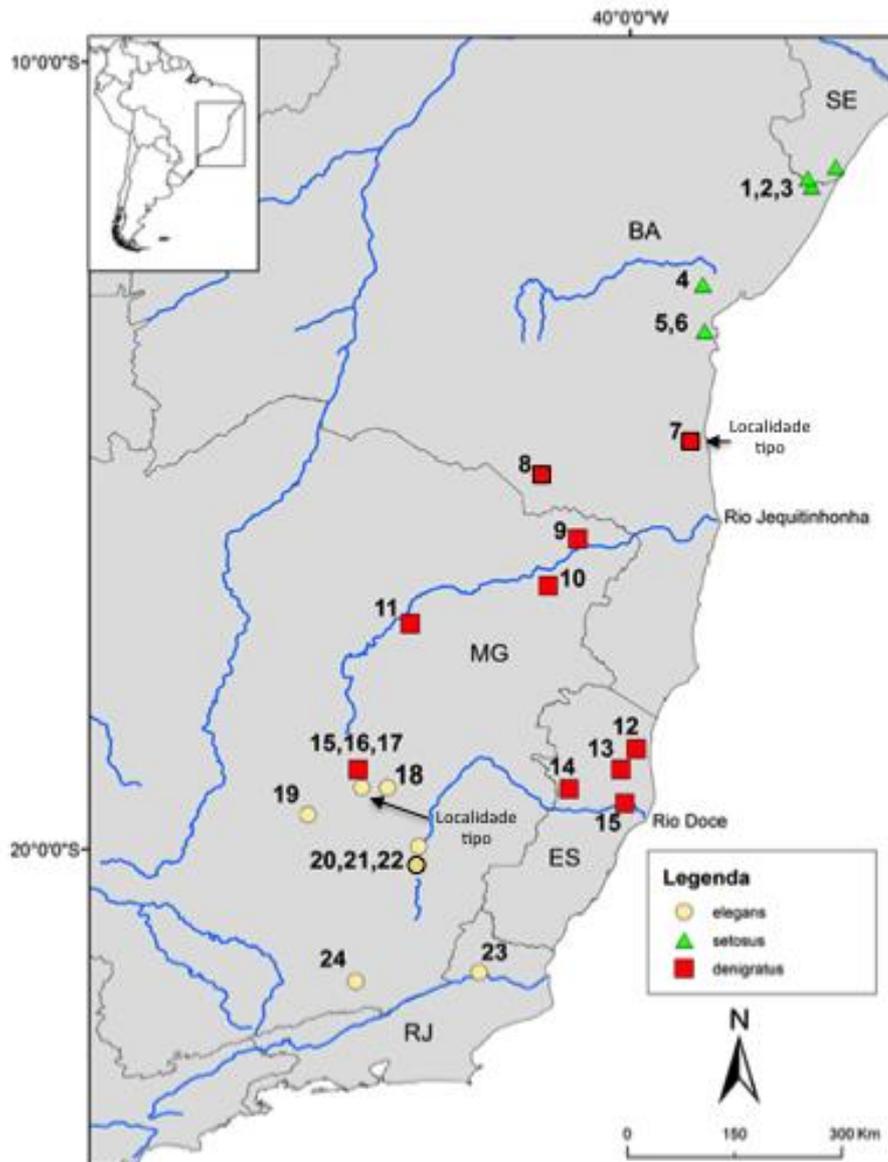


Figura 9. Localidades de *Trinomys setosus* e as subespécies *T. s. setosus*, *T. s. elegans* e *T. s. denigratus*. Sergipe: 1. Fazenda Cedro; 2. Cristinápolis; 3. Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis. Bahia: 4. Mata do Nono, São Felipe; 5-6. Valença; 7. Mata Ribeirão da Fortuna, Itabuna; 8. Itambé. Espírito Santo: 12. São Mateus; 13. Sooretama; 14. Pancas; 15. Linhares. Minas Gerais: 9. Almenara; 10. Joáima; 11. Turmalina; 16. Mata do Praúno, Conceição do Mato Dentro; 17. Morro do Pilar; 18. Lagoa Santa; 19. Fazenda Cauaia, Matozinhos; 20. Santa Bárbara; 21-22. Rio Casca; 24. Juiz de Fora. Rio de Janeiro: 23. Cambucí.

T. albispinus

Os exemplares de *T. albispinus* (n=7) se organizaram em dois clados (Figura 10): clado A com exemplares de Morro do Chapéu (BA) e Cristinápolis (SE) e o clado B com animais de Andaraí (BA) e Bocaiúva (MG). A divergência genética dentro do clado A foi de 0,29% e dentro do clado B de 0,21%, enquanto que a divergência entre os clados A e B foi de 5,21%. Um representante de cada clado apresenta o mesmo cariótipo com $2n=60$ e FN=116.

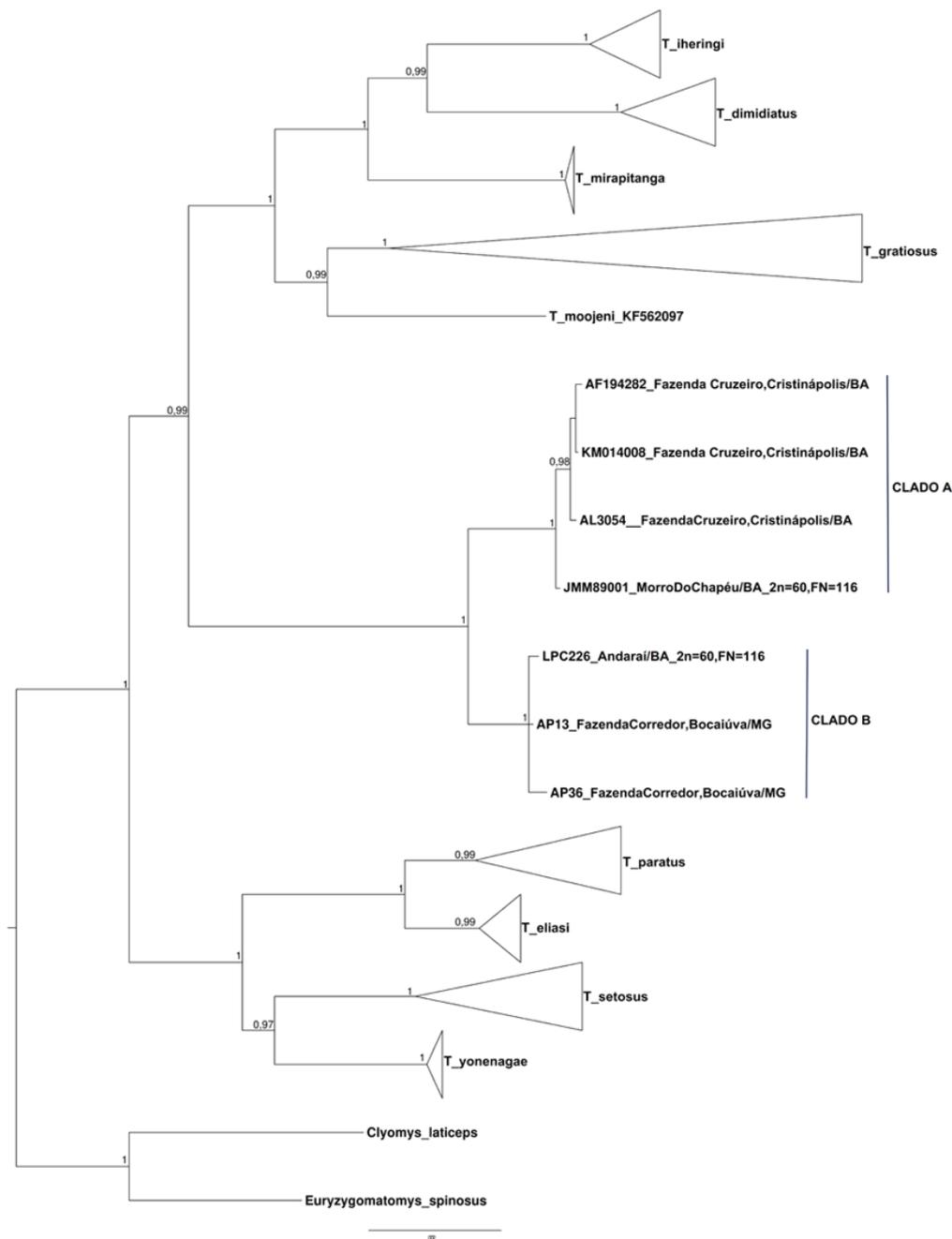


Figura 10. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Trinomys*, destacando os clados A e B da espécie *T. albispinus*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar se encontram associados a respectiva sequência.

Discussão

Diversidade cariotípica em *Trinomys*

Com a compilação de todos os dados cariotípicos de *Trinomys* disponíveis numa ampla seleção de meios de divulgação científica (Tabela 2) foi possível verificar a escassez de trabalhos envolvendo a citogenética em *Trinomys*. Dos 14 trabalhos disponíveis juntamente com a amostragem do presente estudo foi possível identificar 10 formas cariotípicas de atuais dez espécies e seis subespécies do gênero e a maioria dos cariótipos tem somente um registro para cada espécie. O cariótipo de *T. paratus* foi descrito no presente estudo e ainda não há a descrição cariotípica para *T. mirapitanga*.

De maneira geral, observa-se que os cariótipos são conservados dentro das espécies, não sendo encontrados polimorfismos cromossômicos intraespecíficos, exceto para *T. iheringi*, que apresentou um polimorfismo devido à presença de cromossomo B puntiformes variando de 1 a 6 Bs. Os números diplóides e fundamentais são pouco variáveis, porém dentro de uma variação restrita dentro do gênero, sendo o menor para *T. yonenagae* com $2n=54$ e o maior com $2n=60$ para *T. albispinus*, *T. dimidiatus* e *T. iheringi* teve o $2n$ variando de 61 a 66. Outra característica marcante é a quase totalidade do conjunto autossômico formado por cromossomos de dois braços, com exceção de *T. s. elegans*, que apresenta 25 pares de cromossomos de dois braços e dois pares de acrocêntricos, e *T. moojeni*, com 26 pares de cromossomos de dois braços e um par de acrocêntricos.

Em alguns casos os cariótipos apresentam os mesmos números e a mesma morfologia dos pares autossômicos variando apenas na forma do par sexual, como verificado entre as subespécies *T. s. denigratus* e *T. g. gratiosus* e as espécies *T. paratus* e *T. eliasi*. Nesses casos, o cromossomo sexual é marcador para a espécie/subespécie. Das seis subespécies conhecidas para *Trinomys*, todas possuem dados cariotípicos que permitem a identificação da morfologia de dos pares cromossômicos. Abaixo, os citótipos do presente estudo são comparados aos disponíveis na literatura.

Trinomys paratus

O citótipo é descrito pela primeira vez no presente estudo e apresenta $2n=58/FN=112$ para exemplares coletados nos municípios de Viana, Serra, Guarapari e Cariacica (ES), sendo esses espécimes classificados morfologicamente como *T. paratus*. Segundo Dalapicolla e Leite (2015), essa espécie localiza-se no Espírito Santo abaixo do Rio Doce em áreas de baixa altitude perto da costa (20 metros) e nas regiões interioranas de montanhas (até 580 metros). *T. paratus* é monotípico e conhecido em poucas localidades no sul do Espírito Santo e na região centro-leste de Minas Gerais (Iack-Ximenes, 2005).

O conjunto autossômico desse citótipo é idêntico ao descrito para *T. eliasi* por Pessôa et al. (2005) entretanto, a morfologia do Y se apresenta como um pequeno acrocêntrico em *T. paratus* e como um pequeno metacêntrico em *T. eliasi*. Um evento de inversão pericêntrica no Y diferencia cromossomicamente as duas espécies

Trinomys gratiosus

Os exemplares da presente amostra foram identificados como *T. g. gratiosus* e apresentaram $2n=56/FN=108$, com cromossomo X submetacêntrico grande e o Y submetacêntrico pequeno, sendo a primeira descrição da morfologia do cromossomo Y.

T. g. gratiosus distribui-se pelas florestas costeiras do Espírito Santo e no nordeste do Rio de Janeiro, sul de Minas Gerais e no Parque Nacional do Itatiaia, além do noroeste do Rio de Janeiro, enquanto que *T. g. bonafidei* habita as florestas da costa do Rio de Janeiro (Pessoa et al., 2015). Segundo Dalapicolla e Leite (2015), os espécimes encontrados no Espírito Santo, ao sul do Rio Doce e em altitudes acima de 500 metros, pertencem a *T. g. gratiosus*. Zanchin (1988) descreveu um cariótipo semelhante ao apresentado no atual trabalho, para indivíduos coletados em Venda Nova do Imigrante (ES-630 metros), assim como Paresque et al. (2004) cariotiparam exemplares de Santa Teresa (ES), mas sem descreverem a morfologia do cromossomo Y. Embora não tenham nominado as subespécies nos dois estudos, os exemplares ocorrem nas regiões geográficas de distribuição de *T. g. gratiosus*, e portanto também devem ser associados a essa subespécie.

Segundo Pessôa et al. (2005), o cariótipo de *T. g. bonafidei* é formado por 27 pares de cromossomos de dois braços gerando um $2n=56/F=108$, para exemplares de Teresópolis (RJ). O X é descrito como submetacêntrico grande e o Y metacêntrico pequeno. Entretanto, ao reanalisarmos a metáfase do trabalho de Pessôa et al. (2005), observa-se que o par 23 apresentado no referido estudo foi organizado com dois cromossomos com formas distintas:

metacêntrico pequeno e submetacêntrico pequeno. Dessa maneira, é provável que o cromossomo Y descrito pelas autoras como metacêntrico pequeno deva ser o homólogo do metacêntrico da posição 23 e assim o submetacêntrico da posição 23 seria o cromossomo Y.

Diante dessa reinterpretação, o cariótipo de *T. g. bonafidei* apresentado por Pessôa et al. (2005) é idêntico ao associado a *T. g. gratiosus*, com cromossomo Y submetacêntrico pequeno.

Trinomys setosus

T. s. setosus (tratado como *T. s. denigratus* no presente estudo) ocupa as florestas costeiras do sul da Bahia e Espírito Santo, se estendendo para o interior de Minas Gerais e *T. s. elegans* está distribuída no interior de Minas Gerais e norte do Rio de Janeiro. Dalapicolla e Leite (2015) analisaram morfológicamente exemplares de *Trinomys* do Espírito Santo e concluíram que os espécimes encontrados ao norte do Rio Doce pertencem a *T. s. setosus* (tratado como *denigratus* no presente estudo), área que engloba a localidade de coleta dos exemplares cariotipados pelo presente estudo. Os exemplares da presente amostra, coletados nos municípios de Turmalina (MG), Pancas e Sooretama (ES), são formados por $2n=56/FN=108$ (X acrocêntrico grande e Y acrocêntrico pequeno), sendo este cariótipo descrito pela primeira vez na literatura nesse estudo.

Com base nos dados apresentados e a partir da revisão da literatura dos cariótipos descritos para *Trinomys*, foi possível observar que o conjunto autossômico de *T. s. denigratus* é idêntico ao descrito para *T. g. gratiosus* e *T. g. bonafidei*. Entretanto, diferenciam-se na morfologia dos cromossomos sexuais, sendo o X acrocêntrico grande e Y acrocêntrico pequeno em *T. s. denigratus* e X submetacêntrico grande e Y submetacêntrico pequeno em *T. g. gratiosus* (e em *T. g. bonafidei*).

Trinomys s. denigratus e *T. s. elegans* possuem a morfologia do par sexual idêntica (X, acrocêntrico grande e Y acrocêntrico pequeno) e o mesmo número diplóide ($2n=56$), porém diferenciam-se na morfologia dos autossômicos (Corrêa et al., 2005). Enquanto *T. s. denigratus* é formado por 27 pares de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos, *T. s. elegans* apresenta 25 pares de cromossomos metacêntricos/submetacêntrico e dois pares de acrocêntricos, para indivíduos coletados em Santa Bárbara (MG).

Trinomys moojeni apresenta $2n=56$ e o cromossomo X é um submetacêntrico grande (Corrêa et al., 2005), idênticos a *T. s. denigratus*. Entretanto, as duas espécies se diferenciam no valor do número fundamental, sendo $FN=106$ para a primeira e $FN=108$ em *T. s.*

denigratus. Essa diferença é devido a presença de um par de acrocêntricos em *T. moojeni*, enquanto o complemento autossômico de *T. s. denigratus* é formado exclusivamente por cromossomos de dois braços.

Trinomys albispinus

Trinomys albispinus se distribui ao longo dos estados de Sergipe, Bahia e Minas Gerais. São reconhecidas duas subespécies: *T. a. albispinus*, na região costeira e no interior dos estados da Bahia, Minas Gerais e Sergipe e *T. a. minor* nas regiões montanhosas do interior da Bahia. Leal-Mesquita et al. (1992) e Fagundes (1993) descreveram o cariótipo $2n=60/FN=116$ para *T. albispinus*, da localidade de Morro do Chapéu (Bahia- BA). Pessoa e Reis (1995) analisaram morfológicamente esses espécimes de Morro do Chapéu e descreveram a subespécie *T. a. minor*. Gomes e Souza et al. (2006) analisaram exemplares de Cachoeira do Ferro Doido (Município de Morro do Chapéu, BA) e encontraram diferenças das dimensões do crânio em relação a *T. a. minor*, associando esses exemplares a *T. a. albispinus*. Esses autores ainda cariotiparam um exemplar e encontraram $2n=60/FN=116$, mesmo citótipo ao descrito para *T. a. minor*.

O cariótipo do presente estudo foi coletado em Andaraí (BA) e apresenta a mesma constituição cromossômica dos citótipos que são descritos para as duas subespécies. Dessa maneira não é possível apenas com o dado cromossômico associar o exemplar de Andaraí a nenhuma das subespécies.

O citótipo de $2n=60/FN=116$ é comum entre *T. iheringi*, *T. a. minor*, *T. a. albispinus* e *T. dimidiatus*, compostos por 29 pares de cromossomos metacêntricos. Entretanto, a presença de cromossomos B e a morfologia do Y são marcadores que diferenciam *T. iheringi* de *T. dimidiatus*, ambos com ocorrência nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo (Pessoa et al., 2005). *T. iheringi* apresenta o cromossomo Y como submetacêntrico pequeno, *T. dimidiatus* com Y metacêntrico médio (Pessoa et al., 2005) enquanto o Y é um acrocêntrico pequeno em *T. a. minor* (mesmo cariótipo de *T. a. albispinus*).

As subespécies de *Trinomys*: divergência molecular e cariótipo

Os três clados observados em *Trinomys* (Figura 5) são congruentes com achados prévios de Lara e Patton (2000) com base nas análises do gene CitB, embora Lara et al. (2002) não conseguiram esclarecer a relação entre os mesmos, justificado pela rápida e simultânea diversificação desses roedores. Porém, no presente estudo, com a concatenação

dos gene mitocondrial (CitB) e nuclear (Vwf) foi possível estabelecer a associação entre os três clados, descartando-se a falta de resolução entre os táxons (Lara et al., 1996; Lara e Patton, 2000; Lara et al. 2002).

Lara e Patton (2000) propuseram que *T. moojeni* pertenceria ao clado de *T. yonenagae*, *T. eliasi*, *T. paratus* e *T. setosus*. Porém, no presente estudo *T. moojeni* foi incluído no clado de *T. dimidiatus*, *T. mirapitanga*, *T. iheringi*, *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*. Tavares et al. (2015) com o objetivo de estudar a história evolutiva de *T. eliasi*, haviam sugerido a posição de *T. moojeni* no clado pertencente a *T. graciosus*. Ainda, esses autores trataram como incerta a separação de *T. eliasi* de *T. paratus* devido aos baixos valores de suporte das análises com o Citb, mas no presente estudo *T. eliasi* e *T. paratus* formam unidades monofiléticas distintas com alto suporte.

A seguir, destacamos as espécies que apresentam dados conflituosos em relação as devidas subespécies.

Trinomys graciosus

As duas subespécies de *T. graciosus* (Pessôa et al., 2015), *T. g. bonafidei* e *T. g. graciosus*, são distintas pela morfologia do báculo (Pessôa et al., 1996), mas possuem o mesmo cariótipo com $2n=56/FN=108$. *T. g. graciosus* está restrito às florestas costeiras do Espírito Santo acima de 500 metros e abaixo do Rio Doce (Dalapicolla e Leite, 2015), nordeste do Rio de Janeiro, sudeste de Minas Gerais e no Parque Nacional do Itatiaia no noroeste do Rio de Janeiro e *T. g. bonafidei* ao longo das florestas costeiras do Rio de Janeiro (Pessôa et al., 2015).

Patton e Lara (2000) estudaram a diversificação evolutiva de *Trinomys* e sequenciaram o gene citB de exemplares pertencentes a *T. g. graciosus* das localidades de Santa Teresa e Caparaó (ES), Boqueirão e Passa Vinte (MG) e de *T. g. bonafidei* coletados na Serra do Paquequer (RJ). A divergência genética entre as duas subespécies foi de 4,95%, 4,89%, 1,79% e 2,48%, respectivamente entre as localidades amostradas.

No presente estudo foi gerada uma filogenia do gene citB de exemplares cariotipados e identificados como *T. g. graciosus*, e foram ainda incluídas as sequências disponíveis no GenBank para *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*. A filogenia mostra que exemplares de *T. g. bonafidei* se localizam no mesmo clado de *T. g. graciosus* e com baixa divergência genética entre *T. g. bonafidei* e *T. g. graciosus* (2,95%). Ao calcularmos a divergência considerando *T.*

g. bonafidei como pertencente a *T. g. graciosus* (denominado grupo *T. graciosus* total), a divergência intraespecífica também foi muito baixa (2,24%).

Dessa maneira, baseado nas evidências citogenéticas que não mostram diferenças cromossômicas entre as subespécies, aliadas aos baixos valores de divergência genética, tanto encontrados nos estudos de Lara e Patton (2002) quanto no presente trabalho, não há suporte para a manutenção da divisão de *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*.

Trinomys setosus

Moojen (1948) descreveu *Proechimys iheringi denigratus* com localidade tipo Mata do Ribeirão da Fortuna, Itabuna (sul da Bahia), *Proechimys setosus elegans* para Lagoa Santa (Nova Lima, Minas Gerais) e *Proechimys setosus setosus*, sem registro da localidade tipo.

Lara e Patton (2000) baseados nas análises de DNA mitocondrial associaram os exemplares de Cristinápolis (SE) e Valença (BA) (clado C no presente estudo) a *T. s. setosus*, os exemplares de Rio Casca, MG (clado B no presente estudo) a *T. s. elegans* e os exemplares de Conceição do Mato Dentro, MG (clado A no nosso estudo) a *T. s. denigratus*.

Porém, Iack-Ximenez (2005) examinou a morfologia de exemplares de Lagoa Santa, Matozinhos, Juiz de Fora, Rio Casca, Mariana, Jurumirim, Caeté e Santa Bárbara (MG) e os associou a *T. s. elegans*. Analisou também espécimes reconhecidos por estudos anteriores como *T. s. setosus*, das localidades de Cristinápolis (SE), Itabuna (BA) e ainda de *T. s. denigratus* pertencente a Valença, Itambé e Ilhéus (BA), Conceição do Mato Dento, Almenara, Turmalina, Governador Valadares, Caratinga e Santa Bárbara (MG), Linhares, São Mateus, Cariacica e Itapemirim (ES), propondo a sinonímia entre *T. s. setosus* e *T. s. denigratus*, e não encontrou distinção morfológica que suportasse a divisão das subespécies.

Os dados do presente estudo mostram a formação de três clados, com alto suporte e com divergência genética significativa entre os exemplares de Sergipe e norte da Bahia, em relação aos representantes do norte Espírito Santo e Minas Gerais e sul da Bahia. Observa-se ainda que Iack-Ximenes (2005) considera como *T. s. denigratus* espécimes de Valença (BA), norte do Espírito Santo e de Minas Gerais, porém no presente estudo, esses indivíduos se organizam em clados distintos, sendo os exemplares de Valença (BA) agrupados em um clado (Clado C) junto aos indivíduos de Cristinápolis (SE) e os espécimes do norte do Espírito Santo e de Minas Gerais se agrupam em um clado distinto (Clado A), com divergência entre si de 8,38%.

A interpretação desse trabalho é de que Iack-Ximenes (2005) considerou os exemplares das duas subespécies como pertencente a uma única subespécie. Provavelmente em seu estudo propôs a sinonímia por analisar indivíduos de diferentes subespécies na mesma amostra, não permitindo identificar os caracteres morfológicos diagnósticos que levariam a separação das mesmas.

A hipótese de que o clado A (*denigratus*) é uma subespécie distinta do clado C (*setosus*) é corroborada por estudos anteriores de Agrizzi (2013) e Lara e Patton (2000). Em 2013, Agrizzi estudou a filogeografia de espécies de *Trinomys* na região central da Mata Atlântica, através de sequências do gene citB e vWF, e identificou dois filogrupos: '*T. setosus* Valença' (aqui considerado *T. s. setosus*), representado por um exemplar de Valença (BA) e '*T. setosus* outros' (aqui chamado *T. s. denigratus*), das localidades de Leme do Prado (MG), Linhares, Sooretama e Pancas (ES) separados na filogenia por um valor de divergência de 6,8%, que segundo o autor corresponde a cerca de 11 vezes a divergência intraespecífica do filogrupo '*T. setosus* outros'. O trabalho indica a possibilidade de se tratarem de subespécies distintas, mas não chega a considerações conclusivas pelo fato do número de espécimes analisados ser reduzido.

Lara e Patton (2002) analisaram sequências de citB de exemplares denominados *T. s. setosus* das localidades de Valença (BA) e Cristinápolis (SE), *T. s. denigratus* de Conceição do Mato Dentro (MG) e de *T. s. elegans* de Rio Casca (MG). A divergência entre os clados *T. s. setosus* e *T. s. denigratus* foi de 7,78% e os autores concluem através das relações filogenéticas, a existência dessas três subespécies em *T. setosus*.

A hipótese aceita no presente estudo corrobora com os achados de Lara e Patton (2000) ao assumir as três subespécies dentro de *T. setosus*. Dada a distribuição parapátrica, é razoável a taxa de divergência genética baixa de 3,57% entre *T. s. denigratus* (Clado A) e *T. s. elegans* (Clado B).

É provável que os exemplares de Itambé (BA), devido à localização geográfica, pertençam a *T. s. denigratus*, com localidade tipo em Itabuna (BA), entretanto são necessárias análises para a confirmação a posição filogenética desses espécimes.

A partir dos dados citogenéticos disponíveis na literatura juntamente com os gerados no presente estudo, observa-se que há distinção nos cariótipos associados a *T. s. denigratus* e *T. s. elegans*. Corrêa et al. (2005) cariotipou um exemplar macho de *T. s. elegans* da localidade de Santa Bárbara (MG) e encontrou $2n=56/FN=104$, com 25 pares de metacêntricos/submetacêntricos e dois pares de acrocêntricos pequeno. O X é um acrocêntrico

grande e o Y um acrocêntrico pequeno. No presente trabalho, o cariótipo de *T. s. denigratus* é descrito pela primeira vez para espécimes de Almenara (MG), Pancas e Sooretama (ES), apresentando $2n=56/FN=108$ formado por 28 pares de cromossomos de dois braços, sendo o par sexual idêntico ao descrito para *T. s. elegans* e distintos por quatro eventos de inversão pericêntrica. Ainda não há registros de cariótipos dos animais coletados em Valença e Cristinápolis (*T. s. setosus*).

Dessa maneira, baseando-se nos dados cromossômicos juntamente com os dados discutidos da literatura reconhecemos três subespécies para *T. setosus*, invalidando a sinonímia de *denigratus* com *setosus*, como proposto por Iack-Ximenes (2005). *T. s. denigratus* apresenta $2n=56/FN=108$, correspondente ao clado A do presente estudo, *T. s. elegans* apresenta $2n=56/FN=104$ e corresponde ao clado B do presente estudo e *T. s. setosus* não possui cariótipo descrito e está representado pelo clado C do presente estudo. O Vale do Rio Doce parece ser uma barreira efetiva para a separação dos cladogramas A e B.

T. albispinus

Segundo Pessôa et al. (2015), com base em caracteres craniais, são reconhecidas duas subespécies para *Trinomys albispinus*: *T. a. albispinus* e *T. a. minor*.

Gomes e Souza et al. (2006) coletaram um espécime reconhecido pelos autores como *T. a. albispinus* em Cachoeira do Ferro Doido (Morro do Chapéu, BA) localizado a 30 km da localidade tipo de *T. a. minor* e utilizaram caracteres morfológicos qualitativos para o reconhecimento das subespécies, uma vez que não são facilmente reconhecidas pelos métodos de morfometria. Esse exemplar foi cariotipado e apresentou $2n=60/FN=116$, sendo idêntico na morfologia aos cromossomos descritos por Leal-Mesquita et al. (1992) para exemplares de Morro do Chapéu (BA) e que foram associados a *T. a. minor* por Pessôa e Reis (2005). Os autores argumentam que a região de Morro do Chapéu é uma zona de contato entre *T. a. minor* e *T. a. albispinus* e que a similaridade cariotípica entre as formas é um indicativo de divergência recente ou um processo de divergência, fato esse que justifica a distinção taxonômica em níveis subespecíficos.

No presente estudo, um exemplar proveniente de Andaraí (BA, LPC226) foi cariotipado e apresentou $2n=60/FN=116$. Esse exemplar e o estudado por Leal-Mesquita et al. (1992) de Morro do Chapéu (BA, JMM890001- localidade tipo de *T. a. minor*) foram sequenciados, juntamente com mais cinco sequências (três disponíveis no GenBank e duas cedidas pelo Dr. James Patton), para gerar uma filogenia que apresentou dois ramos irmãos

com alto suporte e com divergência de 5,21%. O exemplar de Andaraí (BA) se associou ao ramo com os indivíduos provenientes de Bocaiúva (MG), localidade de ocorrência de *T. a. albispinus* (Pessôa et al., 2015), enquanto que o exemplar proveniente de Morro do Chapéu (BA), localidade tipo de *T. a. minor*, se associou ao ramo contendo o exemplar da Fazenda Cruzeiro (SE), localidade de ocorrência de *T. a. albispinus* (Pessôa et al., 2015).

Segundo Pessôa et al. (2015), *T. a. albispinus* tem ocorrência ampla do norte de Minas a Sergipe (Cachoeira do Ferro Doido, Feira de Santana, Ibiraba, Jequié, Lamarão, Seabra, Senhor do Bonfim e Vitória da Conquista na Bahia, Bocaiúva e Irapé em Minas Gerais, Canindé de São Francisco e Cristinápolis no Sergipe), enquanto que *T. a. minor* tem distribuição mais restrita na Bahia (Caetité, Catolés de Cima, Abaíra, Fazenda Juramento e Morro do Chapéu). Ainda, Gomes e Souza et al. (2006) identifica Morro do Chapéu como uma região de contato entre *T. a. minor* e *T. a. albispinus* e Pessôa e Reis (2005), Gomes e Souza et al. (2006) e Iack-Ximenes (2005), distinguem as subespécies de *T. albispinus* pelo menor tamanho do corpo e do crânio presentes em *T. a. minor*.

Entretanto, na filogenia molecular do presente estudo, o exemplar JMM89001 se localizou no clado A, sendo o mesmo cariotipado por Leal-mesquita et al. (1992) da localidade de Morro do Chapéu (BA) e identificado morfológicamente como *T. a. minor* por Pessôa e Reis (2005). Enquanto que no clado B, os exemplares AP13 e AP36 foram identificados por Iack-Ximenes (2005) como representantes de *T. a. minor* e *T. a. albispinus*, respectivamente. Esse resultado demonstra que não há uma estruturação genética que diferencie as formas morfológicas das subespécies apresentadas por Pessôa e Reis (2005) e Iack-Ximenes (2005).

Assim, através dos presentes dados, observa-se que devido à baixa divergência genética entre os cladogramas de *T. albispinus* denominados A e B (5,21%), a associação das diferentes subespécies tanto no clado A quanto no B, e a ausência de distinção cariotípica entre as formas, consideramos que não há evidências citogenéticas e moleculares para a separação de *T. albispinus* em duas subespécies. O que se pode observar é uma variação morfológica dentro de *T. albispinus* sem estruturação genética, cromossômica e geográfica.

O presente estudo trouxe informações robustas de que o estudo evolutivo em *Trinomys* não pode ser desatrelado de uma abordagem integrativa, envolvendo dados cariotípicos, moleculares, morfológicos e geográficos. Algumas incongruências ainda merecem esclarecimentos, devido à falta de exemplares coletados em localidades chave de simpatria ou diversificação. Enquanto houve sugestão de extinção de algumas subespécies (como a

sinonímia de *T. g. bonafidei* e *T. g. graciosus*), houve a sugestão de revalidação de *T. s. denigratus*. O gênero apresenta forte estruturação geográfica de modo geral, espécies claramente definidas do ponto de vista morfológico, molecular e citogenético, com relativamente alta divergência intraespecífica em alguns casos. O presente estudo reforça a importância dos dados cariotípicos na caracterização das espécies de roedores, e mostra que o $2n$ e FN devem ser usados como caracteres diagnósticos no gênero *Trinomys*, o qual apresenta cariótipos espécie-específicos.

Referências

- Agrizzi, J (2013) Filogeografia comparada de *Trinomys spp.* (Rodentia: Echimyidae) na região central da Mata Atlântica. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 29 pp.
- Attias N, Raices DSL, Pessoa FS, Albuquerque HG, Jordao-Nogueira T, Modesto TC e Bergallo HD (2009) Potential distribution and new records of *Trinomys* species (Rodentia: Echimyidae) in the state of Rio de Janeiro. *Zoologia* 26:305–315. doi: 10.1590/S1984-46702009000200013
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY e Burke T (1992) Single-locus and DNA fingerprinting. *Molecular Genetic Analyses of Populations: a Practical Approach* (ed. by A.R. Hoelzel), pp. 225–269. IRL Press, Oxford.
- Carvalho GAS e Salles LO (2004) Relationships among extant and fossil echimyids (Rodentia: Hystricognathi): *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 142, p. 445–477. doi:10.1111/j.1096-3642.2004.00150.x.
- Corrêa MMO, Lopes MOG, Câmara EVC, Oliveira LC e Pessoa LM (2005) The Karyotypes of *Trinomys moojeni* (Pessoa, Oliveira & Reis 1992) and the *Trinomys setosus elegans* (Lund, 1842) (Rodentia, Echimyidae) from Minas Gerais, eastern Brazil. *Arq do Mus Nac* 63:169–174.
- Dalapicolla J e Leite YLR (2015) Taxonomic implications of morphological variation in three species of *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae) from eastern Brazil. *Zootaxa* 3919:61. doi: 10.11646/zootaxa.3919.1.3

Darriba DT, Tobada GL e Doallo RPD (2012) JModelTest 2 More Models, New Heuristics and Parallel Computing. *Nat. Methods* 9:772.

Fagundes V, Leal-Mesquita ERRR, Rocha PLB e Yonenaga-Yassuda Y (1993) Comparative cytogenetic studies of two karyomorphs of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). *Genetics and Molecular Biology, Brasil*, v. 16, n.3, p. 639-651.

Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W e Gascuel O (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol* 59:307–321. doi: 10.1093/sysbio/syq010

Gomes e Souza AL, Pessôa LM, Corrêa MM de O (2006) Morphometric discrimination between *Trinomys albispinus* (IS. Geoffroy, 1838) and *Trinomys minor* (Reis & Pessoa, 1995) from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil, and the karyotype of *Trinomys albispinus* (Rodentia: Echimyidae). *Arq do Mus Nac Rio Janeiro* 64:325–332.

Howell WM e Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36:1014–1015.

Huchon D, Catzelis FM e Douzery EJP (1999) Molecular evolution of the nuclear von Willebrand factor gene in mammals and the phylogeny of rodents. *Mol. Biol. Evol.* 16:577–589.

Iack-Ximenes GE (2005) Revisão de *Trinomys* Thomas, 1921 (Rodentia, Echimyidae). Universidade de São Paulo, São Paulo, 265 pp.

Kumar S, Stecher G e Tamura K (2015) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*.

Lara MC e Patton JL (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zool J Linn Soc* 130:661–686. doi: 10.1006/zjls.2000.0240

Lara MC, Patton JL e da Silva MNF (1996) The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Mol Phylogenet Evol* 5:403–413. doi: 10.1006/mpev.1996.0035

Lara MC, Patton JL e Hingst-Zaher E (2002) *Trinomys mirapitanga*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from the Brazilian Atlantic. *Mamm Biology* 67:233–242. doi:10.1078/1616-5047-00034

Leal-Mesquita ER, Yonenaga-Yassuda Y, Chu TH e Da Rocha PLB (1992) Chromosomal characterization and comparative cytogenetic analysis of two species of *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from the Caatinga domain of the State of Bahia, Brazil. *Caryologia* 45:197–212. doi: 10.1080/00087114.1992.10797223

Moojen J (1948) Speciation in the Brazilian spiny rats (genus *Proechimys*, family Echimyidae). University of Kansas Publications, Museum Natural History, 1, 303–401.

Paresque R, Souza WP, Mendes SL e Fagundes V (2004) Composição cariotípica da fauna de roedores e marsupiais de duas áreas de Mata Atlântica do Espírito Santo , Brasil. *Bol Mus Biol Mello Leitão* 55:5–33.

Pessoa LM, Tavares WC, Oliveira JA e Patton JL (2015) Genus *Trinomys* Thomas, 1921. In: Patton JL, Pardiñas UFJ e D'Elía G (Eds) *Mammals of South America*. Vol. 2. Rodents. University Of Chicago Press, Chicago.

Pessoa LM, Corrêa MMO, Bitencourt E e dos Reis SF (2005) Chromosomal characterization of taxa of the genus *Trinomys* Thomas, 1921, (Rodentia: Echimyidae) in the states of Rio de Janeiro and São Paulo. *Arq do Mus Nac Rio Janeiro* 63:161–168.

Pessoa LM, Reis SF e Pessoa MF (1996) Bacular variation in subspecies taxonomy of the Brazilian spiny rat *Proechimys (Trinomys) iheringi*. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 31, 129–132. <http://dx.doi.org/10.1076/snfe.31.3.129.13339>

Pessoa LM e dos Reis SF (1995) Coat color variation in *Proechimys albispinus* (Geoffroy, 1838) (Rodentia, Echimyidae). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série Zoologia*, 361, 1-5.

Rocha PLB (1995) *Proechimys yonenagae*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from fossil sand dunes in the Brazilian Caatinga. *Mammalia* 4:537–549.

Smith MF e Patton JL (1993) The diversification of Sout American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biol J Linn Soc* 50:149–177.

Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75:304-306.

Tavares WC, Pessôa LM e Seuánez HN (2015) Plio-Pleistocene history of the endangered spiny rat *Trinomys eliasi* (Echimyidae) from Rio de Janeiro, Brazil. *J Mammal* 96:94–106. doi: 10.1093/jmammal/gyu010

Yonenaga-Yassuda Y, De Souza MJ, Kasahara S, L'Abbate M e Chu HT (1985) Supernumerary System in *Proechimys Iheringi Iheringi* (Rodentia, Echimyidae), from the State of São Paulo, Brazil. *Caryologia* 38:179–194. doi: 10.1080/00087114.1985.10797742

Xia X (2013) DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 1720– 1728.

Yonenaga Y (1975) Karyotypes and chromosome polymorphism in Brazilian rodents. *Caryologia* 28:269–286. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00087114.1975.10796617>

Zanchin NI (1988) Estudos cromossômicos em orizominos e equimídeos da Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 162.

Anexo 1. Relação dos exemplares utilizados no presente estudo para as análises citogenéticas.

Espécime	Código Coletor	Sexo	2n	FN	Localidade ¹	Coordenada
<i>Trinomys setosus</i>						
LGA1157	LPC947	M	56	108	Pedra Camelo, Pancas, ES	19°14'S 40°46'O
LGA2182	LC77	F	56	108	EE Acauã, Turmalina, MG	17°08'S 42°46'O
LGA3381	YL710	F	56	108	Estrada do Quirino, REBIO Sooretama, Sooretama, ES	18°59'S 40°7'O
<i>Trinomys gratosus</i>						
LGA35	MP932	F	56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	19°55'S 40°36'O
LGA36	-	F	56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	19°55'S 40°36'O
LGA41	-	M	56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	19°55'S 40°36'O
LGA185	-	F	56	108	EB Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	19°57'S 40°32'O
LGA708	-	F	56	108	EB Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	19°57'S 40°32'O
LGA880	-	F	56	108	Santa Maria de Jetibá, ES	20°02'S 40°42'O
LGA881	-	F	56	108	Santa Maria de Jetibá, ES	20°02'S 40°42'O
LGA966	RP06	F	56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	20°22'S 40°40'O
LGA967	RP19	M	56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	20°22'S 40°40'O
LGA990	-	F	56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	20°02'S 40°40'O
LGA1198	-	M	56	108	PARNA Caparaó, Ibitirama, ES	20°29'S 41°43'O
LGA1212	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Ibitirama, ES	20°29'S 41°43'O
LGA1213	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Ibitirama, ES	20°29'S 41°43'O
LGA1557	-	M	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°44'O
LGA1566	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°44'O
LGA1568	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°44'O
LGA1573	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°44'O
LGA1578	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°44'O
LGA1596	-	F	56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	20°23'S 41°15'O
LGA1807	BAC245	M	56	108	Fazenda Recanto, Muqui, ES	21°00'S 41°44'O
LGA2354	DMR14	M	56	108	Alto Misterioso, Jacutinga, Santa Teresa, ES	19°48'S 40°46'O
LGA2355	DMR15	F	56	108	Alto Misterioso, Jacutinga, Santa Teresa, ES	19°48'S 40°46'O
LGA2366	DMR26	F	56	108	Alto Misterioso, Jacutinga, Santa Teresa, ES	19°48'S 40°46'O
LGA2563	BAC369	M	56	108	12,75 Km do centro de Santa Leopoldina, Santa Leopoldina, ES	20°5'S 40°36'O
LGA2582	BAC373	M	56	108	12,75 Km do centro de Santa Leopoldina, Santa Leopoldina, ES	20°5'S 40°36'O

Anexo 1. Continuação

Espécime	Código Coletor	Sexo	2n	FN	Localidade¹	Coordenada	
<i>Trinomys paratus</i>							
LGA379	-	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Alto Alegre, Cariacica, ES	20°16'S	40°25'O
LGA595	-	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Alto Alegre, Cariacica, ES	20°16'S	40°28'O
LGA1508	SLF142	F	58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	20°23'S	40°26'O
LGA1505	SLF135	F	58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	20°23'S	40°26'O
LGA1762	SLF177	F	58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	20°23'S	40°26'O
LGA1777	SLF189	M	58	112	Lagoa de Jacuném, Serra, ES	20°18'S	40°23'O
LGA1839	LPC996	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1844	LPC1002	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1845	LPC1003	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1846	LPC1004	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1849	LPC1007	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1850	LPC1008	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1864	LPC1012	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1873	LPC1022	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1875	LPC1025	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1877	LPC1038	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1878	LPC1039	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1887	LPC1056	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1888	LPC1057	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1963	LPC1086	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1964	LPC1090	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1965	LPC1097	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1966	LPC1089	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1971	LPC1085	M	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA1972	LPC1082	F	58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	20°28'S	40°51'O
LGA4072	YL853	M	58	112	Sítio Pedra D'água, APA Mestre Álvaro, Serra, ES	20°90'S	40°18'O
LGA4486	YL887	M	58	112	Rio da Prata, Guarapari, ES	21°06'S	40°51'S
LGA4490	YL893	F	58	112	Buenos Aires, Guarapari, ES	20°34'S	40°32'O

Anexo 1. Continuação

Espécime	Código Coletor	Sexo	2n	FN	Localidade ¹	Coordenada	
<i>Trinomys paratus</i>							
LGA4491	YL892	F	58	112	Buenos Aires, Guarapari, ES	20°39'S	40°32'O
LGA4500	YL907	F	58	112	Rio da Prata, Guarapari, ES	21°06'S	40°51'S
LGA4501	YL898	F	58	112	Rio da Prata, Guarapari, ES	21°06'S	40°51'S
LGA5006	YL959	M	58	112	Buenos Aires, Guarapari, ES	20°34'S	40°32'O
LGA5007	YL960	M	58	112	Buenos Aires, Guarapari, ES	20°34'S	40°32'O
<i>Trinomys albispinus</i>							
LGA2184	LPC226	M	60	116	Fazenda Santa Rita, Andaraí, BA	12°48'S	41°15'O

¹EE: Estação Ecológica; REBIO: Reserva Biológica; EB: Estação Biológica; PE: Parque Estadual; PARNA: Parque Nacional; APA: Área de Proteção Ambiental; ES: Espírito Santo; BA: Bahia. Códigos coletores: BAC: B. A. Costa; BIO: Y. Yonenaga-Yassuda; DMR: D. M. Rossoni; JJM: não identificado; LGA: Laboratório de Genética Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; LC/LPC: L. P. Costa; MP: M. Passamani; RP: R. Paresque; SLF: S. L. Freitas; YL: Y. Leite.

Anexo 2. Relação de exemplares utilizados nos estudos moleculares, contendo informações do cariótipo (quando houver), localidades geográficas e o código de acesso do GenBank no caso de sequências retiradas do mesmo.

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu			Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	
		2N	FN		Referência	Referência		
<i>T. s. denigratus</i>								
UFESCTA1113	UFESCTA1113							
LC77 LGA2182	LC77 LGA2182	56	108	EE Acauã, Turmalina, MG	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹	
UFESMAM2043	UFESMAM2043			Estrada do Quirino, REBIO				
YL710 LGA3381	YL710LGA3381	56	108	Sooretama, Sooretama, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹	
UFESMAM 289								
LPC947 LGA1157		56	108	Pedra Camelo, Pancas, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹	
	MNRJ31441			Mata da Praúna, Conceição do Mato Dentro, MG			AF422923	
				Mata da Praúna, Conceição do Mato Dentro, MG			AF194284	
	EDH9			Mata da Praúna, Conceição do Mato Dentro, MG			AF194285	
	EDH10			Mata da Praúna, Conceição do Mato Dentro, MG			AF194285	
	LG473			Joáima, MG			KF562095	
	AMOP101			Morro do Pilar, MG			KF562096	
				Fazenda Aldeia, Valença, BA			AF194286	
				Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE			AF194287	
				Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE			AF194288	
				Fazenda Aldeia, Valença, BA			AF194289	
AL3072				Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE				AJ849317

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	Referência	Número de acesso	Referência	Número de acesso
<i>T. s. elegans</i>								
	MNRJ31448			Fazenda Esmeralda, Rio Casca, MG		AF422924		
	EDH18			Rio Casca, MG		AF194283		
<i>T. g. gratiosus</i>								
LGA35		56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	PE		PE	
LGA36		56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	PE		PE	
LGA41		56	108	Valsugana Velha, Santa Teresa, ES	PE		PE	
LGA185		56	108	EB Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	PE		PE	
LGA708		56	108	EB Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	PE		PE	
LGA880		56	108	Santa Maria de Jetibá, ES	PE		PE	
LGA881		56	108	Santa Maria de Jetibá, ES	PE		PE	
LGA966		56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	PE		PE	
LGA967		56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	PE		PE	
LGA990		56	108	PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	PE		PE	
LGA972				PE Pedra Azul, Domingos Martins, ES	PE			
LGA1212								
UFESMAM1818		56	108	PARNA Caparaó, Ibitirama, ES	PE		PE	
LGA1213								
UFESMAM1819		56	108	PARNA Caparaó, Ibitirama, ES	PE		PE	
LGA1557								
UFESMAM1820		56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	PE		PE	
LGA1566								
UFESMAM1821		56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	PE		PE	

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	Número de acesso
					Referência	Referência		
LGA1573								
UFESMAM1823		56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	PE			PE
LGA1578								
UFESMAM1824		56	108	PARNA Caparaó, Irupi, ES	PE			PE
	NPM227			Central Hidrelétrica, Domingos Martins, ES			KJ707248	
				Santa Rita Jacutinga, Boqueirão, MG			AF194328	
				Rio Pedra Roxa, PARNA Caparaó, MG			AF194327	
				Santa Rita Jacutinga, Boqueirão, MG			AF194280	
				Rio Pedra Roxa, PARNA Caparaó, MG			AF194279	
				Rio Pedra Roxa, PARNA Caparaó, ES			AF194278	
				EB Santa Lúcia, Santa Teresa, ES			AF194277	
				Fazenda Bene, Passa Vinte, MG			AF194329	
<i>T. g. bonafidei</i>								
				Fazenda São José da Serra, Serra do Paquequer, Teresópolis, RJ			AF194330	
				Fazenda São José da Serra, Serra do Paquequer, Teresópolis, RJ			AF194281	
<i>T. paratus</i>								
LGA379		58	112	REBIO Duas Bocas, Alto Alegre, Cariacica, ES	PE			PE
LGA595		58	112	REBIO Duas Bocas, Alto Alegre, Cariacica, ES	PE			

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	CitB		Localidades Geográficas	Referência	vWF	
		2N	FN			Número de acesso	Referência
UFESMAM814 SLF135LGA1505		58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	PE		PE
UFESMAM671 SLF142 LGA1508		58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	PE		
UFESMAM817 SLF177 LGA1762		58	112	Fazenda Boa Baixa, Viana, ES	PE		PE
UFESMAM967 SLF189 LGA1777		58	112	Lagoa de Jacuném, Serra, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM632 LPC1002 LGA1844		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM642 LPC1003 LGA1845		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM645 LPC1004 LGA1846		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM651 LPC1007 LGA1849		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM654 LPC1008 LGA1850		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM653 LPC1012 LGA1864		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM658 LPC1022 LGA1873		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM640 LPC1025 LGA1875		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM629 LPC1038 LGA1877		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM644 LPC1039 LGA1878		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM643 LPC1056 LGA1887		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu			Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso
		2N	FN		Referência	Referência	
UFESMAM647 LPC1057 LGA1888		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM649 LPC1086 LGA1963		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM660 LPC1090 LGA1964		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM655 LPC1097 LGA1965		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM661 LPC1089 LGA1966		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM657 LPC1085 LGA1971		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM652 LPC1082 LGA1972		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
	YL34			Grota da Aracruz Florestal, Aracruz, ES		U35165	AJ849316
	MBML3033			Morro da Vargem, Ibirapu, ES		KF562094	
	ML92			EB de Caratinga, Caratinga, MG		AF194294	
	ML91			EB de Caratinga, Caratinga, MG		AF194293	
	EDH20			EB de Caratinga, Caratinga, MG		AF194291	
	EDH21			EB de Caratinga, Caratinga, MG		AF194292	
UFESMAM649 LPC1086 LGA1963		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM660 LPC1090 LGA1964		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM655 LPC1097 LGA1965		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹
UFESMAM661 LPC1089 LGA1966		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹		Agrizzi, 2013 ¹

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso
					Referência	Referência	
UFESMAM657 LPC1085 LGA1971		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹	Agrizzi, 2013 ¹	
UFESMAM652 LPC1082 LGA1972		58	112	REBIO Duas Bocas, Cariacica, ES	Agrizzi, 2013 ¹	Agrizzi, 2013 ¹	
	YL34			Grota da Aracruz Florestal, Aracruz, ES			U35165 AJ849316
	MBML3033			Morro da Vargem, Ibirapu, ES			KF562094
	ML92			EB de Caratinga, Caratinga, MG			AF194294
	ML91			EB de Caratinga, Caratinga, MG			AF194293
	EDH20			EB de Caratinga, Caratinga, MG			AF194291
	EDH21			EB de Caratinga, Caratinga, MG			AF194292
<i>T. albispinus</i>							
UFESMAM632 LPC1002 LGA2184		60	116	Fazenda Santa Rita, Andaraí, BA	Agrizzi, 2013	Agrizzi, 2013	
BIO737	JMM89001	60	116	Morro do Chapéu, BA	PE		
	AP36			Fazenda Corredor, Bocaiúva, MG	J. L Patton ²		
UFESMAM632 LPC1002 LGA2184		60	116	Fazenda Santa Rita, Andaraí, BA	Agrizzi, 2013	Agrizzi, 2013	
BIO737	JMM89001	60	116	Morro do Chapéu, BA	PE		
	AP36			Fazenda Corredor, Bocaiúva, MG	J. L Patton ²		
	AP13			Fazenda Corredor, Bocaiúva, MG	J. L Patton ²		
	AL3054			Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE			KM014008 EU313251 KM014003

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	Número de acesso	vWF	Número de acesso
					Referência		Referência	
	AP13			Fazenda Corredor, Bocaiúva, MG	J. L Patton ²			
	AL3054			Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE		KM014008		
				Fazenda Cruzeiro, Cristinápolis, SE		EU313251		KM014003
						AF194282		
<i>T. iheringi</i>								
APC2501/CIT2173				Parque estadual Caraguatatuba, SP	PE			
CIT21		62	116	Intervales, Saibadela, SP	PE			
CIT334		64	116	Iguape, SP	PE			
	MZUSP29400			Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião, SP		U35171		
	NSV15			PE Serra do Mar, Ubatuba, SP	J. L Patton ²			
CIT1616				Boracéia, SP		EU544664		
	FMNH141668					EU313255		
	FMNH141667			Ilha do Cardoso, SP		EU313254		KF590677
				Ilha do Cardoso, SP		AF194324		
				Ilha do Cardoso, SP		AF194323		
				Fazenda Intervales, Capão Bonito, SP		AF194322		
				Fazenda Intervales, Capão Bonito, SP		AF194321		
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP		AF194320		
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP		AF194319		

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	Número de acesso
					Referência	Referência		
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194318	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194317	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194316	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194315	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194314	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194313	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194312	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194311	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194310	
				Fazenda da Toca, Ilha de São Sebastião Ilha Bela, SP			AF194309	
				EB de Boracéia, Mogi das Cruzes, SP			AF194308	
				Fazenda Capricórnio, Ubatuba, SP			AF194307	
				Fazenda Capricórnio, Ubatuba, SP			AF194306	
<i>T. yonenagae</i>								
	PEU880027			Ibiraba, BA			U35172	AJ849318
				Dunas do Rio São Francisco, Vila Bonfim, Ibiraba, BA			AF194295	

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	Número de acesso
					Referência	Referência		
<i>T. moojeni</i>								
				Serra do Caraça, MG			KF562097	
<i>T. mirapitanga</i>								
	MNRJ31459			EB Pau Brasil, Porto Seguro, BA			U35173	
	ML110			EB Pau Brasil, Porto Seguro, BA			AF194326	
	EDH33			EB Pau Brasil, Porto Seguro, BA			AF194325	
<i>T. eliasi</i>								
ML141				Restinga de Maricá, RJ			U35166	
				PARNA Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ			KJ707246	
				PARNA Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ			KJ707245	
				Mata do Carvão, São Francisco do Itabapoana, RJ			KF562093	
				Morro da Itaoca, Campos dos Goytacazes, RJ			KF562090	
				REBIO União, Rio das Ostras, RJ			KF562084	
				REBIO União, Rio das Ostras, RJ			KF562083	
				REBIO União, Rio das Ostras, RJ			KF562082	
				REBIO União, Rio das Ostras, RJ			KF562081	
				Restinga de Maricá, RJ			AF194290	
				Fazenda Santa Helena, Silva Jardim, RJ			KF562079	

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	Número de acesso
					Referência	Referência		
				Fazenda Santa Helena, Silva Jardim, RJ			KF562080	
				REBIO União, Rio das Ostras, RJ			KF562085	
				PARNA Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ			KJ707247	
				PARNA Restinga de Jurubatiba, Carapebus, RJ			KF562088	
				Cabiúnas, Macaé, RJ			KF562086	
				Cabiúnas, Macaé, RJ			KF562087	
				Cabiúnas, Macaé, RJ			KJ707244	
				Morro da Itaoca, Campos dos Goytacazes, RJ			KF562091	
				Morro da Itaoca, Campos dos Goytacazes, RJ			KF562092	
				Morro da Itaoca, Campos dos Goytacazes, RJ			KF562089	
<i>T. dimidiatus</i>								
	MNRJ31413			Mata da Rifa, PE do Desengano, Santa Maria Magdalena, RJ			U35168	
				Fazenda Inglesa, Petrópolis, RJ			U35170	
				Mambucaba, Angra dos Reis; RJ			U35169	
				Nova Friburgo, RJ			U35167	
							NC021388	
				Mambucaba, Angra dos Reis; RJ			AF194305	
				Mambucaba, Angra dos Reis; RJ			AF194304	

Anexo 2. Continuação

Cod. Exemplar	Cod. Coletor/Museu	2N	FN	Localidades Geográficas	CitB	vWF	Número de acesso	Número de acesso
					Referência	Referência		
				Serra dos Órgãos, Garrafão, RJ			AF194303	
				Serra dos Órgãos, Garrafão, RJ			AF194302	
				Serra dos Órgãos, Garrafão, RJ			AF194301	
				Serra dos Órgãos, Garrafão, RJ			AF194300	
				Serra dos Órgãos, Garrafão, RJ			AF194299	
				Nova Friburgo, RJ			AF194298	
	ML98			Nova Friburgo, RJ			AF194297	
				PE do Desengano, Santa Maria Madalena, RJ.			AF194296	KJ742620
				<i>Euryzgomatomys spinosus</i>			EU544667	AJ849319
				<i>Clyomys laticeps</i>			AF422918	AJ849306

¹Sequências geradas pelo trabalho de Agrizzi, 2013 e cedidas por Y. L. R. Leite. ²Sequências cedidas por J. L. Patton. PE: Sequências geradas pelo presente estudo. Siglas das coleções e coletores: AL:Alfredo Langguth; AMOPI: S. Talamoni e F. Kessen-Ferreira; AP: A. Paglia; APC: A. P. Carmignotto; BIO/CIT: Y. Yonenaga-Yassuda; EDH: E. D. Hingst; FMNH: Field Museum of Natural History, Chicago, EUA; LGA: Laboratório de Genética Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; LG: Lena Geise; LC/LPC: L. P. Costa; MBML: Museu de Biologia Professor Mello Leitão, Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil; Brasil; ML: M. Lara; MNRJ: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; MZUSP: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil; NSV: Núcleo de Pesquisa em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé, Macaé; Rio de Janeiro, Brasil; PEU: P. L. B. da Rocha; SLF: S.L. Freitas; UFESMAM/CTA: Coleção de Mamíferos/Coleção de Tecidos e DNA, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; YL: Y. Leite.

Anexo 3. Divergências genéticas intraespecíficas (em vermelho) e interespecíficas (quadrante abaixo) em *Trinomys*, baseada em 150 sequências do gene citocromo b, conforme Anexo 2. Acima estão os desvios padrão.

	<i>T. iheringi</i>	<i>T. dimidiatus</i>	<i>T. mirapitanga</i>	<i>T. graciosus</i>	<i>T. moojeni</i>	<i>T. albispinus</i>	<i>T. paratus</i>	<i>T. eliasi</i>	<i>T. setosus</i>	<i>T. yonenagae</i>	<i>Clyomys</i>	<i>Euryzomatomys</i>
<i>T. iheringi</i>	0,85	2,08	2,07	2,36	2,40	2,84	2,78	2,80	2,53	2,64	2,89	2,66
<i>T. dimidiatus</i>	13,22	2,58	1,96	2,25	2,33	2,50	2,46	2,42	2,64	2,35	2,77	2,39
<i>T. mirapitanga</i>	12,04	11,61	0,00	2,19	2,41	2,52	2,41	2,34	2,41	1,99	2,66	2,39
<i>T. graciosus</i>	15,96	14,54	13,12	2,00	1,98	2,42	2,30	2,29	2,29	2,18	2,59	2,28
<i>T. moojeni</i>	16,24	15,00	14,37	10,99	nc	2,36	2,72	2,39	2,39	2,26	2,71	2,33
<i>T. albispinus</i>	20,50	17,63	17,70	16,71	15,61	3,15	2,36	2,36	2,37	2,33	2,34	2,46
<i>T. paratus</i>	18,40	16,67	14,91	15,37	17,62	16,69	0,52	1,15	2,31	2,06	2,35	2,38
<i>T. eliasi</i>	19,29	16,80	14,58	15,39	15,57	16,70	5,42	0,63	2,33	2,13	2,14	2,22
<i>T. setosus</i>	18,83	18,91	16,50	16,32	16,60	17,51	16,42	17,09	5,20	1,72	2,50	2,32
<i>T. yonenagae</i>	17,40	15,04	11,16	13,56	12,97	15,52	12,62	13,07	10,59	0,30	2,44	2,01
<i>Clyomys</i>	20,31	20,97	18,32	18,63	19,37	16,22	15,77	14,05	18,40	16,50	nc	2,19
<i>Euryzomatomys</i>	17,99	16,51	15,42	15,64	15,25	17,03	16,37	15,01	16,70	12,20	13,45	nc

Anexo 4 . Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de *T. graciosus* (em cinza) e as demais espécies de *Trinomys* do presente estudo. Divergências genéticas intraespecíficas (em vermelho) e interespecíficas (quadrante abaixo), baseada em 150 sequências do gene citocromo b, conforme Anexo 2. Acima estão os desvios padrão.

	<i>T. iheringi</i>	<i>T. dimidiatus</i>	<i>T. mirapitanga</i>	<i>T. graciosus</i>	<i>T. bonafidei</i>	<i>T. graciosus total</i>	<i>T. moojeni</i>	<i>T. albispinus</i>	<i>T. paratus</i>	<i>T. eliasi</i>	<i>T. setosus</i>	<i>T. yonenagae</i>	<i>Clyomys</i>	<i>Euryzomatomys</i>
<i>T. iheringi</i>	0,82	2,13	2,04	2,53	2,74	2,54	2,48	2,85	2,81	2,85	2,62	2,80	2,92	2,72
<i>T. dimidiatus</i>	13,78	2,56	1,92	2,14	2,30	2,14	2,27	2,52	2,47	2,53	2,54	2,36	2,89	2,48
<i>T. mirapitanga</i>	12,23	11,52	0,00	2,21	2,35	2,21	2,42	2,60	2,49	2,49	2,45	2,11	2,96	2,56
<i>T. graciosus</i>	17,14	14,74	13,82	2,13	0,73	0,36	2,00	2,37	2,45	2,47	2,41	2,20	2,73	2,49
<i>T. bonafidei</i>	18,15	15,48	14,36	2,95	0,29	0,67	2,01	2,46	2,46	2,52	2,51	2,32	2,91	2,66
<i>T. graciosus total</i>	17,22	14,79	13,86	2,11	2,74	2,24	1,99	2,36	2,44	2,46	2,41	2,20	2,73	2,50
<i>T. moojeni</i>	16,65	15,13	14,84	11,54	10,82	11,49	nc	2,32	2,61	2,43	2,43	2,20	2,90	2,42
<i>T. albispinus</i>	21,29	18,22	18,58	17,13	17,40	17,15	15,64	3,06	2,38	2,45	2,38	2,38	2,42	2,63
<i>T. paratus</i>	19,07	17,34	16,03	15,98	15,91	15,97	17,58	17,05	0,50	1,20	2,36	2,11	2,38	2,51
<i>T. eliasi</i>	19,95	17,51	15,75	16,02	16,04	16,02	15,62	16,96	5,65	0,75	2,40	2,15	2,30	2,42
<i>T. setosus</i>	19,39	19,44	17,44	17,14	17,35	17,15	16,95	17,65	16,61	17,39	5,30	1,81	2,62	2,52
<i>T. yonenagae</i>	18,17	15,10	11,74	13,56	13,78	13,58	13,17	16,01	12,48	13,07	11,22	0,29	2,56	2,08
<i>Clyomys</i>	20,97	21,30	19,08	19,13	19,60	19,16	19,72	17,34	16,52	14,91	19,45	16,58	nc	2,21
<i>Euryzomatomys</i>	18,34	16,59	15,86	15,80	16,74	15,87	15,35	17,79	16,73	15,45	17,42	12,07	13,25	nc

Anexo 5. Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de *T. setosus* (em cinza) e as demais espécies de *Trinomys* do presente estudo. Divergências genéticas intraespecíficas (em vermelho) e interespecíficas (quadrante abaixo), baseada em 150 sequências do gene citocromo b, conforme Anexo 2. Acima estão os desvios padrão.

	<i>T. iheringi</i>	<i>T. dimidiatus</i>	<i>T. mirapitanga</i>	<i>T. graciosus</i>	<i>T. moojeni</i>	<i>T. albispinus</i>	<i>T. paratus</i>	<i>T. eliasi</i>	<i>T. setosus A1</i>	<i>T. setosus A2</i>	<i>T. setosus A3</i>	<i>T. setosus A</i>	<i>T. setosus B</i>	<i>T. setosus C</i>	<i>T. setosus A+B</i>	<i>T. yonenagae</i>	<i>Clyomys</i>	<i>Euryzomatomys</i>
<i>T. iheringi</i>	0,78	1,93	1,91	2,31	2,36	2,63	2,63	2,75	2,66	2,74	2,63	2,63	2,71	2,52	2,60	2,43	2,74	2,59
<i>T. dimidiatus</i>	11,93	2,45	1,79	2,02	2,12	2,25	2,32	2,19	2,58	2,62	2,75	2,56	2,76	2,43	2,55	2,14	2,56	2,33
<i>T. mirapitanga</i>	10,78	10,23	0,00	2,06	2,24	2,39	2,51	2,35	2,54	2,63	2,77	2,54	2,63	2,56	2,52	2,03	2,66	2,32
<i>T. graciosus</i>	15,28	13,43	12,61	2,01	1,85	2,13	2,31	2,17	2,46	2,35	2,37	2,34	2,29	2,51	2,30	2,09	2,52	2,16
<i>T. moojeni</i>	15,20	13,61	14,29	10,05	nc	2,12	2,60	2,39	2,45	2,64	2,55	2,47	2,53	2,74	2,44	2,16	2,54	2,15
<i>T. albispinus</i>	19,54	16,56	17,17	15,15	14,06	3,11	2,31	2,33	2,33	2,33	2,47	2,31	2,51	2,40	2,32	2,26	2,28	2,39
<i>T. paratus</i>	17,72	15,75	15,54	14,80	17,94	15,56	0,49	1,18	2,65	2,56	2,76	2,57	2,65	2,36	2,54	2,11	2,30	2,43
<i>T. eliasi</i>	18,98	15,48	14,82	14,48	15,42	15,90	5,39	0,81	2,58	2,56	2,74	2,53	2,67	2,43	2,51	2,15	2,07	2,26
<i>T. setosus A1</i>	17,83	18,23	16,54	15,96	15,01	16,23	18,22	17,41	0,16	0,79	0,81	0,37	0,98	1,59	0,41	2,05	2,60	2,47
<i>T. setosus A2</i>	18,94	18,51	17,27	15,61	16,99	16,70	17,67	17,80	2,41	1,24	0,85	0,52	1,12	1,58	0,57	2,14	2,61	2,40
<i>T. setosus A3</i>	17,85	19,84	18,54	15,33	16,03	17,29	19,24	19,22	2,24	2,63	nc	0,65	0,93	1,54	0,61	2,13	2,62	2,50
<i>T. setosus A</i>	18,24	18,54	17,06	15,75	15,88	16,54	18,14	17,78	1,24	1,84	2,10	1,80	0,93	1,50	0,46	2,03	2,54	2,38
<i>T. setosus B</i>	18,98	20,48	17,25	15,14	15,84	17,80	19,00	18,88	3,23	4,26	2,84	3,57	0,31	1,54	0,75	1,99	2,65	2,45
<i>T. setosus C</i>	17,11	15,99	16,18	17,43	18,90	16,72	15,05	16,44	8,37	8,50	8,04	8,38	7,65	0,57	1,44	1,89	2,52	2,74
<i>T. setosus A+B</i>	18,39	18,93	17,10	15,63	15,87	16,79	18,31	18,00	1,64	2,33	2,25	1,97	2,89	8,23	2,40	1,98	2,52	2,35
<i>T. yonenagae</i>	16,70	14,08	11,65	12,99	13,12	14,36	13,10	13,35	11,34	11,87	11,74	11,59	10,78	10,68	11,42	0,31	2,41	2,05
<i>Clyomys</i>	19,63	19,01	18,30	17,08	18,22	15,92	15,26	13,51	18,10	18,83	18,26	18,39	18,88	18,48	18,49	16,03	nc	2,14
<i>Euryzomatomys</i>	17,29	15,72	14,93	14,08	13,67	16,57	15,54	14,14	15,17	14,89	15,30	15,08	15,07	18,10	15,08	11,27	12,86	nc

Anexo 6. Divergência molecular do gene citocromo b destacando os grupos de *T. albispinus* (em cinza) e as demais espécies de *Trinomys* do presente estudo. Divergências genéticas intraespecíficas (em vermelho) e interespecíficas (quadrante abaixo), baseada em 150 seqüências do gene citocromo b, conforme Anexo 2. Acima estão os desvios padrão.

	<i>T. iheringi</i>	<i>T. dimidiatus</i>	<i>T. mirapitanga</i>	<i>T. gratosus</i>	<i>T. moojeni</i>	<i>T. albispinus A</i>	<i>T. albispinus B</i>	<i>T. albispinus</i>	<i>T. paratus</i>	<i>T. eliasi</i>	<i>T. setosus</i>	<i>T. yonenagae</i>	<i>Clyomys</i>	<i>Euryzomatomys</i>
<i>T. iheringi</i>	0,82	2,01	1,99	2,37	2,40	2,89	2,93	2,79	2,53	2,54	2,38	2,46	2,73	2,41
<i>T. dimidiatus</i>	13,42	2,55	1,83	2,10	2,12	2,50	2,59	2,45	2,33	2,32	2,30	2,15	2,81	2,44
<i>T. mirapitanga</i>	12,23	11,45	0,00	2,06	2,11	2,59	2,74	2,53	2,18	2,09	2,16	1,88	2,62	2,40
<i>T. gratosus</i>	16,32	14,56	13,17	2,13	1,88	2,64	2,33	2,38	2,24	2,25	2,17	2,13	2,62	2,33
<i>T. moojeni</i>	16,04	15,18	14,56	11,42	nc	2,32	2,46	2,24	2,37	2,19	2,17	2,07	2,66	2,29
<i>T. albispinus A</i>	20,60	18,10	17,93	18,40	14,83	0,29	1,24	0,56	2,55	2,37	2,26	2,41	2,45	2,68
<i>T. albispinus B</i>	20,74	18,14	18,54	15,68	16,90	5,21	0,21	0,71	2,36	2,57	2,26	2,38	2,56	2,69
<i>T. albispinus</i>	20,66	18,12	18,19	17,23	15,72	2,36	3,04	3,09	2,35	2,34	2,18	2,28	2,38	2,58
<i>T. paratus</i>	18,12	16,44	14,66	15,38	16,96	17,66	15,14	16,58	0,51	1,26	2,12	1,97	2,39	2,28
<i>T. eliasi</i>	18,64	16,98	14,75	15,70	15,36	16,81	16,94	16,87	5,37	0,62	2,18	2,05	2,18	2,17
<i>T. setosus</i>	18,74	19,34	16,94	16,87	16,68	18,06	17,21	17,70	15,77	16,86	5,22	1,55	2,43	2,20
<i>T. yonenagae</i>	17,23	14,88	11,06	13,59	13,21	16,10	16,05	16,08	12,11	12,96	10,83	0,29	2,40	2,02
<i>Clyomys</i>	20,04	21,09	18,48	18,89	19,92	17,18	17,05	17,13	15,51	14,24	18,86	16,33	nc	2,08
<i>Euryzomatomys</i>	17,76	16,67	15,60	15,92	15,81	18,08	17,73	17,93	16,10	15,18	17,16	12,09	13,27	nc

CAPÍTULO 2

Variação cariotípica do tipo fusão cêntrica em uma nova espécie de *Proechimys* do grupo *goeldii* (2n=15-17)

Artigo a ser submetido na revista BMC Genetics

Variação cariotípica do tipo fusão cêntrica em uma nova espécie de *Proechimys* do grupo *goeldii* (2n=15-17)

Resumo

Representantes do gênero *Proechimys* com número diplóide baixo de 2n=14 a 17 têm sido alvo de discussões e incongruências na literatura. Na década de 70, os cariótipos de quatro exemplares do Pará foram descritos com 2n=14, 15 e 16, com par 1 metacêntrico, pares 4-7 acrocêntricos, e rearranjos do tipo fusão/fissão cêntrica entre os pares acrocêntricos 2 e 3, gerando formas homomórficas 2n=16 (2+3) e 2n=14 (2 e 3 separados) e polimórfica com 2n=15 (um cromossomo metacêntrico e dois acrocêntricos), sendo esses exemplares associados a um táxon novo de *Proechimys*. Cerca de 30 anos depois, um exemplar com 2n=15 do Mato Grosso, idêntico ao descrito anteriormente) foi associado ao grupo *goeldii*, e a variação do 2n também foi explicada pela fusão dos pares autossômicos acrocêntricos 2 e 3 na forma heteromórfica. Entretanto, em 2013, sete exemplares com 2n=16 e 2n=17 do Mato Grosso foram descritos como portadores de um sistema múltiplo de determinação sexual XX/XY₁Y₂, sendo 2n=16 exclusivo de fêmeas e 2n=17 exclusivo de machos, e associados ao grupo *longicaudatus*. No presente estudo, foram investigados os cariótipos e as sequências de DNA mitocondrial de dois exemplares, um com 2n=15 e outro com 2n=17, ambos do Mato Grosso, e reconstruída a filogenia molecular com vários representantes de *Proechimys*, visando buscar evidências para identificar o mecanismo de evolução cariotípica, os níveis de divergência molecular e a posição filogenética desses espécimes no gênero *Proechimys*. Verificou-se que os exemplares têm cariótipo idêntico aos exemplares com 2n=15 e 2n=17 descritos na literatura. As análises cariotípicas de todos os exemplares descritos na literatura mostraram que as variações de 2n=16 ocorrem tanto em machos como em fêmeas, enfraquecendo a proposta de sistema múltiplo de determinação sexual. Os exemplares com 2n=15 e 2n=17 recuperam um clado monofilético dentro do grupo de espécies *goeldii*, com baixa divergência intraclado (2,26%), distintos de *P. goeldii* e de *P. longicaudatus*, com divergência interclado de 12,78% e 12,06%, respectivamente. O cariótipo com 2n=17 seria, portanto, resultado de um processo de fusão/fissão dos pares 1 e 7 (a partir de um hipotético 2n=18 com todos os cromossomos acrocêntricos) e o cariótipo com 2n=16 seria a forma homomórfica com rearranjo entre 1 e 7. Os cariótipos com 2n=15 e 2n=14

seriam as formas heteromórficas e homomórficas, respectivamente, do rearranjo entre os pares 2 e 3. Os dados de divergência genética são compatíveis a valores intraespecíficos dos exemplares com $2n=15$ e 17 e equivalente à espécies distintas das demais de *Proechimys*. Os dados do presente estudo reforçam a associação desses exemplares com as espécies que formam o grupo *goeldii* e ainda que devam pertencer a uma unidade taxonômica distinta, não descrita para *Proechimys*, com polimorfismos de processo de fusão/fissão cêntrica em autossomos.

Palavras-chave: *Proechimys*, citogenética, polimorfismo cromossômico, filogenia molecular, citocromo b.

Introdução

Os ratos de espinhos do gênero *Proechimys* J. A. Allen 1899, são amplamente distribuídos nas florestas neotropicais desde Honduras na América Central até o Paraguai e a região do Centro-Oeste brasileiro na América do Sul (Emmons e Ferr, 1997; Patton et al., 2000; Patton e Leite, 2015). Segundo a mais recente revisão do gênero baseada em caracteres morfológicos, são reconhecidas 22 espécies (Patton e Leite, 2015), embora os autores admitam que o número de espécies esteja subestimado. Esse dado é apoiado por trabalhos que contemplam análises moleculares, que embora poucos, mostram taxas de divergência genéticas interespecíficas e intraespecíficas altas (Patton et al., 2000; Bonvicino et al., 2005). Além disso, estudos apontam diferenças entre cariótipos, algumas vezes dentro de um mesmo táxon, podendo sugerir que há ainda táxons a serem identificados no grupo (Reig et al., 1980; Gardner e Emmons, 1984; Patton et al., 2000; Bonvicino et al., 2005; Machado et al., 2005).

Patton e Gardner (1972) já haviam postulado que os dados cariológicos em *Proechimys* são muito valiosos para a identificação das espécies, podendo cada forma cariotípica representar uma entidade morfológica única. O cariótipo tem sido citado, ainda, como uma importante ferramenta para entender a evolução do gênero e útil para auxiliar na separação das espécies (Reig et al., 1980; Patton e Gardner, 1972; Gardner e Emmons, 1984; Weksler et al., 2001; Bonvicino et al., 2005; Machado et al., 2005). O número diplóide para o gênero pode variar de $2n=14$ a 62 , entretanto os cariótipos com $2n$ baixos tem sido alvo de discussões e incongruências na literatura.

Barros (1978) descreveu três cariótipos distintos para a localidade de Jacareacanga-Flexal (Pará), associados à quatro exemplares de *Proechimys*, definido pela autora como *Proechimys* sp. 3. Os citótipos de um macho e uma fêmea com $2n=16/FN=16$ apresentaram um par submetacêntrico grande e seis pares acrocêntricos com variação gradativa de tamanho, o par sexual é um X acrocêntrico médio e Y acrocêntrico pequeno; $2n=15/FN=16$ de uma fêmea mostrou um par submetacêntrico grande, um único cromossomo submetacêntrico grande e dois acrocêntricos médios que não formam um par, e quatro pares de cromossomos acrocêntricos com variação gradativa de tamanho, o cromossomo X é um acrocêntrico médio; e um macho com $2n=14/FN=16$ mostrou dois pares de submetacêntricos grandes e quatro pares de acrocêntricos com variação gradativa de tamanho, o X acrocêntrico médio e o Y é acrocêntrico pequeno. A autora justifica a variação entre os $2n=14$ a 16 , devido à

presença de rearranjos do tipo fusão/fissão nos pares 2 e 3, originando as formas polimórficas.

Machado et al. (2005) descrevem o citótipo de $2n=15/FN=16$ para um exemplar fêmea coletado em Juruena (Mato Grosso), idêntico ao descrito para *Proechimys* sp. 3 por Barros (1978), e o associaram ao grupo *goeldii* baseando-se em análises craniodentais e cromossômicas. Esse cariótipo, segundo os autores, é idêntico ao descrito por Barros (1978) e foi reforçada a proposta de que a variação do $2n$ seria devido à fusão dos cromossomos 2 e 3 a partir de um carótipo com $2n=16$, originando uma forma polimórfica com $2n=15$.

Mais tarde, Amaral et al. (2013) analisaram sete exemplares coletados nos municípios de Querência e Cotriguaçu, Mato Grosso (MT), e encontraram $2n=16$ em fêmeas e $2n=17$ em machos. Os autores associaram à variação a um sistema múltiplo de determinação sexual XX/XY_1Y_2 , sendo os autossomos formados por acrocêntricos, o cromossomo X com dois braços (submetacêntrico grande), o Y_1 representado pelo menor acrocêntrico do cariótipo e o Y_2 um acrocêntrico grande. Esses autores associaram esses exemplares a *Proechimys* do grupo *longicaudatus* e discordam de Machado et al. (2005) sobre a possibilidade de uma variação polimórfica de autossomos e seu relacionamento com os exemplares com $2n=14$ a 16, sugerindo erro de classificação dos pares cromossômicos dos exemplares estudados.

Diante dos fatos, o objetivo do presente estudo foi utilizar análises integradas de cariótipo e filogenia molecular de modo a avaliar qual das propostas seria mais viável para o entendimento da variação nos menores diplóides, da estrutura cariotípica, além de identificar em qual grupo de espécies esses citótipos devem estar associados.

Material e Método

Foram analisados citogeneticamente dois exemplares, um macho e uma fêmea, coletados, respectivamente, em Ribeirão Cascalheira – PA (LPC742-12°38'S; 51°55'O) e Juruena – MT (MZUSP31924 - 10°19'S; 58°29'O, o mesmo exemplar analisado por Machado et al., 2005), Mato Grosso. Os cromossomos foram obtidos a partir da preparação direta de medula óssea. As análises se basearam em coloração comum e foram contadas em média 20 metáfases por indivíduo tanto para o estabelecimento do número diplóide ($2n$) e do número de braços autossômicos (FN), sendo as melhores metáfases fotodocumentadas e editadas, possibilitando a montagem e comparação dos cariogramas.

O DNA de 13 exemplares de *Proechimys*, incluindo os dois cariotipados, foi extraído de amostras de fígado e da preparação citogenéticas presentes nas lâminas utilizando o protocolo de extração salina descrito por Bruford et al. (1992). Para a extração do DNA presente nas lâminas precedeu-se a raspagem do material contendo medula, seguida de lavagem em solução salina de PBS 1X e seguindo posteriormente o protocolo padrão de extração de DNA. Os produtos de PCR foram purificados com a enzima ExoSap e sequenciados em uma única direção (primer MVZ05) em sequenciador automático ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Inc.) no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Espírito Santo (NGACB-UFES), obtendo assim sequências parciais do gene mitocondrial citocromo b – CitB (primers MVZ05 e MVZ 16 ~ 801pb, Smith e Patton, 1993). A matriz de dados foi composta por 118 sequências de *Proechimys*, sendo 13 sequências geradas no presente estudo, 86 sequências cedidas pelo Dr. James Patton, do Museu de Zoologia de Vertebrados (Berkeley), além de 19 retiradas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

As sequências foram submetidas à ferramenta BLAST no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015), alinhadas e conferidas manualmente usando o mesmo programa. A fim de determinar os haplótipos e detectar a saturação de substituições nas diferentes posições dos códons foi utilizado o programa DAMBE5 (Xia, 2013). Quando os haplótipos foram similares, uma única sequência por localidade foi selecionado para as análises. Não foi detectada a saturação nas bases.

Para as inferências filogenéticas foi gerado um cladograma utilizando o critério de otimização de Inferência Bayesiana (IB) com 20⁶ replicações no programa Mr. Bayes 3.2 (Ronquist et al., 2012). O melhor modelo de substituição nucleotídica para as inferências foi determinado no programa jModelTest 2.1.10 (Darriba e Posada, 2012), permitindo onze esquemas de substituição utilizando o critério Bayesiano (BIC). Foram considerados clados confiáveis apenas aqueles que apresentaram valores de probabilidades posteriores acima de 0,95 (IB). *Myocastor coypus* (EU544663) e *Thrichomys apereoides* (EU544668) foram utilizados como grupos externos. Os cálculos de divergência genética foram feitos no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015) por meio do modelo evolutivo Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980).

Resultados

O exemplar fêmea (MZUSP31924) proveniente de Juruena (MT) apresentou $2n=15$ e $FN=16$, formado por um par grande de cromossomos submetacêntrico (1+7), um único cromossomo submetacêntrico grande (2+3), os dois acrocêntricos médios (cromossomos 2 e 3 separados) com tamanhos distintos, equivalentes aos braços curto e longo, respectivamente, quatro pares de acrocêntricos (pares 4 a 6 e 8). O cromossomo X é acrocêntrico médio (A_m) (Figura 1a, Tabela 1).

O exemplar macho (LPC742) coletado em Ribeirão Cascalheira (MT) apresentou $2n=17$ e $FN=16$, formado por um único submetacêntrico grande com dois braços (cromossomo 1+7), um acrocêntrico grande (cromossomo 1) e um acrocêntrico médio (cromossomo 7), equivalentes em tamanho aos braços longo e curto, respectivamente, e seis pares de acrocêntricos (pares 2-6 e 8) com variação gradativa de tamanho. O X é um acrocêntrico médio e o Y um acrocêntrico pequeno (A_p) (Figura 1b, Tabela 1).

A matriz de dados para as análises de filogenia foi composta por 118 sequências de *Proechimys* spp (Anexos 2 e 3). O melhor modelo evolutivo para as inferências filogenéticas de IB foi o TrN+I+G (I=0.4190;G=1.0800). No critério de otimização utilizado (IB) *Proechimys* foi recuperado como grupo monofilético com alto suporte (1) (Figura 2). A filogenia recuperou 15 clados com alto suporte, sendo 13 associados a um nome específico: *P. cuvieri* (1), *P. brevicauda* (1), *P. longicaudatus* (1), *P. goeldii* (1), *P. steerei* (1), *P. quadruplicatus* (1), *P. roberti* (1), *P. simonsi* (1), *P. kulinae* (0,98), *P. pattoni* (1), *P. gardneri* (1), *P. echinothrix* (1) e *P. guyannensis* (1).

Os indivíduos com $2n=15$ e $2n=17$ formam um grupo monofilético com 2,26% de divergência intraclado, compatível com diversidade intraespecífica em *Proechimys*, mas divergentes das demais espécies de *Proechimys*, sendo a menor divergência interespecífica com *P. pattoni* de 9,69%. A maior divergência interespecífica foi entre *P. pattoni* e *P. longicaudatus* com 16,71%. As divergências intraespecíficas variaram de 1,70% em *P. pattoni* a 8,15% em *P. simonsi* (Anexo 1).

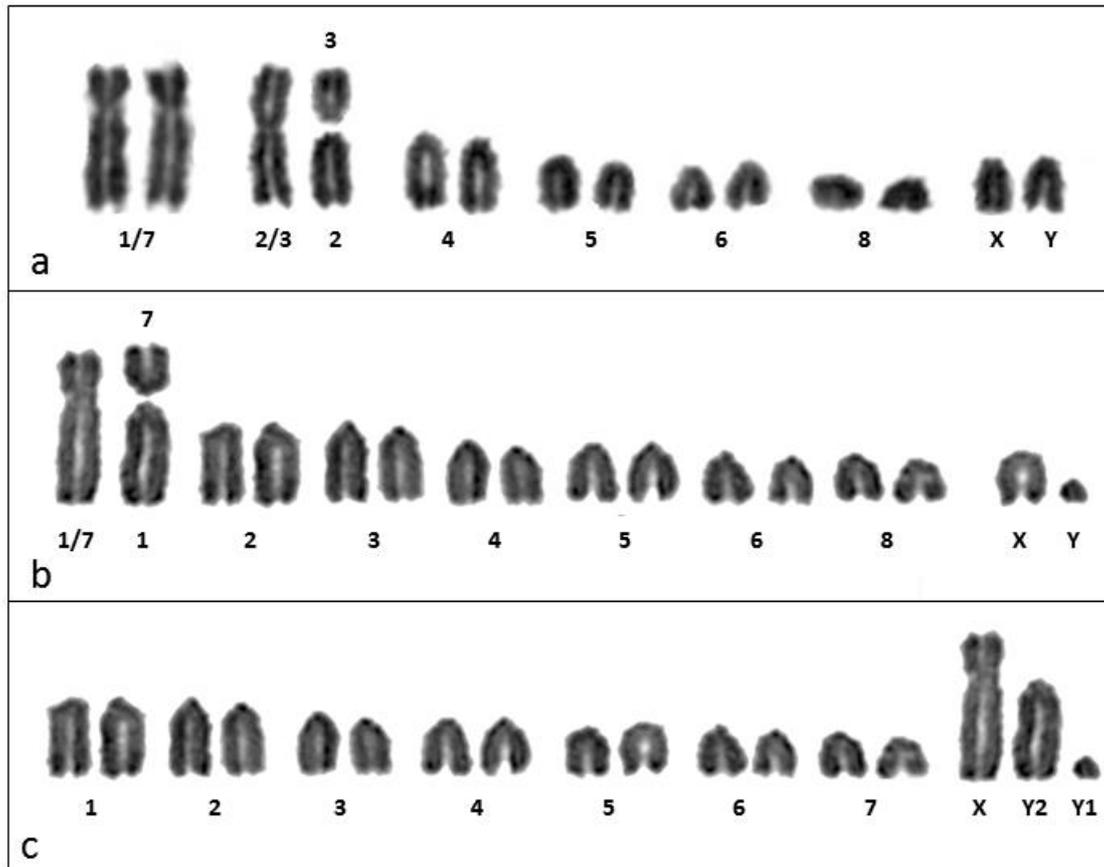


Figura 1. Cariótipo em coloração comum: **a.** Exemplar fêmea (MZUSP31924) com $2n=15$ e $FN=16$. **b.** Exemplar macho (LPC742) com $2n=17$ e $FN=16$. **c.** Cariótipo de $2n=17$ do presente estudo, organizado segundo Amaral et al. (2013).

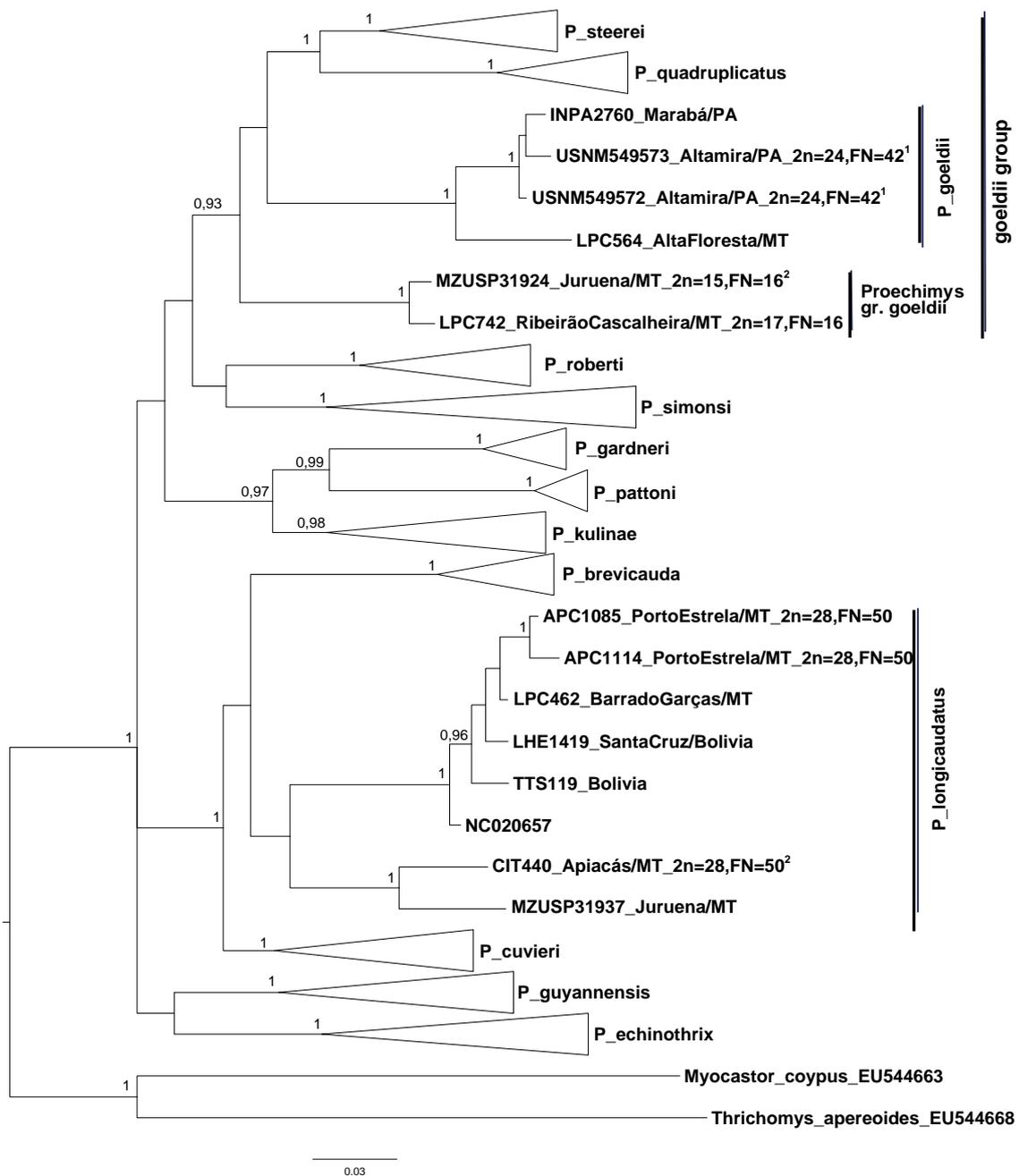


Figura 2. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (CytB), com destaque para os grupos *goeldii* e *P. longicaudatus*. Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos para o exemplar se encontram associados a respectiva sequência.

Tabela 1. Compilação dos cariótipos dos menores valores de 2n descritos na literatura e apresentados no presente estudo para *Proechimys*.

Referência	2n	FN	Sexo	SDS ¹	Total de cromossomos ²		Morfologia dos cromossomos sexuais ³	
					A	M/SM	X	Y
Barros (1978)	14	16	M	XY	10	4	Am	Ap
	15	16	F, M	XY	12	3	Am	Ap
	16	16	F, M	XY	14	2	Am	Ap
Machado et al (2005), Presente estudo	15	16	F	XY	12	3	Am	-
Amaral et al. (2013)	16	14	F	XY ₁ Y ₂	14	2	SMg	-
	17	14	M		16	1	SMg	Ag e Ap
Presente estudo	17	16	M	XY	16	1	Am	Ap

¹Sistema de Determinação Sexual proposto pelos autores; ²Incluindo autossomos e sexuais,

³Morfologia dos cromossomos sexuais: Ap=acrocêntrico pequeno; Am=acrocêntrico médio; Ag=acrocêntrico grande; SMg=submetacêntrico grande.

Discussão

Os dados apresentados por Barros (1978) descrevem uma variação de 2n=14, 15, 16 e FN=16 para exemplares do Pará e foram associados à um táxon distinto (chamado de *Proechimys* sp.3), em decorrência de uma fusão de dois pares de acrocêntricos (pares 2 e 3) gerando um par de cromossomos submetacêntricos grande (2/3), que apareceriam em homozigose (2n=14) ou em heterozigose (2n=15) ou os dois pares separados como acrocêntricos (2n=16).

Essa proposta de variação cariotípica foi apoiada por Machado et al. (2005), que encontraram a forma 2n=15 e FN=16 para um espécime de Juruena (MT). Os autores, baseando-se no dado cromossômico com baixo valor de 2n (característico do grupo de espécies *goeldii*) e em dados morfológicos craniodentais, associaram o exemplar de 2n=15, juntamente com os descritos por Barros (1978) contendo 2n=14 a 16, ao grupo de espécies *goeldii*.

Entretanto, Amaral et al. (2013) descreveram um cariótipo associado ao grupo de espécie *longicaudatus* com 2n=17 e FN=14 para machos e outro com 2n=16 em fêmeas e justificaram a variação encontrada devido a presença do sistema múltiplo de determinação sexual, tendo como resultado um cariótipo formado por sete pares de autossomos acrocêntricos, X submetacêntrico grande, Y₁ (Y verdadeiro) acrocêntrico minúsculo e Y₂ (neo-Y) acrocêntrico médio, equivalente em tamanho ao braço longo do X. Ao mesmo tempo, as fêmeas apresentariam dois cromossomos X submetacêntricos grandes. Segundo esses autores, o surgimento do sistema múltiplo de determinação,

nesse caso, se daria por um rearranjo do tipo Robertsoniano entre o cromossomo X acrocêntrico e o maior cromossomo autossômico acrocêntrico (par 1), criando um Neo-X. As fêmeas teriam dois Neo-X, enquanto os machos teriam um Neo-X, um Y_1 e um Y_2 .

Amaral et al. (2013) questionaram as análises de Machado et al. (2005) argumentando que os autores erraram na preparação citogenética dos espécimes, sendo os cromossomos apresentados pelos autores de um animal correspondente ao grupo *longicaudatus* e a pele e o esqueleto pertencente a outro animal, do grupo *goeldii*. Ainda discordam do polimorfismo cromossômico encontrado por Barros (1978) como sendo a justificativa para a variação de $2n=14-16$, e argumentam que o par submetacêntrico grande (denominado como par 1 pela autora e cromossomo 1+7 no presente estudo) seria o Neo-X por eles identificado. Nesse estudo, Amaral et al. (2013) afirmaram que o cariótipo $2n=16$ seria exclusivo de fêmeas e que o cariótipo com $2n=17$ de machos.

No presente estudo, ao se reanalisar os dados cariotípicos apresentados por Barros (1978) e Amaral et al (2013), observa-se o mesmo número de cromossomos entre os cariótipos com $2n=16$ apresentados, sendo possível reorganizar o cariótipo apresentado por Amaral et al. (2013) idêntico ao de Barros (1978) e vice-versa. No entanto, a incongruência a favor da composição de Barros (1978) é que nesse último (ao contrário de Amaral et al. 2013), foram verificados indivíduos machos e fêmeas com $2n=16$, enfraquecendo, portanto, a proposta de sistema múltiplo de determinação do sexo proposto por Amaral e colaboradores, que estabelece que apenas fêmeas apresentem $2n=16$.

O cariótipo com $2n=17$ apresentado por Amaral et al. (2013) pertence a um macho com sistema múltiplo de determinação do sexo, por sua vez, pode ser reorganizado segundo o presente estudo, Barros (1978) e Machado et al. (2005). Os citótipos descritos na literatura juntamente com os do presente estudo permitem hipotetizar que o cariótipo básico da espécie (ainda não encontrado na natureza) seria $2n=18$.

Considerando a proposta de Amaral et al. (2013), que justifica a variação cariotípica pela presença de um sistema múltiplo de determinação do sexo, verifica-se as seguintes fragilidades: a) as fêmeas seriam $2n=16$, XX e os machos $2n=17$, XY_1Y_2 , porém Barros (1978) apresenta fêmeas e machos com $2n=16$, com o mesmo conjunto autossômico de $2n=17$. b) os indivíduos $2n=15$ deveriam ser fêmeas XX com polimorfismo 2+3. Amaral et al. (2013) propõe que o cromossomo submetacêntrico

grande descrito nos trabalhos anteriores foi erroneamente identificado e deve corresponder ao Neo-X, porém esses autores não explicam a origem do cromossomo submetacêntrico em heterozigose (2+3), mas confirmam que esse citótipo é similar ao de $2n=16$ e 17. Dessa maneira, contradizem a proposta de machos exclusivamente heterozigotos, por assumirem a existência de uma fêmea em heterozigose. c) relatam que as translocações envolvendo os cromossomos sexuais e os autossomos são raras em *Proechimys*, mas o levantamento na literatura mostra que não há relatos sobre a ocorrência de sistema múltiplo de determinação sexual no gênero. d) a figura meiótica indicando o trivalente de cromossomos sexuais em paquítenos é pouco esclarecedora e não deixa claro a figura de um trivalente.

Segundo Hsu et al. (1968), desvios no padrão XX/XY na classe Mammalia são esporádicos e a translocação entre um autossomo e o X não acontece com frequência. Yoshida e Kitano (2012) apresentam uma compilação dos sistemas múltiplos de determinação sexual em diversas ordens de mamíferos e os roedores são representados por apenas oito famílias com registros desse sistema, seja na forma XY_1Y_2 ou X_1X_2Y . Os autores ainda concluem que o sistema XY_1Y_2 em mamíferos prevalece em espécies com cariótipos formados por mais cromossomos de dois braços, fato esse que vai de encontro à proposta de Amaral et al. (2013), uma vez que na variação do citótipo de *Proechimys* ($2n=14$ a 17) há a predominância de acrocêntricos, em relação aos metacêntricos/submetacêntricos.

Ao reanalisarmos o cariótipo de $2n=17$ no presente estudo, observamos que os cromossomos podem ser organizados em pares segundo a hipótese de Barros (1978), assumida no presente estudo, mas podem ser reorganizados segundo Amaral et al. (2013) (Figura 1c). Dessa maneira, a proposta do presente estudo segue a hipótese de Barros (1978) e Machado et al. (2005) na qual os cariótipos desse grupo podem variar de $2n=14$ a 17, com $FN=16$ e sistema de determinação do sexo do tipo XX/XY. Os rearranjos de autossomos ocorrem devido à eventos de fusão e fissão cromossômica, provavelmente envolvendo os pares acrocêntricos 1+7 (formando o primeiro par submetacêntrico grande) e 2+3 (que podem formar um único metacêntrico grande nos citótipos de $2n=15$ ou o par metacêntrico grande, nos citótipos de $2n=16$), sendo possível ocorrer tanto em machos como em fêmeas.

Como resultado da filogenia molecular apresentada nesse trabalho, os animais de $2n=15$ (MZUSP31924) e $2n=17$ (LPC742) se localizaram no mesmo clado, formando um grupo monofilético, distintos de *P. longicaudatus* e *P. goeldii*. A

divergência intraespecífica foi baixa (2,26%) sendo mais um indício que esses exemplares pertencem à mesma unidade taxonômica, reforçando a hipótese que a variação existente entre esses citótipos é um caso de polimorfismo cromossômico. A divergência genética desse grupo em relação a *P. longicaudatus* e a *P. goeldii* foi superior a 12%. Além disso, o clado formado por $2n=15$ e $2n=17$, forma um grupo com as demais espécies do grupo *goeldii*: *P. goeldii*, *P. quadruplicatus* e *P. steerei*, sustentando a hipótese de que pertencem ao mesmo grupo, que também é caracterizado pelos baixos valores de $2n$. Por outro lado, a morfologia dos cromossomos (maioria acrocêntrica) é muito distinta das demais encontradas para espécies do grupo *goeldii* (maioria metacêntrica) além das altas porcentagens de divergência genética: *P. goeldii* ($2n=24-27/FN=42$ com 12,78%); *P. steerei* ($2n=24/FN=40-42$ com 11,13%) e *P. quadruplicatus* ($2n=26/FN=44$; $2n=28/FN=42-44$, com 12,04%).

Estudos citogenéticos em roedores mostram uma grande complexidade de rearranjos responsáveis pelos polimorfismos e diferenciações cariotípicas entre espécies relacionadas existindo amplas evidências que os rearranjos cromossômicos reduzem a fertilidade do indivíduo heterozigoto sugerindo que as alterações cromossômicas exercem um papel importante na especiação (Borondin et al., 2006; Castiglia et al., 2006). Esses rearranjos quando em heterozigose podem causar segregação incorreta dos cromossomos nas divisões I e II da meiose dos indivíduos heterozigotos, produzindo aneuploidias, duplicações e deleções ou até mesmo de impedir completamente a meiose (King, 1993).

Os tipos de rearranjos estruturais predominantes em populações naturais de roedores são as fusões/fissões cêntricas (ou rearranjos robertsonianos e as inversões pericêntricas - Souza, 1981; Patton e Sherwood, 1983; Leal-Mesquita et al., 1993; Qumsiyeh, 1994; Ananina et al., 2004; Freygang, 2004). Esses rearranjos quando em heterozigose podem causar segregação incorreta dos cromossomos nas divisões I e II da meiose dos indivíduos heterozigotos, produzindo aneuploidias, duplicações e deleções podendo até mesmo impedir a meiose (King, 1993).

No entanto, em alguns casos, os rearranjos robertsonianos e as inversões pericêntricas parecem não atuar como mecanismos de isolamento reprodutivo e tais rearranjos ocorrem na população como polimorfismos. Um exemplo disso ocorre na espécie de roedor neotropical *Oligoryzomys nigripes* que apresenta polimorfismo inter e intrapopulacional devido a inversões pericêntricas em quatro pares autossômicos (Paresque et al., 2007). Outro exemplo ocorre em *Cerradomys langguthi* que apresenta

as formas $2n=46$, 48-50 e $FN=56$ em simpatria no estado de Pernambuco, justificada por um polimorfismo devido a rearranjos do tipo fusão/fissão cêntrica (Maia e Hulak, 1981). A variação cromossômica dentro de *A. cursor* ($2n=14$, 15 e 16) foi definida como um polimorfismo, uma vez que em estudos meióticos observou-se a segregação balanceada dos cromossomos durante a divisão celular, sem gerar problemas reprodutivos no heterozigoto ($2n=15$) (Yonenaga, 1979; Sbalqueiro e Nascimento, 1996; Fagundes et al., 1998).

Considerando-se todas as evidências podemos assumir que uma espécie sem nome, caracterizada por um polimorfismo de fusão de cromossomos em quatro pares autossômicos, presentes em forma polimórfica na região do Mato Grosso, está associada ao grupo de espécies *goeldii*, e merece mais investigações a respeito de sua caracterização morfológica, molecular e citogenética .

Referências

Amaral PJS, Nagamachi CY, Noronha RCR, Costa MJR, Pereira AL, Rossi R V, Mendes-Oliveira AC e Pieczarka JC (2013) *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae): characterization and taxonomic considerations of a form with a very low diploid number and a multiple sex chromosome system. BMC Genet 14:21. doi: 10.1186/1471-2156-14-21

Ananina G, Peixoto AA, Bitner-Mathé BC, Souza WN, Basso da Silva L, Valente VLS e Klaczko LB (2004) Chromosomal inversion polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: Seasonal, altitudinal, and latitudinal variation. Genet Mol Biol 27:61–69. doi: 10.1590/S1415-47572004000100011

Barros RMS (1978) Variabilidade cromossômica em *Proechimys* e *Oryzomys* (Rodentia) da Amazônia. Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Bonvicino CR, Otazú IB e Vilela JF (2005) Karyologic and Molecular Analysis of *Proechimys* Allen , 1899 (Rodentia, Echimyidae) from the Amazonian Region. Arq do Mus Nac Rio Janeiro 63:191–200.

Borodin PM, Barreiros-Gomez SC, Zhelezova AI, Bonvicino CR e D'Andrea PS (2006) Reproductive isolation due to the genetic incompatibilities between *Thrichomys*

pachyurus and two subspecies of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). Genome 49:159–167. doi: 10.1139/g05-096

Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY e Burke T (1992) Single-locus e DNA fingerprinting. Molecular Genetic Analyses of Populations: a Pratical Approach (ed. by A.R. Hoelzel), pp. 225–269. IRL Press, Oxford.

Castiglia R, Garagna S, Merico V, Oguge N e Corti M (2006) Cytogenetics of a new cytotype of African *Mus* (subgenus *Nannomys*) *minutoides* (Rodentia, Muridae) from Kenya: C- and G- banding and distribution of (TTAGGG)_n telomeric sequences. Chromosom Res 14:587–594. doi: 10.1007/s10577-006-1054-5

Darriba DT, Tobada GL e Doallo RPD (2012) JModelTest 2 More Models, New Heuristics and Parallel Computing. Nat. Methods 9, 772.

Emmons LH e Feer F (1997) Neotropical rainforest mammals, a field guide, 2nd edition. Chicago, IL: The University of Chicago Press, xvi - 307.

Fagundes V, Christoff AU e Yonenaga-Yassuda Y (1998) Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon Cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ($2n = 16, 15$ and 14). Hereditas 129:263–274. doi: 10.1111/j.1601-5223.1998.00263.x

Freygang CC, Marinho JR e Freitas TRO De (2004) New karyotypes and some considerations about the chromosomal diversification of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae) on the coastal plain of the Brazilian state of Rio Grande do Sul. Experientia 125–132.

Gardner AL e Emmons L (1984) Species Groups in *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) as Indicated by Karyology and Bullar morphology. J Mammal 65:10–25.

Hsu TC, Baker RJ e Utakoji T (1968) The multiple sex chromosome system of Americam leaf-nosed bats (Chiroptera, Phyllostomidae). Cytogenetics 7:27–38.

Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal Molecular Evolution 16: 111–120.

King M (1993) *Species Evolution: The Role of Chromosome Changes*. Cambridge, Cambridge University .

Kumar S, Stecher G e Tamura K (2015) *MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0*. *Molecular Biology and Evolution*.

Leal-Mesquita ER, Fagundes V, Yonenaga-Yassuda Y e Rocha PLBD (1993) Comparative cytogenetic studies of two karyomorphs of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). *Revista Brasileira de Genética*, vol. 16, no. 3, p. 639-651.

Machado T, Maria MJ, Leal-Mesquita ER, Carmignotto AP e Yonenaga-Yassuda Y (2005) Nine karyomorphs for spiny rats of the genus *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. *Genet Mol Biol* 28:682–692. doi: 10.1590/S1415-47572005000500007

Paresque R, Silva MJ de J, Yonenaga-Yassuda Y e Fagundes V (2007) Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genet Mol Biol* 30:43–53. doi: 10.1590/S1415-47572007000100010

Patton JL e Leite RN (2015) Genus *Proechimys*. In: Patton JL , Pardiñas UFJ and D'Elía GD (Eds), *Mammals of South America ,Volume 2, Rodents*, University of Chicago Press, Chicago , p. 950-989.

Patton JL e Gardner AL (1972) Notes on Systematics of *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae), with emphasis on Peruvian Forms. *Occas Pap Museum Zool Louisiana State Univertisty* 44:1–30.

Patton JL, Da Silva MNF e Malcolm JR (2000) Mammals of the Rio Juruá and the Evolutionary and Ecological Diversification of Amazonia. *Bull Am Museum Nat Hist* 244:1. doi: 10.1206/0003-0090(2000)244<0001:MOTRJA>2.0.CO;2

Patton JL e Sherwood SW (1983) Chromosome Evolution and Speciation in Rodents. *Annu Rev Ecol Syst* 14:139–158. doi: 10.1146/annurev.es.14.110183.001035

Qumsiyeh MB (1994) Evolution of Number and Morphology of Mammalian Chromosomes. *J Hered* 455–465.

Reig OA (1980) A new fossil of South American cricetids rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *J Zool* 192:257–281.

Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA e Huelsenbeck PJ (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology. Syst Biol* (2012) 61 (3): 539-542. doi:10.1093/sysbio/sys029

Sbalqueiro IJ e Nascimento AP (1996) Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Sigmodontinae) with 14, 15 and 16. Chromosome Cytotypes in the Same Geographic Area in Southern Brasil. *Brazilian J Genet* 19:565–569. doi: 10.2307/1381338

Smith MF e Patton JL (1993) The diversification of Sout American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biol J Linn Soc* 50:149–177.

Souza MJS (1981) Caracterização cromossômica em oito espécies de roedores brasileiros das famílias Cricetidae e Echimyidae. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Weksler M, Bonvicino CR, Otazu IB e Silva Júnior JS (2001) Status of *Proechimys roberti* and *P. oris* (Rodentia: Echimyidae) from Eastern Amazonia and Central Brazil. *J Mammal* 82:109–122. doi: 10.1644/1545-1542%282001%29082%3c0109%3asoprap

Xia X (2013) DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 1720– 1728.

Yonenaga-Yassuda Y (1979) New Raryotypes and somatic and germ-cel banding in *Akodon arviculoides* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenet* 241–249.

Yoshida K e Kitano J (2012) The contribution of female meiotic drive to the evolution of neo-sex chromosomes. *Evolution (NY)* 66:3198–3208. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01681.x

Anexo 1. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys* calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc=cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>CIT440/MZUSP31937</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyanensis</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. steerei</i>	<i>MZUSP31924/LPC742</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. roberti</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>CIT440/MZUSP31937</i>	5,29	1,73	1,73	1,48	1,74	1,70	2,01	1,91	1,97	1,79	1,91	1,95	1,77	2,02	1,87	2,11	2,57
<i>P. longicaudatus</i>	10,52	2,34	1,68	1,52	1,67	1,87	1,81	2,26	1,84	2,16	2,04	1,65	1,85	2,09	1,79	2,34	2,52
<i>P. brevicauda</i>	10,33	10,56	2,22	1,65	1,72	1,91	2,14	2,11	2,01	1,83	1,91	1,75	1,83	1,66	1,88	2,51	2,44
<i>P. cuvieri</i>	10,12	10,86	11,19	5,24	1,63	1,68	1,88	1,92	1,76	1,95	1,88	1,66	1,64	1,86	1,82	2,27	2,38
<i>P. guyanensis</i>	11,90	11,74	11,84	12,41	4,11	1,50	1,86	1,97	1,51	1,77	1,78	1,47	1,72	1,66	1,78	2,30	2,22
<i>P. echinothrix</i>	12,16	14,30	14,22	13,11	11,40	6,61	1,95	1,99	1,57	1,50	1,80	1,75	1,68	1,71	1,84	2,32	2,24
<i>P. gardneri</i>	14,04	13,02	14,84	14,23	13,98	15,58	3,42	1,91	1,62	2,32	2,03	1,83	1,82	1,99	1,90	2,78	2,71
<i>P. pattoni</i>	12,77	16,71	14,73	14,68	14,48	14,32	13,24	1,70	1,71	2,40	1,94	1,99	1,53	2,23	2,16	2,43	2,60
<i>P. kulinae</i>	14,33	14,12	14,90	14,47	11,45	12,70	12,63	13,20	7,08	1,89	1,79	1,61	1,58	1,77	1,80	2,35	2,51
<i>P. goeldii</i>	12,33	15,48	12,28	14,60	12,27	11,70	16,20	17,32	14,35	4,14	1,88	1,93	1,96	1,65	1,91	2,55	2,60
<i>P. quadruplicatus</i>	13,43	14,73	13,51	14,96	12,73	14,19	15,01	13,84	14,06	13,55	3,64	1,60	1,80	1,99	1,88	2,58	2,54
<i>P. steerei</i>	12,74	12,08	12,24	12,70	10,69	13,64	13,09	14,31	12,84	14,13	12,26	4,75	1,67	1,65	1,66	2,50	2,26
<i>MZUSP31924/LPC742</i>	10,86	12,06	11,82	11,29	11,30	11,97	11,87	9,69	11,08	12,78	12,04	11,13	2,26	1,81	2,03	2,45	2,45
<i>P. simonsi</i>	15,05	16,29	12,41	14,88	12,67	14,40	15,31	17,24	15,04	12,86	15,86	12,90	12,99	8,15	1,79	2,54	2,30
<i>P. roberti</i>	13,12	12,38	13,71	13,47	12,53	14,35	13,17	16,12	13,49	13,79	14,01	12,42	13,98	14,49	3,22	2,35	2,11
<i>Myocastor</i>	15,54	18,98	20,31	18,74	19,46	19,11	21,69	19,01	20,02	20,35	20,94	20,59	17,92	22,32	18,39	nc	2,50
<i>Thrichomys</i>	19,75	19,85	20,02	18,92	17,01	18,77	20,67	20,02	20,73	20,28	19,21	17,95	18,99	18,80	15,44	18,74	nc

Anexo 2. Códigos dos exemplares utilizados no presente estudo para a filogenia molecular com o nome do táxon, localidades geográfica e quando disponíveis os códigos de acesso ao GenBank.

Código	Táxon	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank
SLF223	<i>P. cuvieri</i>	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE
INPA2758 ³	<i>P. cuvieri</i>	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA	
INPA3461 ³	<i>P. cuvieri</i>	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC	
INPA3476 ³	<i>P. cuvieri</i>	Seringal Condor, Rio Juruá, AM	
JLP16783 ³	<i>P. cuvieri</i>	Lago Meduiním, Rio Negro, AM	
USNM549559 ³	<i>P. cuvieri</i>	Rio Xingu, Altamira, PA	
MV970010 ³ MV970034 ³	<i>P. cuvieri</i>	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru	
MV970080 ³	<i>P. cuvieri</i>	La Colmena, Quebrada La Colmena, Loreto, Peru	
MVZ157874 ³	<i>P. cuvieri</i>	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru	
MVZ160091 ³	<i>P. cuvieri</i>	Rio Cuyuni, Bolivar, Venezuela	
MVZ190684 ³	<i>P. cuvieri</i>	Penedo, Rio Juruá, AM	
MVZ190697 ³	<i>P. cuvieri</i>	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM	
V849 ³ V872 ³	<i>P. cuvieri</i>	La Trinité Mountains, Guiana Francesa	
	<i>P. cuvieri</i>	Saint Jean du Maroni, Guiana Francesa	AJ251400
	<i>P. cuvieri</i>	Les Nouragues, Guiana Francesa	AJ251402
	<i>P. cuvieri</i>	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251403
	<i>P. cuvieri</i>	Pic Matecho, Guiana Francesa	AY20631937
	<i>P. cuvieri</i>	Hidrelétrica Petit Saut, Guiana Francesa	AY206624
	<i>P. cuvieri</i>	Nouragues, Guiana Francesa	AY206625
	<i>P. cuvieri</i>		AY206626
AMNH272700 ³ M13337 ³	<i>P. brevicauda</i>	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru	
INPA3441 ³	<i>P. brevicauda</i>	Oposto ao Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC	

Anexo 2. Continuação

Código	Táxon	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank
INPA3445 ³ MNFS1458 ³	<i>P. brevicauda</i>	Sobral, Rio Juruá, AC	
MNFS1044 ³ MNFS999 ³	<i>P. brevicauda</i>	Ocidente, Rio Juruá, AC	
MV970004 ³ MV970091 ³ MV970092 ³	<i>P. brevicauda</i>	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru	
MVZ155125 ³	<i>P. brevicauda</i>	Huampami, Río Cenepa, Amazonas, Peru	
MVZ157905 ³	<i>P. brevicauda</i>	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru	
MVZ190660 ³	<i>P. brevicauda</i>	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC	
MVZ190677 ³ MVZ190678 ³	<i>P. brevicauda</i>	Nova Vida, Rio Juruá, AC	
INPA3418 ³	<i>P. brevicauda</i>	Oposto ao Ocidente, Rio Juruá, AC	
MZUSP31937 ³	<i>P. gr. longicaudatus</i>	Juruena, MT	PE
CIT440	<i>P. gr. longicaudatus</i>	Apiacás, MT	PE
APC1085 APC1114	<i>P. longicaudatus</i>	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela,	PE
LHE1419 ³	<i>P. longicaudatus</i>	El Refugio, Río Paragua/Tavo, Santa Cruz, Bolívia	
LPC462 ³	<i>P. longicaudatus</i>	Fazenda São Luis, Barra do Garças, MT	
TTS119 ³	<i>P. longicaudatus</i>	Bolívia	
	<i>P. longicaudatus</i>		NC020657
LPC742/UFESCTA1689 ¹	<i>Proechimys gr. goeldii</i>	Fazenda Noirumbá, Ribeirão Cascalheira, MT	PE
MZUSP31924 ^{1,2}	<i>Proechimys gr. goeldii</i>	Juruena, MT	PE
INPA2760 ³	<i>P. goeldii</i>	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA	
LPC564 ³	<i>P. goeldii</i>	Reserva Ecológica Cristalino, Alta Floresta, MT	
USNM549572 ³ USNM5495735 ³	<i>P. goeldii</i>	Rio Xingu, Altamira, PA	
INPA3755 ³ MVZ190967 ³	<i>P. steerei</i>	Fazenda Santa Fé, Rio Juruá, AC	
MVZ191449 ³	<i>P. steerei</i>	Sobral, Rio Juruá, AC	
INPA3778 ³	<i>P. steerei</i>	Ilhazinha, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM	

Anexo 2. Continuação

Código	Táxon	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank
INPA4229 ³	<i>P. steerei</i>	Tambor, Rio Jaú, AM	
INPA3850 ³	<i>P. steerei</i>	Altamira, Rio Juruá, AM	
INPA4240 ³	<i>P. steerei</i>	Rio Jaú, AM	
MVZ190957 ³	<i>P. steerei</i>	Ilha Paxiuba, Rio Juruá, AM	
LHE747 ³	<i>P. steerei</i>	Prov. Iturraldi, Río Madidi, La Paz, Bolívia	
MNFS114 ³	<i>P. steerei</i>	Oposto ao Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC	
MVZ166036 ³	<i>P. steerei</i>	Reserva Cusco Amazonico, Madre de Dios, Peru	
CCM35	<i>P. quadruplicatus</i>	Arquipélago Anavilhanas, Rio Negro, AM	
MV970104 MV970117	<i>P. quadruplicatus</i>	El Chino, Río Tahuayo, Loreto, Peru	
MVZ157871	<i>P. quadruplicatus</i>	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru	
	<i>P. quadruplicatus</i>	San Carlos de Rio Negro, Amazonas, Venezuela	U35413
	<i>P. quadruplicatus</i>	Rio Padauri, Santa Isabel, AM	AF308435
APC2345	<i>P. roberti</i>	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	PE
APC1237	<i>P. roberti</i>	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	PE
APC 817 APC 839	<i>P. roberti</i>	Centro de Instrução de Adestramento de Brasília, Brasília, DF	PE
CJ5 ³	<i>P. roberti</i>	Floresta Nacional de Carajás, Distrito de Sossego, Parauapebas, PA	
CRB931 ³	<i>P. roberti</i>	Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, GO	
INPA2748 ³	<i>P. roberti</i>	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA	
LPC540 ³	<i>P. roberti</i>	Reserva Ecológica Cristalino, Alta Floresta, MT	
USNM549587 ³	<i>P. roberti</i>	Lesta do Rio Xingu, Altamira, PA	
AMNH272677 ³	<i>P. simonsi</i>	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru	
MVZ157914 ³	<i>P. simonsi</i>	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru	
	<i>P. simonsi</i>		EU313249
	<i>P. simonsi</i>		EU313250

Anexo 2. Continuação

Código	Táxon	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank
	<i>P. simonsi</i>	Madre de Dios, Aguas Calientes, Madre de Dios, Peru	U35414
INPA2556 ³	<i>P. kulinae</i>	Seringal Condor, Rio Juruá, AM	
INPA3515 ³	<i>P. kulinae</i>	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM	
AMNH272714 ³ MUSM13340 ³	<i>P. kulinae</i>	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru	
MV970079 ³	<i>P. kulinae</i>	La Colmena, Quebrada La Colmena, Loreto, Peru	
MNFS1166 ³ MNFS1200 ³ MVZ187199 ³	<i>P. pattoni</i>	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC	
MVZ187197 ³	<i>P. pattoni</i>	Sobral, Rio Juruá, AC	
INPA3504 ³ MVZ187209 ³	<i>P. gardneri</i>	Altamira, Rio Juruá, AM	
LHE834 ³	<i>P. gardneri</i>	Centro, Abuna, Pando, Bolívia	
MNFS121 ³ MNFS88 ³	<i>P. gardneri</i>	Alto Rio Urucu, AM	
INPA2526 ³	<i>P. echinothrix</i>	Comunidade Colina, São Gabriel da Cachoeira, AM	
INPA2551 ³	<i>P. echinothrix</i>	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM	
INPA34825 ³	<i>P. echinothrix</i>	Lago Vai-Quem-Quer, Rio Juruá, AM	
MVZ187183 ³	<i>P. echinothrix</i>	Colocação Vira-Volta, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM	
INPA4226 ³	<i>P. echinothrix</i>	Tambor, Rio Jaú, AM	
INPA4538 ³	<i>P. echinothrix</i>	Lado direito do rio Jaú, AM	
MNFS133 ³	<i>P. echinothrix</i>	Alto Rio Urucu, AM	
SLF309 SLF313	<i>P. guyannensis</i>	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE
ALG14297 ³ USNM560676 ³	<i>P. guyannensis</i>	Base de campo Neblina, Río Mawarinuma, Amazonas, Venezuela	
CCM42 ³	<i>P. guyannensis</i>	PDBFF, 82 km N Manaus, AM	
CRB633 ³ MNRJ42831 ³	<i>P. guyannensis</i>	São João da Baliza, Usina Hidrelétrica Alto Jatapú, RR	
INPA2533 ³	<i>P. guyannensis</i>	Estrada Piçarreira, Parque Nacional do Pico da Neblina, AM	

Anexo 2. Continuação

Código	Táxon	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank
MNFS1796 ³	<i>P. guyannensis</i>	Sem registro	
MVZ160094 ³	<i>P. guyannensis</i>	Santa Elena, Bolívar, Venezuela	
	<i>P. guyannensis</i>	St Eugène, Guiana Francesa	AJ251395
	<i>P. guyannensis</i>	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251399
	<i>P. guyannensis</i>		AY206605

Legenda: PE: Sequências geradas pelo presente estudo. ¹Espécimes cariotipados pelo presente estudo. ²Espécimes cariotipados por Machado et al. (2005). ³Sequências cedidas por J. Patton. Siglas das Coleções/Código do Coletor: ALG: Alfred L. Gardner; AMNH: American Museum of Natural History, New York, USA; APC: Ana Paula Carmignotto; BIO/CIT: Y. Yonenaga-Yassuda; CRB: Cibele R. Bonvicino; LGA: Laboratório de Genética Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil; JLP: James L. Patton; JPB: Jean-Phillipe Boubi; JUR: Jay R. Malcolm; LHE: Louise H. Emmons; LPC: Leonora Pires Costa; MNFS: Maria Nazareth F. Da Silva; MNRJ: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; MUSM: Museo de Historia Natural, Universidad Mayor de San Marcos, Lima, Peru; MV: Michael Valqui; MVZ: Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley, EUA; ROM: Royal Ontario Museum, Toronto, Canada; TTS: Teresa Tarifa S, SLF: S.L. Freitas; UFESCTA: Coleção de Tecidos e DNA, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; USNM: National Museum of Natural History (formerly The United States National Museum), Washington, D.C., USA.

CAPÍTULO 3

**Cariótipos espécie-específicos e citotaxonomia
no gênero *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae)**

Cariótipos espécie-específicos e citotaxonomiano gênero *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae)

Resumo

Os roedores do gênero *Proechimys* são amplamente distribuídos pelas florestas da América Central, desde Honduras até o Paraguai na América do Sul, se estendendo ao longo da Floresta Amazônica e parte do Cerrado brasileiro, sendo o gênero mais especioso da família Echimyidae, com 22 espécies reconhecidas. A taxonomia do grupo é muito confusa, pois há grandes variações dos caracteres morfológicos intra e inter populacionais, devido o contínuo crescimento dos indivíduos ao longo da vida, o que torna a delimitação das espécies uma tarefa complexa quando os estudos se baseiam exclusivamente nas comparações morfométricas. Dessa maneira, os estudos citogenéticos têm sido apontados como uma importante ferramenta no reconhecimento das espécies nesse gênero. No presente estudo, avaliou-se a utilização do cariótipo como um marcador específico para o gênero *Proechimys*, com a análise citogenética de 43 novos exemplares, os quais foram incorporados aos disponíveis na literatura, permitindo a compilação de 1125 exemplares cariotipados de *Proechimys*, com levantamento de 39 cariótipos a ele atribuídos. Também foi gerada uma filogenia molecular dos genes vWF e citB, que recuperou treze linhagens evolutivas, sendo duas ainda não descritas para espécies do gênero. Os cariótipos quando disponíveis foram associados a sua respectiva sequência de DNA na filogenia a fim de verificar se o cariótipo está associado aos clados monofiléticos. O presente estudo mostrou a formação de subclados em alguns táxons, com alto suporte dentro de cada um desses grupos. Em *P. cuvieri*, o clado A ($2n=28/FN=46$) apresentou 8,86% de divergência genética entre o clado B ($2n=28/FN=48$) e de 10,36% em relação ao clado C (sem cariótipo associado), enquanto que o clado B divergiu em 3%, do clado C, sugerindo que A (*P. cuvieri*, $2n=28/FN=46$) é uma unidade taxonômica distinta de B ($2n=28/FN=48$) e C, que devem representar uma espécie ainda não descrita. Em *P. longicaudatus*, ocorreu a formação de dois clados divergentes entre si em 10,75%, tendo o clado associado ao cariótipo $2n=28/FN=50$ identificado como *P. longicaudatus*, enquanto que o associado a $2n=28/FN=48,50$ deve pertencer a uma unidade taxonômica ainda não descrita. Em *P. roberti*, o cariótipo $2n=30/FN=56$ no clado A mostrou baixa divergência em relação aos clados B (3,31%) e C (2,93%), mas alta divergência em relação ao clado D (6,94%), associado ao cariótipo $2n=30/FN=56$, mas morfologia do último par distinta do citótipo A. Nossa análise sugere que o clado D, com distribuição disjunta, alta

divergência e cariótipo distinto deva corresponder à uma unidade taxonômica distinta. *Proechimys guyannensis* se apresentou como a espécie mais complexa devido à grande diversidade cariotípica associada à espécie. A filogenia mostrou três subgrupos: A, B e C, com relativamente baixa divergência, o clado B diverge em 2,45% do clado A, o clado C em 5,22% de B e o clado C em 5,49% de A. Embora baixa diversidade, a monofilia, localização geográfica disjunta e os cariótipos distintos permitiram associar os cariótipos de *P. guyannensis*: $2n=40/FN=50-52$, para o Amapá, Guiana Francesa e Venezuela (clado B); $2n=46/FN=50$ para o leste do Amazonas, Roraima e Pará (clado A) e $2n=38/52$ ao clado C para o extremo noroeste do Amazonas. Esse último apresenta variações cariotípicas marcantes e a maior divergência com os demais cladogramas, podendo significar uma barreira no intercruzamento desses indivíduos com os dos demais cladogramas. Devido à ausência de resolução filogenético dos basal em *P. guyannensis*, baixo número de exemplares analisados molecularmente e cariotipados, esforços adicionais são necessários, pois esse táxon pode representar um conjunto de espécies. Representantes de *P. steerei* não foram cariotipados no presente estudo mas a revisão bibliográfica permitiu associar cada cariótipo a sua respectiva sequência. São reconhecidos os citótipos $2n=24/FN=40-42$, com variações do FN devido a eventos de inversão pericêntrica no par 3. Nossa análise indicou que não há estruturação na distribuição dos cariótipos, podendo se considerar a variação do FN dentro de *P. steerei* (FN=40,41, 42) como um polimorfismo cromossômico, sendo FN=41 a forma intermediária entre as duas homomórficas. Dessa maneira, os resultados apresentados no presente estudo reforçam a importância da análise multidisciplinar cariótipo e molecular para caracterização das espécies nesse especioso e complexo gênero de roedores.

Palavras chave: *Proechimys*, variabilidade cariotípica, cariótipo espécie – específico, filogenia molecular.

Introdução

Proechimys é o gênero mais especioso e amplamente distribuído da família Echimyidae, ocupando principalmente os habitats de floresta da América Central e da região Amazônica, se estendendo pelas florestas secas do sudeste da Bolívia e norte do Paraguai até a região do Centro Oeste Brasileiro (Patton e Leite, 2015).

Tradicionalmente, baseado em estudos de caracteres dentários e da morfologia corporal, esses ratos de espinhos terrestres foram por muito tempo divididos em dois subgêneros: *Trinomys*, limitados a Mata Atlântica do Brasil e *Proechimys*, ocupando o sul da América Central se distribuindo ao longo da região amazônica (Moojen, 1948; Gardner e Patton, 1972; Aguilera et al., 1979). A partir de 1996, com os esforços em estudos envolvendo dados de biogeografia, caracteres dentários e estudos filogenéticos, *Trinomys* foi elevado a nível genérico (Lara et al., 1996; Lara e Patton, 2000; Carvalho e Salles, 2004; Woods e Kilpatrick, 2005).

Devido à ampla distribuição geográfica, à presença de espécies ocorrendo em simpatria e à alta variabilidade dos caracteres dentro e entre as populações, a taxonomia desse grupo é complexa e uma das menos compreendidas entre todos os mamíferos neotropicais, tornando difícil assim a delimitação das espécies do gênero ao se basear exclusivamente nas análises dos caracteres morfológicos (Patton et al., 2000; Patton e Leite, 2015).

Patton e Leite (2015) organizaram as espécies de *Proechimys* em dez grupos (com suas espécies), baseando-se na proposta de Patton (1987): *canicollis* (*P. canicollis*), *decumanus* (*P. decumanus*), *echinothrix* (*P. echinothrix*), *gardneri* (*P. gardneri*, *P. kulinae* e *P. pattoni*), *goeldii* (*P. goeldii*, *P. quadruplicatus*, *P. steerei*), *guyannensis* (*P. guyannensis*, *P. roberti*), *longicaudatus* (*P. brevicauda*, *P. cuvieri*, *P. longicaudatus*), *semispinosus* (*P. semispinosus*, *P. oconnelli*), *simonsi* (*P. simonsi*), *trinitatis* (*P. chrysaеolus*, *P. guairae*, *P. hoplomyoides*, *P. mincae*, *P. trinitatis*). Embora o estabelecimento desses grupos tenha sido realizado com base na similaridade dos caracteres, os poucos estudos existentes envolvendo a filogenia molecular deram suporte à divisão desses agrupamentos (da Silva, 1998; Patton et al. 2000; Weksler et al. 2001; Bonvicino et al., 2005).

De modo agravante, os dados cromossômicos disponíveis para o gênero revelam uma alta heterogeneidade cariotípica, com muitas variantes cromossômicas e números diplóides que variam de $2n=14$ a 62 (Reig e Useche; 1976; Barros, 1978; Reig et al., 1980; Machado et al., 2005; Eler et al., 2012).

Os estudos citogenéticos têm sido apontados como uma importante ferramenta no reconhecimento das espécies nesse gênero (Patton e Gardner, 1972; da Silva, 1998; Patton,

2000; Machado et al., 2005; Bonvicino et al., 2005; Eler et al., 2012), podendo revelar uma subestimada diversidade de espécies para *Proechimys*, e dessa forma as diferenças cariotípicas são ferramentas essenciais para caracterizar os táxons desse gênero.

Nesse contexto, o principal objetivo desse trabalho foi avaliar a importância do cariótipo como um marcador específico para *Proechimys* e ainda se cada cariótipo está associado a uma linhagem distinta na filogenia molecular do gênero.

Material e Método

As etapas do presente estudo envolveram levantamentos de dados da literatura, tanto cariotípicos quanto de sequências de DNA, com reanálise de todos os cariótipos publicados; a análise cromossômica de novos exemplares; geração de novas sequências de indivíduos com cariótipo descrito e a análise de filogenia envolvendo exemplares cariotipados e não cariotipados.

O levantamento dos cariótipos disponíveis na literatura para *Proechimys* foi realizada até Junho de 2016, com registro de dados citogenéticos presentes em artigos, monografias, teses, dissertações, livros, resumos de congressos e encontros científicos. A busca se baseou em bibliotecas virtuais, acervos de laboratórios, acervos pessoais e na internet, utilizando-se as bases de dados bibliográficos como Google, Google acadêmico, *Scopus*, *Web of Knowledge* e na plataforma Lattes, através das palavras: *cytogenetics*, citogenética, *karyotype*, cariótipo, cromossomo, *chromosome*, *cromossomas*, em conjunto com o nome do gênero *Proechimys*.

As informações cariotípicas coletadas foram organizadas em uma planilha, contendo o número diplóide (2n), o número fundamental (FN), morfologia dos autossomos, morfologia do par sexual, coloração, tipos de bandeamentos cromossômicos, espécie associada, as localidades (município, estado e país), coordenadas geográficas e as referências bibliográficas. Para inclusão do dado na planilha foram considerados os trabalhos que continham ao menos a citação do número diplóide do exemplar. Consideraram-se cariótipos distintos aqueles que apresentaram diferenças no 2n, FN, morfologia dos autossomos e/ou do par sexual. Para as análises comparativas foram considerados apenas os trabalhos que apresentavam uma figura do cariótipo ou a descrição completa da morfologia dos pares autossômicos e dos sexuais.

Para a padronização do cariótipo das espécies, a classificação da morfologia dos cromossomos seguiu-se a seguinte metodologia: **M**, para metacêntrico, **SM** para submetacêntrico, **ST** para subtelo-cêntrico (cromossomos de dois braços) e **A** para

acrocentrico/telocentrico (cromossomos de um braço). Para classificar o tamanho do cromossomo utilizaram-se as letras sobrescritas **g** para grande, **m** para médio, **p** para pequeno e **mi** para minúsculos.

Análises citogenéticas

Foi realizada a análise citogenética de 43 exemplares, sendo 29 fêmeas e 14 machos, coletados nos estados do Maranhão, Mato Grosso, Pará e Tocantins (Anexo 1). Os cromossomos foram obtidos a partir da preparação direta de medula óssea, após injeção *in vivo* de solução de colchicina 0,1% incubadas em solução de KCl (0,075M), fixadas em solução Carnoy (metanol/ácido acético 3: 1), pingadas em lâminas e secas ao ar, segundo Fagundes (1993). As análises se basearam em coloração comum, padrões de bandeamento C (BC, Sumner, 1972), bandeamento G (Seabright, 1971) e da coloração das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-RONs, Howell e Black, 1980).

Foram contadas em média 20 metáfases por indivíduo tanto para o estabelecimento do número diplóide (2n) e do número de braços autossômicos (FN), após coloração convencional, como para a identificação dos cromossomos portadores das RONS e suas posições relativas. As melhores metáfases foram fotodocumentadas e editadas possibilitando a montagem e comparação dos kariogramas.

Sequenciamento de DNA e análises moleculares

Foram geradas as matrizes de dados de sequências de DNA para *Proechimys* de cada gene analisado, 299 sequências do gene mitocondrial citocromo b (CitB) e 28 sequências do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF), assim como uma matriz com os dados concatenados (Anexo 2).

As sequências utilizadas no presente estudo foram cedidas pelos pesquisadores, Dr. James Patton, do Museu de Zoologia de Vertebrados, Berkeley, EUA e Dr. Yuri Leite, da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; obtidas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) ou geradas pelo presente estudo.

O DNA foi extraído de amostras de músculo, fígado ou de preparações citogenéticas em suspensão ou em lâminas utilizando o protocolo de extração salina descrito por Bruford et al. (1992). Para a extração do DNA presente nas lâminas precedeu-se à raspagem do material contendo medula, seguida de lavagem em solução salina de PBS 1X. Na extração do DNA de medula em suspensão, o material citogenético foi previamente submetido a duas lavagens em

PBS 1X e seguiu-se o protocolo padrão de extração de DNA. Foram geradas sequências parciais do CitB com 801 pb utilizando os primers MVZ05 e MVZ16 (Smith e Patton, 1993) e do vWF com 954 pb utilizando os primers V2 e W1 (Huchon et al., 1999). Os produtos de PCR foram purificados com a enzima ExoSap e sequenciados em uma única direção com os primers MVZ05 e V2 em sequenciador automático ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Inc.) no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Espírito Santo (NGACB-UFES). As sequências obtidas foram submetidas à ferramenta BLAST no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015), alinhadas e conferidas manualmente usando o mesmo programa.

A fim de determinar os haplótipos e detectar a saturação de substituições nas diferentes posições dos códons foi utilizado o programa DAMBE5 (Xia, 2013). Quando as sequências foram idênticas, uma única sequência por localidade foi mantida. Não foi detectada a saturação nas bases. Para as inferências filogenéticas foram gerados cladogramas utilizando dois critérios de otimização: Máxima Verossimilhança (ML), com 1000 replicações, na plataforma online PhyML 3.0 (Guindon et al., 2010) e Inferência Bayesiana (IB) com 20^6 replicações no programa Mr. Bayes 3.2 (Ronquist et al., 2012). O melhor modelo de substituição nucleotídica para as inferências de ML e IB foi determinado no programa jModelTest 2.1.10 (Darriba e Posada, 2012), permitindo três e onze esquemas de substituição utilizando respectivamente os critérios de informação de Akaike corrigido (AICc) e o Bayesiano (BIC). Foram considerados clados confiáveis apenas aqueles que apresentaram valores de *bootstrap* acima de 75 (ML) e probabilidades posteriores acima de 0,95 (IB). *Myocastor coypus* (EU544663/AJ251140) e *Thrichomys apereoides* (EU544668/AJ849315) foram utilizados como grupos externos. As análises das sequências de cada gene foram realizadas de forma independente e posteriormente concatenadas. Os cálculos de divergência genética foram feitos no software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2015) por meio do modelo evolutivo Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980).

Resultados e Discussão

Inferências Filogenéticas

A matriz de dados composta pelas sequências de CitB de *Proechimys* gerou HKY+I+G (I=0.3730; G=1.090) e TIM2+I+G (I=0.3690; G=0.9640) como os melhores modelos evolutivos para as inferências filogenéticas de ML e IB, respectivamente. Para o gene vWF, o melhor modelo evolutivo para as inferências filogenéticas de ML e IB foram GTR+G (G=0.2300) e HKY+G (G=0.7220). Nos dois critérios de otimização utilizados (ML

e IB), *Proechimys* foi recuperado como grupo monofilético com alto suporte e as árvores recuperadas muito semelhantes, sendo ilustrado no presente estudo somente as árvores de IB concatenada.

No presente estudo, foram analisadas amostras de seis dos dez grupos de espécies de *Proechimys*: *goeldii*, *simonsi*, *echinothrix*, *longicaudatus*, *guyannensis* e *gardneri*. A filogenia molecular recuperou 15 clados distintos com alto suporte (IB/ML), sendo 13 deles associados à 13 espécies reconhecidas de *Proechimys* (Figura 1): *P. steerei* (1/96), *P. quadruplicatus* (1/100), *P. goeldii* (1/100), *P. simonsi* (1/57), *P. brevicauda* (1/100), *P. longicaudatus* (1/100), *P. cuvieri* (1/80), *P. guyannensis* (1/92), *P. gardneri* (1/100), *P. pattoni* (1/89), *P. kulinae* (0,99/59), *P. roberti* (1/99), *P. echinothrix* (1/100). Dois clados, não associados à espécies válidas, foram recuperados um no grupo *longicaudatus* (aqui chamado *Proechimys* sp2) e um no grupo *goeldii* (aqui chamado *Proechimys* sp1).

Dos seis grupos de espécies reconhecidos por Patton e Leite (2015) e analisados no presente estudo, cinco grupos foram recuperados com alto suporte: grupo *gardneri*: *P. kulinae*, *P. pattoni* e *P. gardneri*; grupo *longicaudatus*: *Proechimys* sp2, *P. longicaudatus* e *P. brevicauda*, grupo *goeldii*: *Proechimys* sp1, *P. goeldii*, *P. quadruplicatus* e *P. steerei*; grupo *echinothrix*: *P. echinothrix* e grupo *simonsi*: *P. simonsi*. Não foi recuperada a monofilia do grupo *guyannensis*, composto por *P. roberti* e *P. guyannensis*. Verificou-se uma politomia basal, sem a definição das relações entre os grupos de espécies. No entanto, *Proechimys* foi recuperado como um grupo com alto suporte. Dentro do grupo *gardneri*, recuperou-se, com alto suporte, a relação (*P. kulinae* (*P. pattoni* + *P. gardneri*), enquanto que nos grupos *longicaudatus* e *goeldii* não foi possível recuperar a relação entre as espécies do grupo.

As divergências intraespecíficas variaram de 1,39% em *P. pattoni* ao limite de 6,33% em *P. kulinae*. As divergências interespecíficas entre espécies do mesmo grupo variou de 9,95% a 11,78% no grupo *longicaudatus*; 12,68% a 13,62% no grupo *gardneri* e de 11,35% a 13,97% no grupo *goeldii*. As divergências interespecíficas entre espécies pertencentes a grupos distintos variaram de 11,13% a 18,39% e com o grupo externo variou de 16,33% a 21,44% (Anexo 3).

Revisão dos dados cariotípicos

O levantamento bibliográfico permitiu calcular que 1125 espécimes de *Proechimys* foram cariotipados, com número diplóide variando de 14 a 62 e número fundamental de 16 a 80, totalizando 39 cariótipos distintos, associados às 22 espécies atualmente reconhecidas para

o gênero. Somente para *P. hoplomyoides* não há descrição cariotípica. Somente as espécies *P. gardneri* e *P. pattoni* compartilham o mesmo citótipo com $2n=40/FN=56$ (Anexo 4).

Oito cariótipos foram descritos, porém em suas publicações originais os autores não puderam associar os cariótipos a espécies válidas, sugerindo a associação a táxons novos, sendo naqueles artigos nominados *Proechimys* sp, *Proechimys* sp1, *Proechimys* sp2 e *Proechimys* sp 3, *Proechimys* spA e *Proechimys* spB.

As análises citogenéticas dos 43 novos exemplares, realizadas no presente estudo, revelaram quatro cariótipos distintos, associados a quatro espécies de *Proechimys*. Esses exemplares tiveram as sequências de DNA geradas e foram incorporados nas análises da filogenia molecular apresentadas no presente estudo. Os exemplares disponíveis na literatura que continham sequência e cariótipo também foram incorporados à análise, como é o caso de *P. steerei* e *Proechimys* sp2. A seguir serão apresentados e discutidos os dados de cada um dos grupos de espécies.

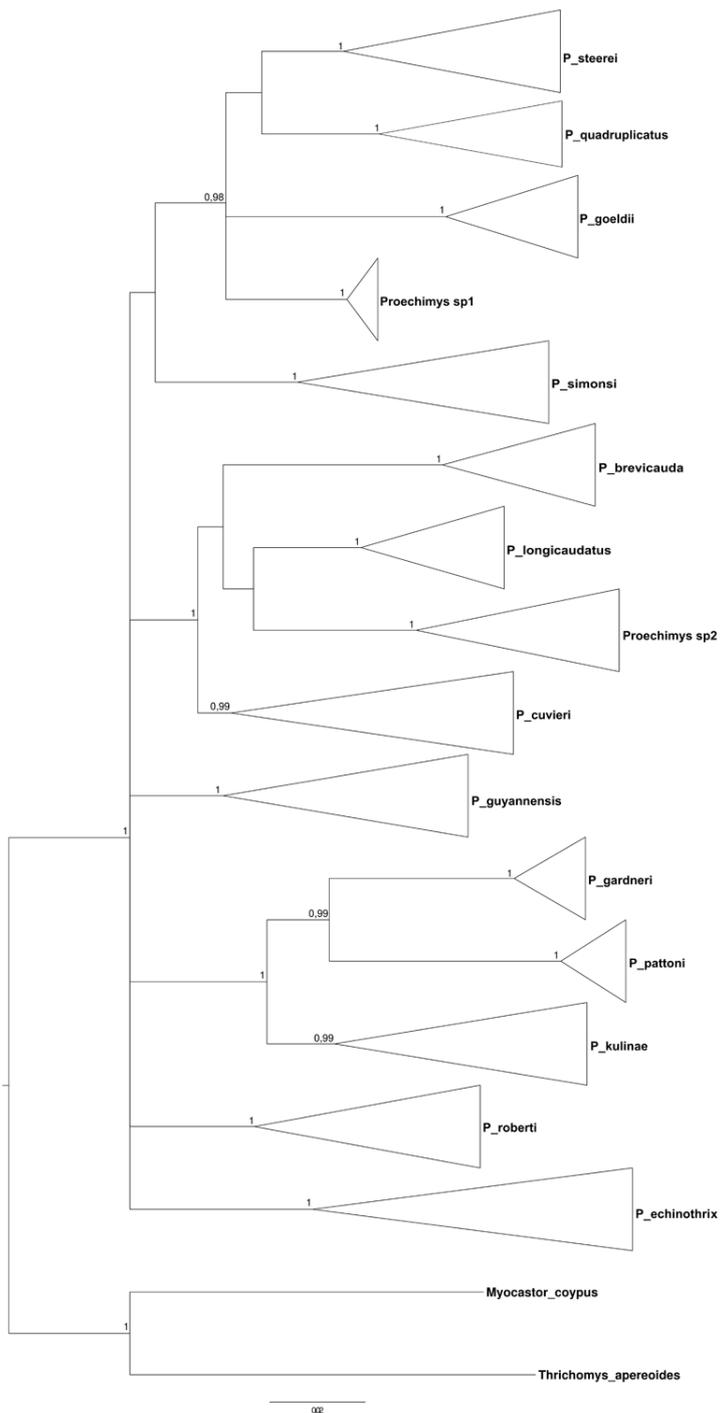


Figura 1. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, construída com seqüências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$.

Proechimys cuvieri

Proechimys cuvieri é amplamente distribuído em toda a Bacia Amazônica, do leste do Equador e do Peru para o leste do Brasil (Acre, Amazonas e Pará), Venezuela e Guianas. É simpátrica com *P. guyannensis* em toda a Guiana e no norte da Amazônia brasileira, podendo ainda co-ocorrer com até quatro outras espécies ao longo do Rio Juruá (Patton e Leite, 2015).

A amostra do presente estudo foi formada por três fêmeas da localidade de Oriximiná (PA). O cariótipo apresentou $2n=28$ e $FN=46$ formado por 10 pares de cromossomos de dois braços (1, 2 e 4 a 10) e três pares de cromossomos acrocêntricos, sendo o par 3 acrocêntrico grande e os pares 12 e 13 acrocêntricos pequenos. O cromossomo X é acrocêntrico médio (Figura 2a).

A heterocromatina constitutiva (HC) se distribui em pequenos blocos centroméricos dos menores pares 7 a 10 (Figura 2b). Houve a marcação intersticial pela Ag-RONs no par, que corresponderia ao 8 (Figura 2c).

Na literatura são descritas três formas cariotípicas para a espécie: (1) a forma $2n=28/FN=46$, que correspondem ao citótipo do presente estudo, também foi encontrada para as localidades de Presidente Figueiredo (AM) por Maia e Langguth (1993) e Silva et al. (2012) e Macaco (AM) por Patton et al. (2000); (2) a forma $2n=28/FN=48$ encontrada nas localidades Altamira (PA), Penedo, Ipixuna e Barro Vermelho (AM) e Porongaba, Nova Vida e Sobral (AC) por Patton et al. (2000); (3) a forma $2n=28/FN=50$, para Saul Cayenne (Guiana Francesa) por Reig et al. (1979) e Nova Vida (AC) por Patton et al. (2000), esse último não representado na filogenia.

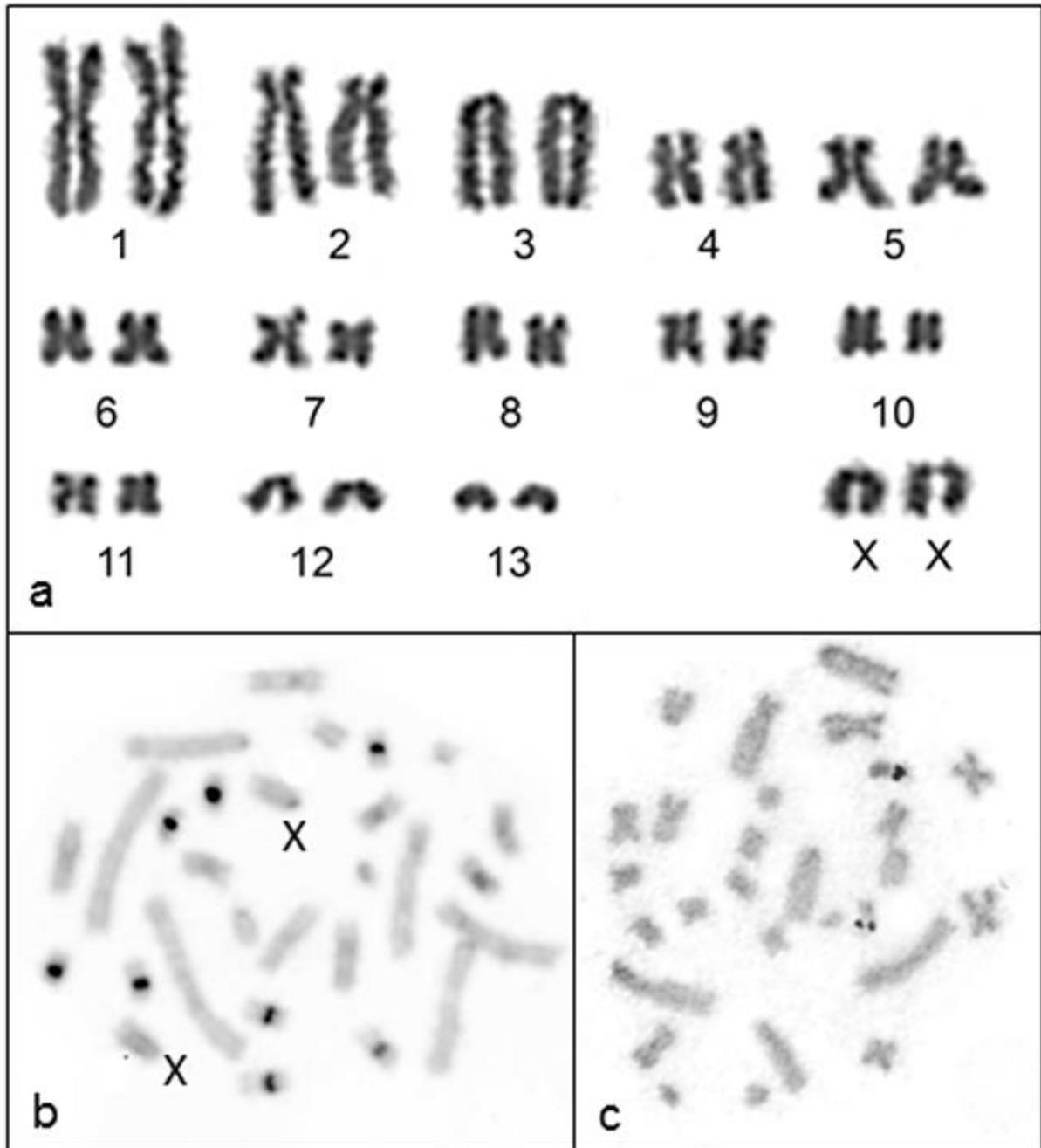


Figura 2. Cariótipo de *Proechimys cuvieri* com $2n=28/FN=46$, em coloração convencional (a), bandamento C mostrando blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas dos pares de 7 a 10 (b) localização das Ag-RONs no par 8 (c).

Na filogenia molecular de *P. cuvieri* (Figura 3) considerou-se aquele clado com suporte, sendo observados sete grupos (A1, A2, A3, A4, A5; B e C). Somente os grupos A3 e B apresentaram seqüências com os devidos cariótipos associados.

Embora o clado A, representado por exemplares da Guiana Francesa, Pará, Venezuela e do Rio Negro no Amazonas, tenha sido dividido em subgrupos (A1, A2, A3, A4, A5),

apresentou baixa divergência genética, variando de 1,26 a 2,66% dentro do clado A (Anexo 5), compatível com variação intraespecífica. Esse clado é representado pelo citótipo de $2n=28/FN=46$ no grupo A3.

Por outro lado, os cladogramas B (Acre e Amazonas) e C (Peru) apresentaram divergências genéticas altas quando comparadas aos valores dos subgrupos do grupo A. O clado B, associado à forma $2n=28/FN=48$, apresentou alta taxa divergência genética em relação ao grupo A (8,86%). Porém, o clado B apresentou baixa diferença em relação ao clado C com 3,00%.

Os dados citogenéticos indicam diferenças entre os três citótipos descritos. O citótipo de $2n=28/FN=46$ (clado A, presente estudo) se difere das formas $2n=28/FN=48$ e $2n=28/FN=50$ pela presença de três pares de acrocêntricos, sendo um grande e dois pequenos, além da morfologia do X ser acrocêntrico médio e Y acrocêntrico minúsculo. Na forma de $2n=28/FN=48$ há dois pares de acrocêntricos e o X é acrocêntrico pequeno e Y acrocêntrico minúsculo. Na forma $FN=50$ há a presença de somente um par de acrocêntricos médios e um par a mais de metacêntrico pequenos, o X é acrocêntrico pequeno e Y acrocêntrico minúsculo (Tabela 1).

Tabela 1. Diferenças entre as formas cariotípicas de *P. cuvieri*.

2n	NF	Pares autossomos	X	Y	Localidades (Figura 4)
28	46	3A, 10M	Am	Yp	Presidente Figueiredo (AM), Macaco (AM), Oriximiná (PA)
28	48	2A, 11M	Ap	Yp	Altamira (PA), Penedo, Ipixuna e Barro Vermelho (AM) e Porongaba, Nova Vida e Sobral (AC)
28	50	1A, 12M	Ap	Yp	Saul Cayenne (Guiana Francesa) e Nova Vida (AC)

Aliando os dados de citogenética e de divergência genética, sugere-se que o clado A de $2n=28/FN=46$ é uma unidade taxonômica distinta dos cladogramas B ($2n=48/FN=48$) e C, enquanto que os cladogramas B e C podem corresponder à mesma unidade taxonômica. A localidade tipo de *P. cuvieri* é Saul (Guiana Francesa) que corresponde ao clado A do presente estudo, dessa forma o citótipo de $2n=28/FN=46$ deve corresponder a *P. cuvieri*. Mais estudos são necessários com animais contendo sequência e cariótipo de $2n=28/FN=50$, a fim de verificar se há a formação de um clado distinto com exemplares desse cariótipo. Se verificada a formação de cladogramas distintos e com alta divergência entre si, é possível supor haver pelo menos três táxons dentro de *P. cuvieri*, cada um associado a um cariótipo.

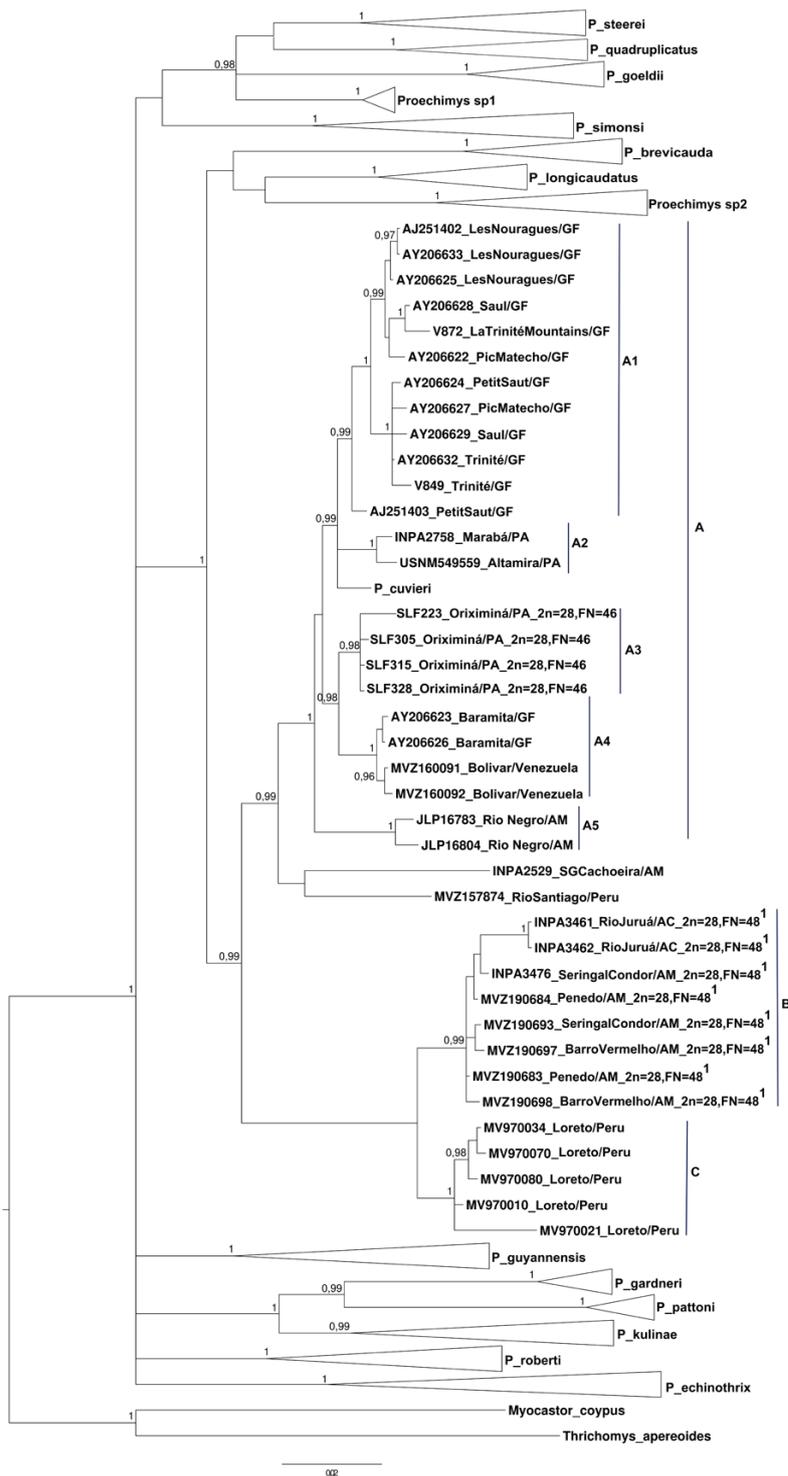


Figura 3. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, com destaque para os grupos de *P. cuvieri* e seus subgrupos, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.

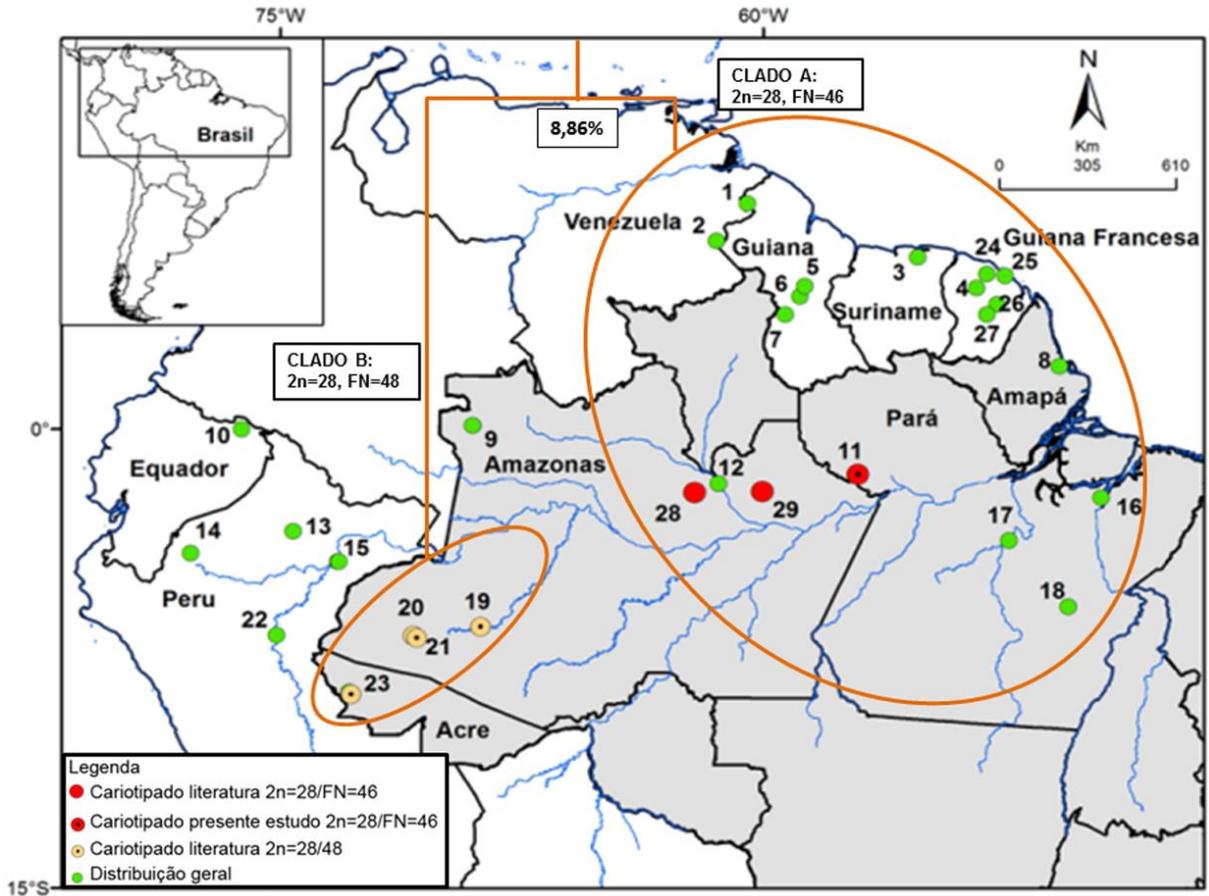


Figura 4. Mapa de distribuição de *P. cuvieri*, com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos. Em laranja uma representação da filogenia molecular, com a divergência genética entre os clado A e B. **Legenda das localidades:** Acre: 23. Igarapé Porongaba. Amapá: 8. 4 km Norte Amapá. Brasil - Amazonas: 9. Comunidade Colina, São Gabriel da Cachoeira; 12. Lago Meduiním, Rio Negro; 19. Barro Vermelho, Rio Juruá; 20. Seringal Condor, Rio Juruá; 21. Penedo; 28. Macaco; 29. Presidente Figueiredo. Pará: 18. Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Município de Marabá; 17. Rio Xingu, 52 km SSW Altamira; 16. Ilha do Taiuno; 11. Oriximiná. Equador: 10. Laguna Grande, Rio Cuyabeno, Sucumbios. Guiana: Nouragues; 6. 30 km NE Surama, Potaro-Siparuni; 5. Kurupukari, Essequibo, rio Demerara-Berbice; 7. Karanambo, rio Rupununi, Kanuku; 1. Barima-Waini, Baramita. Guiana Francesa: 4. Montanhas La Trinité; 24. Petit Saut; 25. Macouria; 26. Nouragues; 27. Pic Matecho. Peru: 14. La Poza, Amazonas; 13. Santa Luisa, Rio Nanay, Loreto; 22. Sarayacu, Rio Ucayali, Loreto; 15. San Pedro, Río Blanco, Loreto. Suriname: 3. Lelydorpplan. Venezuela: 2. 69 km Sudeste, Rio Cuyuni, Bolívar.

Proechimys longicaudatus

Proechimys longicaudatus ocorre nas florestas secas do oeste da Bolívia, norte do Paraguai e no Centro-Oeste do Brasil (Patton e Leite, 2015).

A amostra do presente estudo foi formada por três fêmeas e dois machos da localidade de Barra do Garças e Porto Estrela (Mato Grosso). O cariótipo apresentou $2n=28$ e $FN=50$ formado por 12 pares de cromossomos de dois braços e um par de cromossomos acrocêntricos pequenos. O par sexual é formado por X acrocêntrico médio e Y acrocêntrico minúsculo (Figura 5a). A marcação pela Ag-RON ocorreu no par oito, coincidente com a localização da constrição secundária do braço longo (Figura 5b).

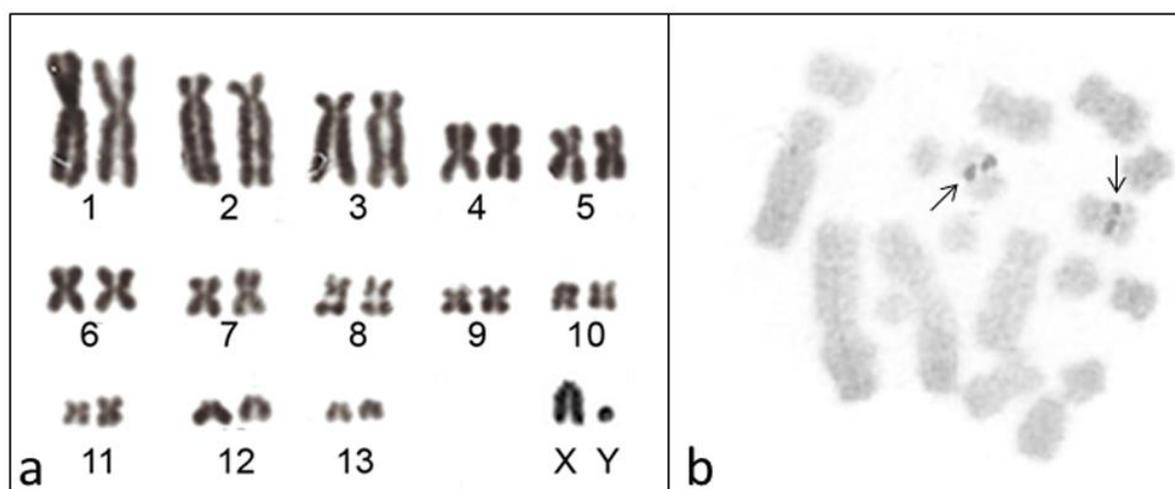


Figura 5. Cariótipo de *Proechimys longicaudatus* com $2n=28/FN=50$, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b) .

Machado et al. (2005) descreveram três cariótipos associados a *P. longicaudatus*: (1) $2n=28/FN=48$ (denominado carioforma A) com 12 pares meta/submetacêntricos, 2 pares acrocêntricos, um grande na posição 3 e um pequeno na posição 11, X submetacêntrico médio e Y acrocêntrico pequeno para as localidades de Samuel (RO), e Y submetacêntrico pequeno para Aripuanã e Juruena (MT); (2) $2n=28/FN=50$ (denominada carioforma B), com 12 pares de metacêntricos e um par de acrocêntricos grandes, sendo o par 11 um metacêntrico pequeno, X submetacêntrico médio e Y acrocêntrico pequeno, para a localidade de Apiacás (MT); (3) $2n=28/FN=50$ (denominada carioforma C), com 12 pares de metacêntricos e um par de acrocêntricos pequenos na posição 11, X acrocêntrico médio e Y acrocêntrico pequeno, para a localidade do Parque Nacional das Emas (GO). O cariótipo descrito no presente estudo do Mato Grosso é idêntico à carioforma C de Goiás, descrita por Machado et al. (2005).

Na amostra utilizada para reconstruir a filogenia molecular de *P. longicaudatus* (Figura 6) foram sequenciados os exemplares do presente estudo bem como os representantes das carioformas A e B de Machado et al (2005). Observou-se que os exemplares do MT (presente estudo, carioforma C de Machado et al.; 2005) se organizaram em um clado com outras sequências identificadas do Genbank como *P. longicaudatus*, com alto suporte.

As sequências dos exemplares das carioformas A e B de Machado et al. (2005) formaram um grupo com alto suporte, distinto do clado de *P. longicaudatus*, com 10,75% de divergência de *P. longicaudatus*. Esse grupo, denominado no presente estudo de *Proechimys* sp2, está subdividido em dois subclados, A1 e A2, com 4,24% de divergência entre si (Anexo 6), cada qual associado a um cariótipo distinto (Figura 6).

A divergência genética entre os clados *P. longicaudatus* e o *Proechimys* sp2 tem um valor próximo ao encontrado para a divergência de algumas espécies do gênero, como ocorre entre *P. echinothrix* e *P. guyannensis* (11,49%) e *P. cuvieri* e *P. brevicauda* (11,54%). Por outro lado, os subgrupos A1 e A2, embora distintos, ainda acumulam baixa divergência entre si.

As diferenças entre os cariótipos com FN=50 são bastante marcantes, tanto no número de cromossomos metacêntricos e acrocêntricos, e da morfologia dos cromossomos sexuais, justificando o posicionamento desses exemplares em clados com mais de 10% de divergência.

Ao mesmo tempo, os cariótipos com FN=48 e FN=50 de *Proechimys* sp2, apresentam diferenças basicamente na morfologia dos cromossomos do par 11, sendo acrocêntrico no clado A1 e metacêntrico no clado A2, ambos do MT. Essa diferença pode ser interpretada como uma variação geográfica. Além disso, os exemplares de Aripuanã e Juruena (clado A1) estão separados dos exemplares de Apiacás (clado A2), ambos no MT, pelo Rio Juruena (Figura 7), com divergência de 4,24%.

De acordo com as evidências citogenéticas que mostram a ocorrência de rearranjos cromossômicos distinguindo os cariótipos dos táxons *P. longicaudatus* e *Proechimys* sp2, aliada a alta divergência genética entre os clados, pode-se propor que se tratam de unidades taxonômicas distintas, com o grupo *Proechimys* sp2 não associado a um nome específico. A divergência dentro de *Proechimys* sp2 está associada a variação geográfica, provavelmente associada à uma inversão pericêntrica em um pequeno par de autossomos.

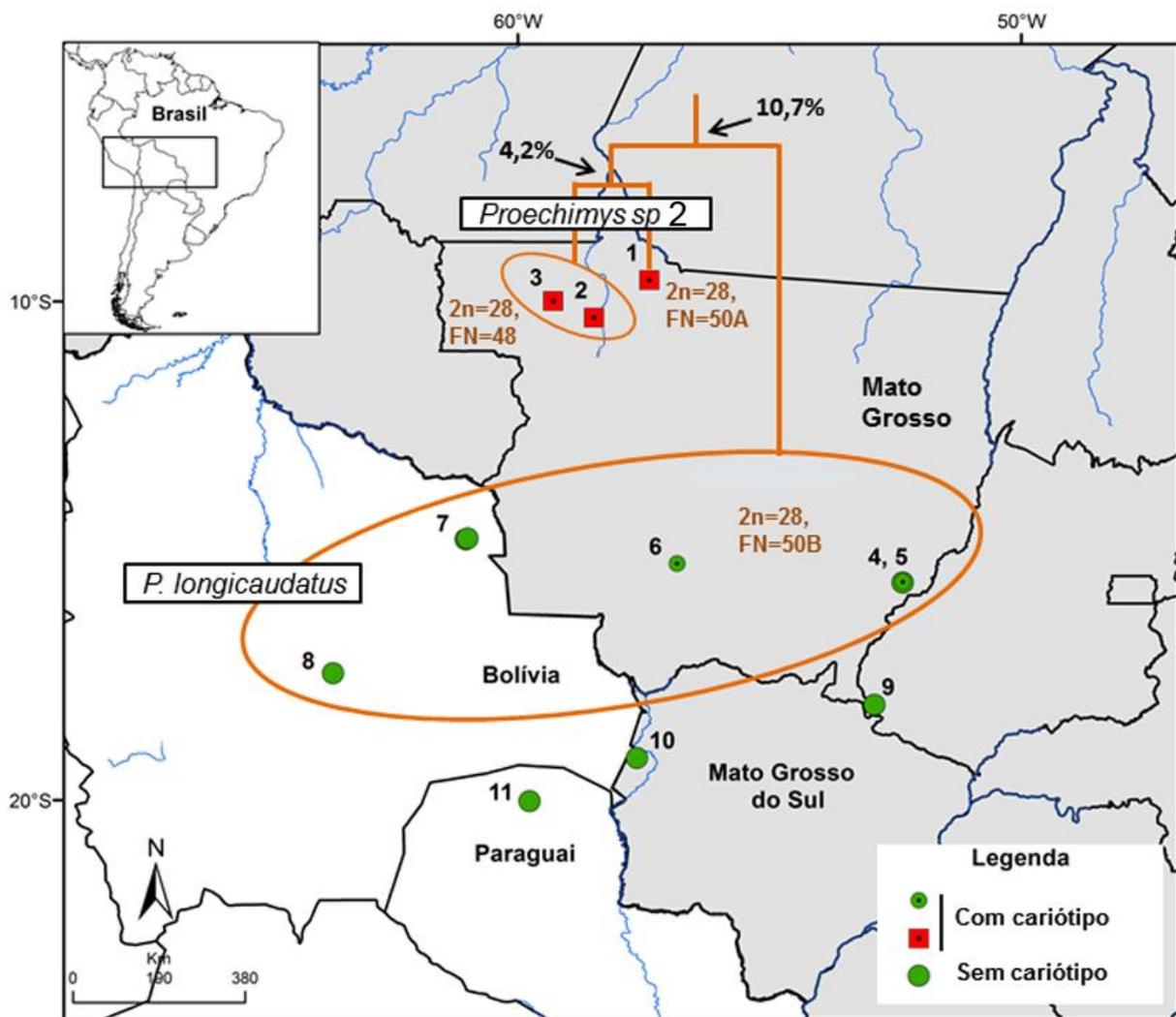


Figura 7. Mapa de distribuição de *P. longicaudatus* e *Proechimys sp2*, com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos. O retângulo representa os indivíduos com cariótipo descrito na literatura e o círculo os exemplares cariotipados no presente estudo. Em laranja uma representação da filogenia molecular, com a divergência genética entre *P. longicaudatus* e *Proechimys sp2*. **Legenda das localidades:** **Bolivia:** 7. El Refugio, Santa Cruz; 8. Buenavista, Santa Cruz. **Brasil - Goiás:** 9. Mineiros, Parque Nacional das Emas. **Mato Grosso:** 1. Apiacás; 2. Juruena; 3. Aripuanã; 4. Barra do Garças; 5. Fazenda São Luis, 30 km N Barra do Garças; 6. Porto Estrela; 10. Urucum. **Paraguai:** 11. 54 km Leste Agua Dulce , Alto Paraguai.

Proechimys roberti

Proechimys roberti Thomas, 1901 está distribuído pela Floresta Amazônica Brasileira, ao sul do Rio Amazonas, no Cerrado do Centro-Oeste do Brasil, abrangendo os

estados do Pará, Maranhão, Tocantins, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais (Weksler et al., 2001).

No presente estudo foram analisados citogeneticamente 26 exemplares de Carolina (Maranhão - MA) e três exemplares do Jalapão (Tocantins - TO), que mostraram $2n=30/FN=56$, composto por 14 pares de cromossomos de dois braços, sendo o par 13 subtelocêntrico e o par 14, metacêntrico pequeno. O cromossomo X é submetacêntrico médio e o Y acrocêntrico pequeno (Figura 8a). O par 9 apresentou marcação pela Ag-RONs coincidente com a região da constrição secundária (Figura 8b). A heterocromatina constitutiva (HC) se distribui em pequenos blocos centroméricos dos menores pares (13 e 14), na região telomérica do braço curto do par 3, no braço curto dos pares 11 e 12 e em ambos os braços e na região pericentromérica do cromossomo 6 (Figura 8c). A banda G permitiu identificar os pares homólogos (Figura 8d).

Na literatura, *Proechimys roberti* é descrito com dois citótipos: $2n=30/FN=54$ e $2n=30/FN=56$. Ao analisar as figuras apresentadas em vários trabalhos verifica-se que muitas apresentam padrões de cromatina muito condensada, dificultando a identificação da morfologia do último par se é acrocêntrico pequeno ou metacêntrico/subtelocêntrico pequeno, colocando em dúvida a existência da forma com $FN=54$.

O cariótipo obtido no presente estudo é idêntico ao descrito por Machado et al. (2005) para a localidade de Uruçuí-Una (PiauÍ) com $FN=56$ e par 14 metacêntrico minúsculo. Porém, Machado et al. (2005) encontraram uma carioforma com $FN=56$ para Cláudia e Gaúcha do Norte (MT), distinta da descrita no presente estudo, com par 14 subtelocêntrico pequeno.

A filogenia molecular gerada no presente estudo foi composta por sequências doadas pelo pesquisador J. Patton, outras disponíveis no GenBank e de aquelas de exemplares cariotipados no presente estudo das localidades de Carolina (MA), Brasília (DF) e Jalapão (TO). Considerando a filogenia obtida (Figura 9), quatro grupos com alto suporte foram observados em *P. roberti*, identificados como subclado A (para exemplares de Tocantins, Maranhão e Goiás, com $2n=30$, $FN=56$), subclado B (para exemplares do Pará, sem cariótipo associado), clado C (para exemplares do Pará, sem cariótipo associado) e subclado D (para exemplares de Mato Grosso, sem cariótipo associado).

Com relação a divergência genética (Anexo 7), o grupo que merece destaque é o clado D, formado por exemplares da localidade de Alta Floresta (MT), que apresentou baixa divergência interna (1,22%), mas altas taxas em relação aos subclados A (6,94%), B (7,22%) e C (7,10%).

P. roberti é considerada uma das espécies com histórico taxonômico mais confuso do gênero. Na descrição original, Thomas (1901) considerou que *P. roberti* estaria relacionado a *P. longicaudatus*, sendo tratado como subespécie de *P. longicaudatus*. Em 1904, Thomas indicou que *P. roberti* era relacionado a *P. cayennensis* (= *P. guyannensis*) e Ellerman (1940) o considerou como subespécie de *P. cayennensis*. Mais tarde, em 1987, Patton considerou *P. roberti* como distinto de *P. guyannensis*. Pessôa et al. (1990), por sua vez, estudaram a morfometria de populações do grupo *guyannensis* da Bacia Amazônica, da região nordeste e do Centro-Oeste brasileiro, incluindo exemplares denominados *P. roberti* e *P. oris*. Os autores concluíram que há um alto nível de diferenciação morfométrica, indicando que se tratam de unidades evolutivas distintas. Porém, mais tarde, Weksler et al. (2001) analisaram exemplares de *P. roberti* e *P. oris*, coletados nos estados do Amazonas, Goiás, Maranhão, Pará, Roraima e Tocantins, concluindo que pertenciam ao mesmo táxon com base em evidências morfológicas, cariotípicas e moleculares.

Segundo Patton e Leite (2015), espécimes dos estados de Mato Grosso e Pará, não incluídas no trabalho de Weksler et al. (2001), se diferenciam morfologicamente de *P. roberti*, mostrando alta divergência na sequência de DNA mitocondrial. O presente estudo mostra que exemplares do Pará se diferenciam de *P. roberti* por 3,3% e formam um clado distinto, irmão de *P. roberti*, enquanto que exemplares do Mato Grosso formam um clado distinto, com mais de 7% de divergência dos demais (Figura 10).

Dessa maneira, baseando-se nos estudos descritos por Patton e Leite (2015), que indicam a diferença morfológica e de DNA mitocondrial dos exemplares de Mato Grosso (Clado D no presente estudo) em relação aos espécimes de *P. roberti* das demais localidades, o presente estudo apresenta dados de divergência genética que reforçam essa diferenciação.

Embora na filogenia apresentada no presente estudo não tenha nenhum exemplar de Alta Floresta (clado D) cariotipados, a descrição de um cariótipo de Alta Floresta (MT), distinto de *P. roberti* (Machado et al. 2005) reforçam que os dados citogenéticos também caracterizam essa localidade como distinta. Patton e Leite (2015) haviam sugerido que populações da Planície Amazônica fosse tratada como *P. r. oris* (clado B no nosso presente estudo) e as populações do Cerrado como *P. r. roberti* (com certa sobreposição com amostras do clado A no presente estudo). A localidade tipo de *P. roberti* é Araguari, em Minas Gerais, enquanto que a localidade tipo de *P. oris* é Igarapé-assu no Pará (clado B no presente estudo). Os exemplares de Alta Floresta (MT) ainda merecem investigação, e possivelmente se configuram como uma unidade taxonômica nova (aqui denominada *Proechimys* sp3).

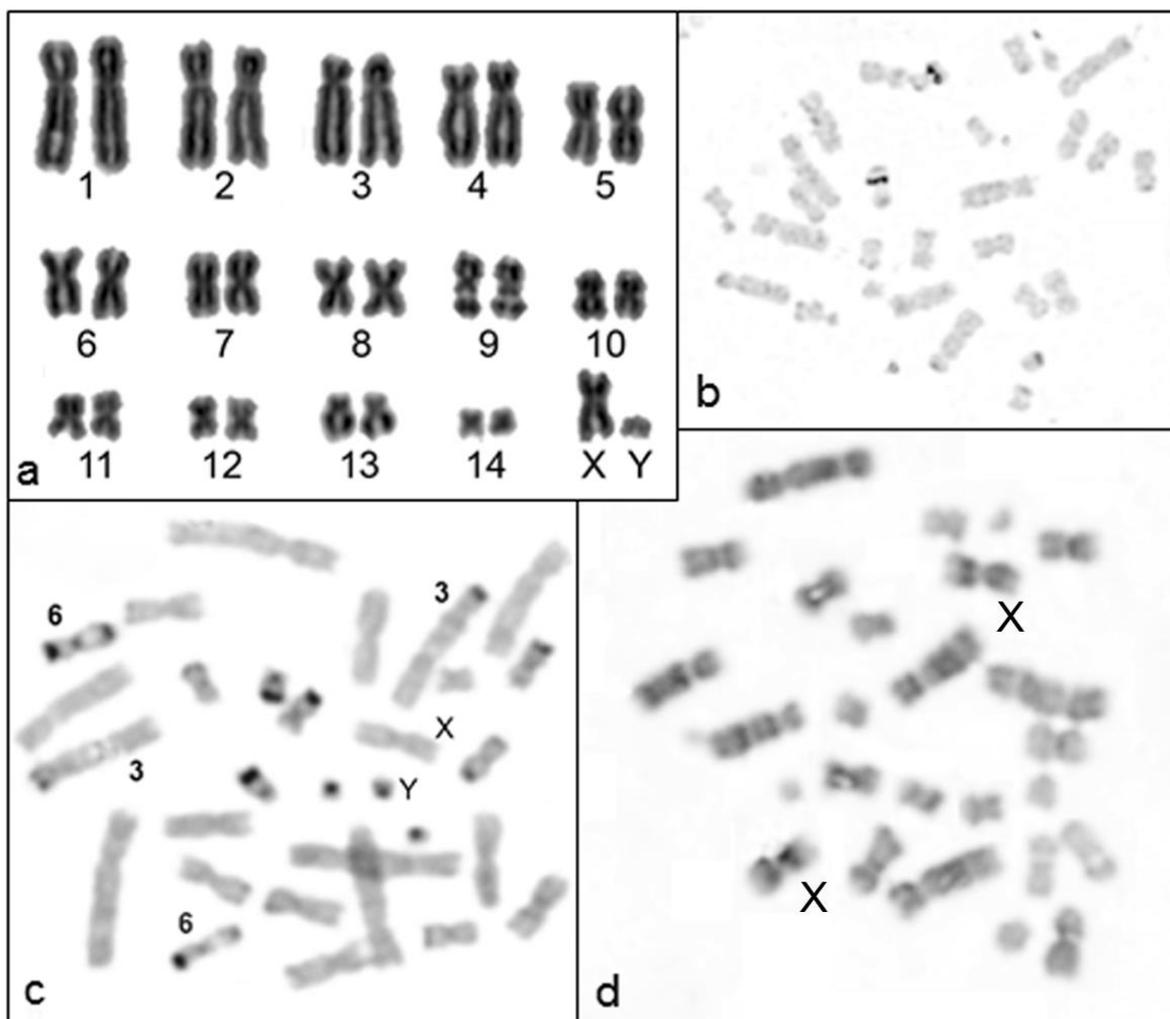


Figura 8. Cariótipo de *Proechimys roberti* com $2n=30/FN=56$, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b), bandamento C mostrando blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas dos pares de 7 a 10 (c), bandamento G (d).

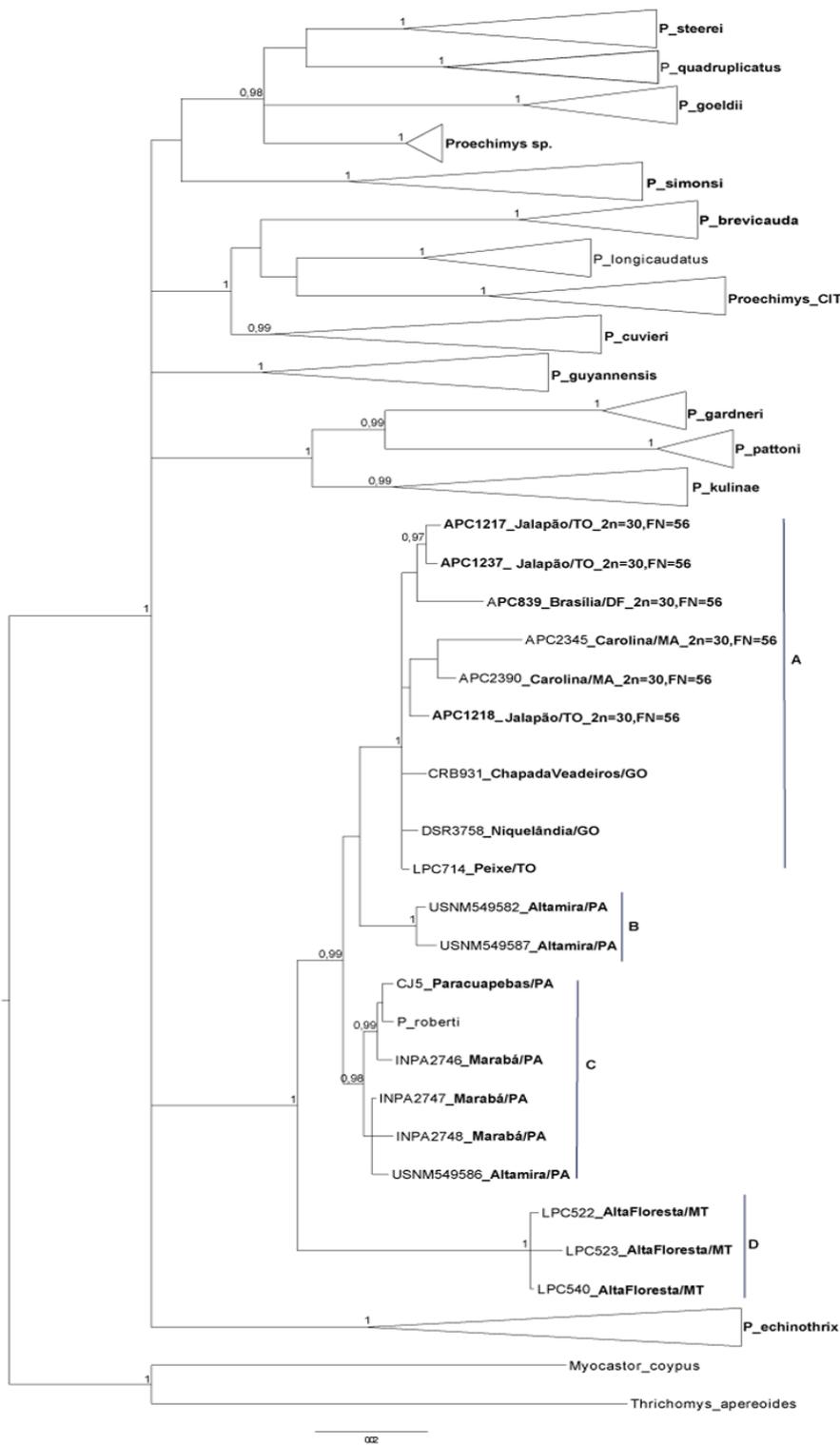


Figura 9. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, com destaque para os grupos de *P. roberti*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.

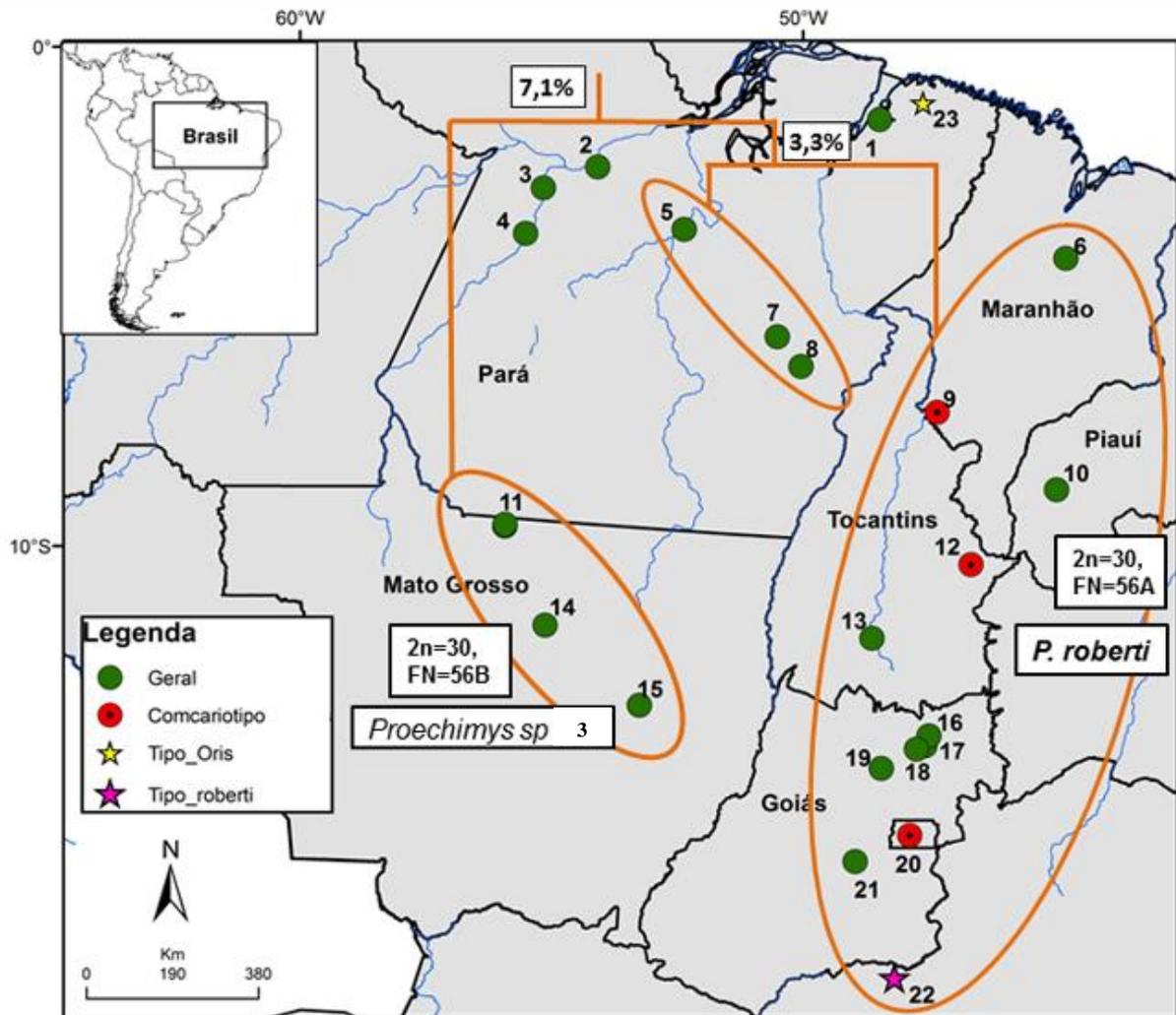


Figura 10. Mapa de distribuição dos espécimes identificados como *P. roberti* com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos. Em laranja uma representação da filogenia molecular, com a divergência genética entre *P. roberti* e *Proechimys* sp3. **Legenda das localidades:** **Brasília:** 20. Distrito Federal. **Goiás:** 16. Fazenda Fiandeira; 17. Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros; 18. Fazenda Fiandeiras, 65 km sudoeste Cavalcanti; 19. Niquelândia; 21. Anápolis. **Maranhão:** 6. Fazenda Lagoa Nova; 9. Carolina. **Mato Grosso:** 11. Reserva Ecológica Cristalino, 40 km norte Alta Floresta; 14. Cláudia; 15. Gaúcha do Norte. **Minas Gerais:** 22. Araguari. **Pará:** 1. Belém; 2. Curuá-Una; 3. Boim, Rio Tapajós; 4. Igarapé-Açu; 5. Leste do Rio Xingu, 52 km Altamira; 7. Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá; 8. Floresta Nacional de Carajás, Distrito de Sossego, Parauapebas; 52 km Sul-suldoeste Altamira. **Piauí:** 10. Estação Ecológica de Uruçuí-Una. **Tocantins:** 12. Jalapão; 13. Rio Santa Teresa, 20 km noroeste Peixe.

Proechimys guyannensis

Proechimys guyannensis é uma espécie endêmica da Amazônia, presente no leste da Guiana, sul da Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, e ao norte e leste do Rio Negro e norte do Rio Amazonas, no Brasil.

A amostra do presente estudo foi formada por três machos e duas fêmeas de Oriximiná (PA), apresentando $2n=46/FN=50$, composto por três pares autossômicos com dois braços (pares 20 a 22) e 19 cromossomos acrocêntricos. O cromossomo sexual do tipo X é acrocêntrico médio (Am) e o Y é acrocêntrico pequeno (Figura 11a). A marcação pela Ag-RON ocorreu na região intersticial em um par, possivelmente de número 20 (Figura 11b).

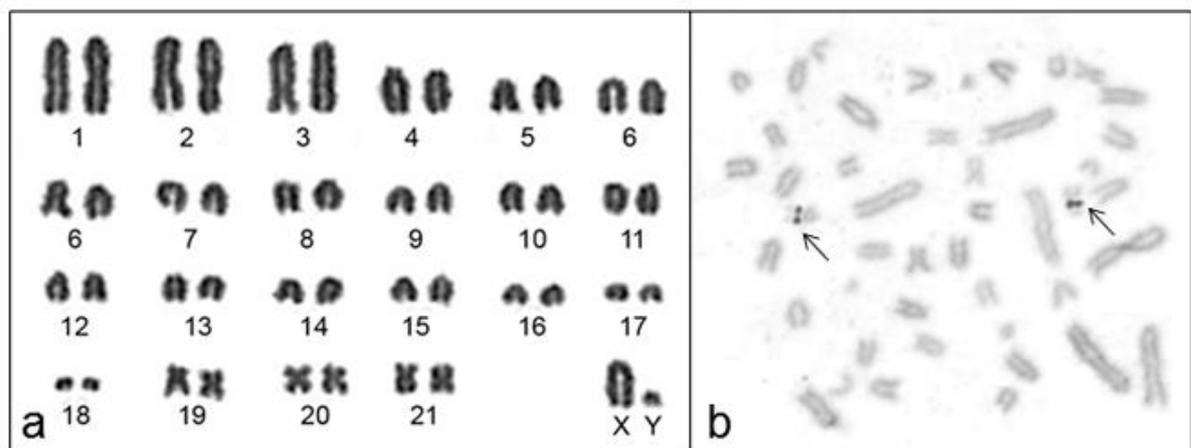


Figura 11. Cariótipo de *Proechimys guyannensis* com $2n=46/FN=50$, em coloração convencional (a), localização das Ag-RONs no par 8 (b) .

Os dados citogenéticos disponíveis na literatura (Anexo 2) mostram uma alta variação cariotípica associada à espécie com $2n=40/FN=50-52$ registrado no Amapá, Guiana Francesa e Venezuela, e $2n=46/FN=50$, nos estados do Amazonas, Roraima e Pará. Ainda existem as formas de $2n=38/52$ e $2n=44/52$, que estão associados a *Proechimys gr. guyannensis*. A análise comparativa dos cariótipos sugere que rearranjos complexos tenham ocorrido na diferenciação desses cariótipos a partir de um cariótipo ancestral para o grupo (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação citogenética par-a-par, e número mínimo de mudanças cromossômicas que diferenciam os cariótipos de *P. guyannensis*.

	2n=38 FN=52	2n=40 FN=50	2n=40 FN=52	2n=44 FN=52	2n=46 FN=50
2n=38 FN=52	-	-	-	-	-
	2IP				
2n=40 FN=50	2FI/FU IP do X	-	-	-	-
2n=40 FN=52	2FI/FU IP do X	2IP	-	-	-
2n=44 FN=52	6FI/FU	2IP 4FI/FU	4FI/FU	-	-
2n=46 FN=50	8IP 8FI/FU	6FI/FU	3IP 2FI/FU	2IP	-

IP= Inversão pericêntrica, FI/FU= Fissão/Fusão cêntrica, X= Cromossomo sexual X. Valores seguidos por letras: número de pares que sofreram mutações.

A filogenia gerada no presente estudo (Figura 12) mostrou a organização de três subgrupos com alto suporte, identificados como A, B e C, sendo o cariótipo do presente estudo associado ao clado A.

A divergência genética (Anexo 8) entre os subclados A1 (representado por exemplares de Pará) e A2 (com exemplares de Roraima e Manaus) foi de 2,57%. Os representantes do clado B (Guiana Francesa) divergiram do clado A por 2,45% e do clado C (Norte da Amazônia e Venezuela) por 5,22%. O subgrupo C foi o que apresentou a maior divergência genética, quando comparado aos demais grupos, chegando a 5,80% em relação A2.

Ao se tentar fazer a associação das variantes cariotípicas com os cladogramas filogenéticos obtidos no presente estudo, apenas associando-se pelas localidades geográficas, verificamos que 2n=40/FN=50-52, registrado no Amapá, Guiana Francesa e Venezuela, poderiam ser associados ao clado B.

O cariótipo 2n=46/FN=50, nos estados do Amazonas, Roraima e Pará está associado ao clado A.

Representantes do clado C podem estar associados ao cariótipo 2n=38/52 (de localidades de Santa Isabel e Barcelos, AM), próximo das localidades do Pico da Neblina (Figura 12). Esse clado acumula, além de muitas variações cariotípicas, envolvendo seis a oito eventos de fusão e/ou inversão, a maior divergência com os demais cladogramas.

O cariótipo com 2n=44/FN=52 de Manaus que foi associado a *Proechimys gr. guyannensis*, e merecem uma atenção mais detalhada.

Embora a divergência genética entre os clados seja baixa, equivalente, em *Proechimys*, a divergência intraespecífica, a variação cariotípica é marcante, e o número de eventos que distinguem os cariótipos podem representar uma barreira efetiva ao intercruzamento entre indivíduos com cariótipos distintos. Além disso, há uma estruturação geográfica forte entre os clados e a distribuição dos cariótipos.

A localidade tipo de *P. guyannensis* é Cayenne, na Guiana Francesa, assim, podemos afirmar que o clado B do presente estudo deve se referir a *P. guyannensis*. Porém, como a associação dos cariótipos ao clados (exceto clado A) foi uma especulação, e não há uma resolução basal da árvore, é necessário muita ressalva com relação ao grupo. Considerando o número baixo de exemplares coletados, analisados molecularmente e cariotipados, esforços adicionais são necessários, pois esse táxon parece representar um grupo de espécies ainda escondidas, cujos marcadores podem ser o cariótipo.

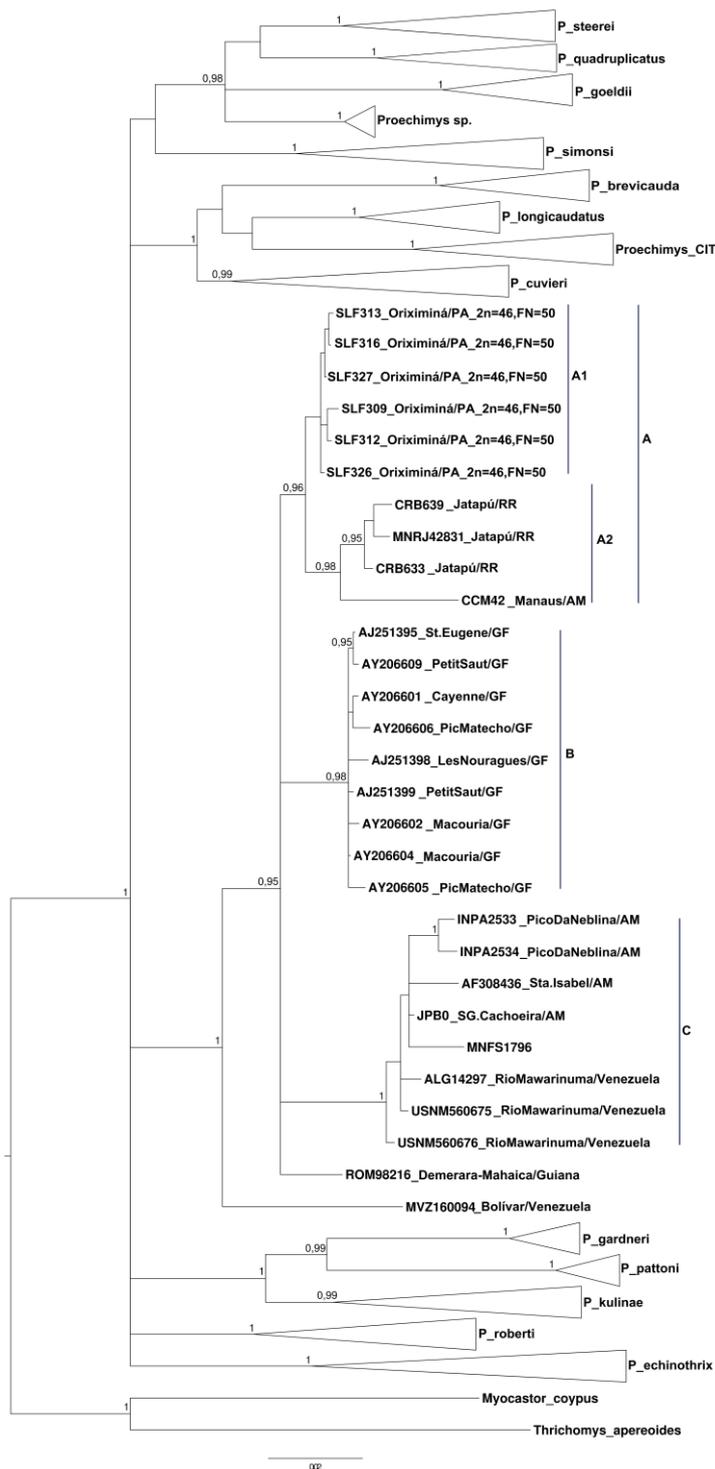


Figura 12. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, com destaque para os grupos de *P. guyannensis*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.

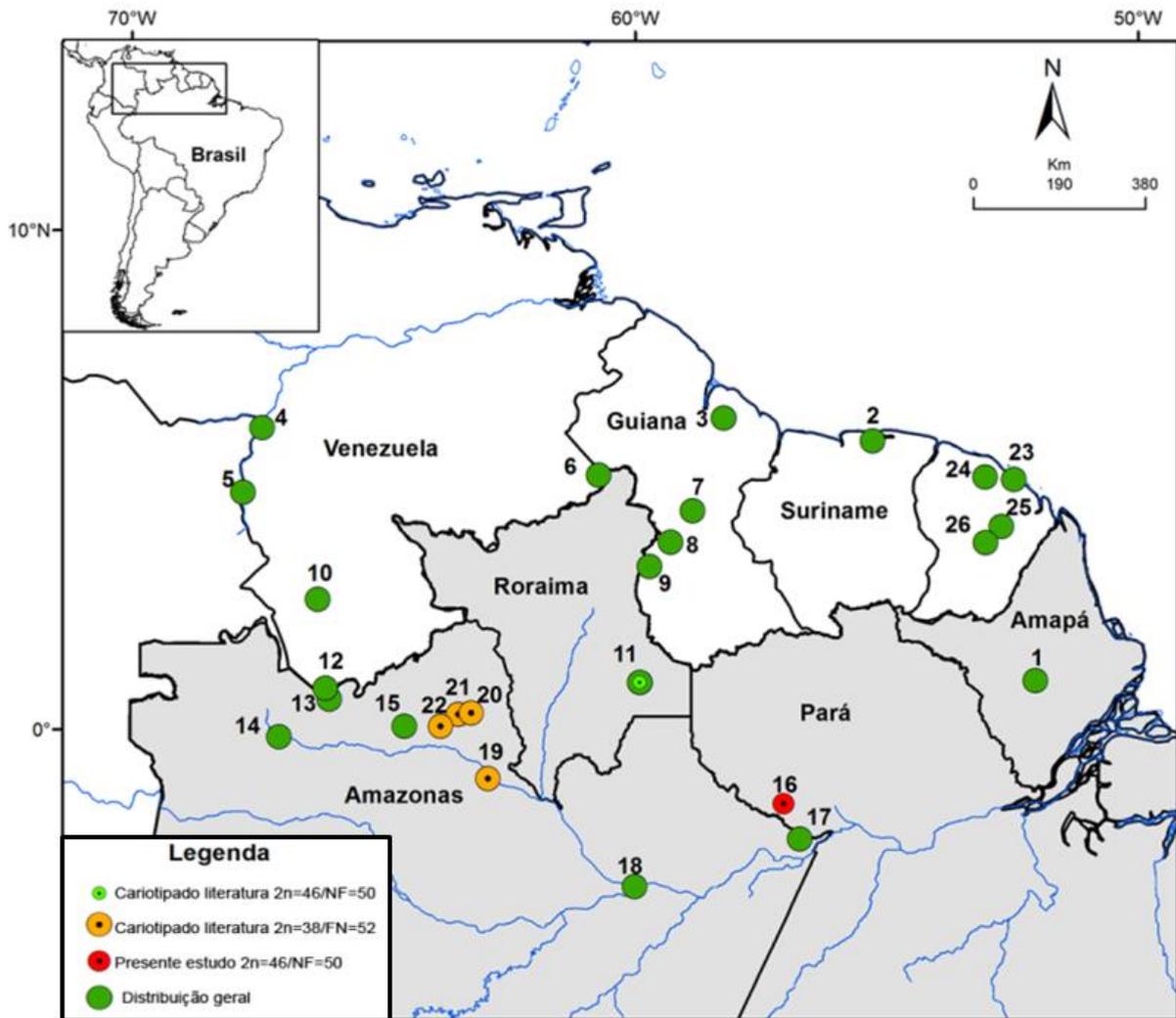


Figura 13. Mapa de distribuição dos espécimes identificados como *P. guyannensis* com destaque às localidades associadas à cariótipos específicos. **Legenda das localidades:** **Brasil – Amapá:** 1. Serra do Navio. **Amazonas:** 19. Barcelos; Estrada Piçarreira, margem direita rio Cauaburi, 13. Parque Nacional do Pico da Neblina; 14. São Gabriel da Cachoeira; 17. Faro; 18. Manaus; 21. Rio Paduari, Igarapé Ucuqui, Santa Isabel; 15. Rio Preto, Igarapé Araújo, Santa Isabel; 20. Rio Paduari, Igarapé Acuquiaia, Santa Isabel; 22. Igarapé Araújo, Santa Isabel. **Pará:** 16. Oriximiná. **Roraima:** 11. São João da Baliza, Usina Hidrelétrica Alto Jatapú. **Venezuela:** 10. Capibara, 106 km Sudoeste Esmeralda 5. Monduapo, Amazonas; 12. Acampamento Cerro Neblina, Amazonas; 4. Ponzón, 50 km Nordeste Puerto Ayacucho, Amazonas; 6. Arabupu, Bolívar. **Guiana:** 3. Loo Creek, 68 km sul Georgetown, Demerara-Mahaica; 7. 40 km Surama, Potaro-Siparuni; 9. Rio Kuma, Kanuku 8. Karanambo, Rio Rupununi. **Guiana Francesa:** 23. Macouria; 24. Petit Saut; 25. Nouragues; 26. Pic Matecho; 27. Caiena. **Suriname:** 2. Santo Boma Locks, cerca de 12 km Sudoeste de Paramaribo, Wanica.

Proechimys steerei

Proechimys steerei é conhecido do leste e sul do Peru, Sul do Rio Marañón-Río Amazonas, noroeste da Bolívia e oeste do Brasil, sul do Rio Solimões e norte do Rio Solimões.

Para essa espécie são conhecidas quatro formas cariotípicas distintas com $2n=24$ e $FN=40-42, 44$. As formas $FN=40-42$ ocorrem no Amazonas e Acre. O cariótipo com $FN=42$ tem o par 3 homomórfico acrocêntrico médio, a forma $FN=41$ tem o par 3 heteromórfico, formado por um acrocêntrico e um submetacêntrico médios, e a forma $FN=42$ com par 3 homomórfico submetacêntrico médio (Patton et al. 2000), sugerindo um rearranjo do tipo inversão pericêntrica nesse par, e uma variação intraespecífica.

A partir dos cariótipos descritos em Patton et al. (2000), foi possível associá-los a filogenia molecular gerada no presente estudo. Dessa maneira, (Figura 14), observa-se que os exemplares cariotipados com $FN=40-42$ distribuíram-se no clado A, sem qualquer estruturação geográfica ou filogenética. Observa-se que não há um padrão preferencial de distribuição dos citótipos com a variação de FN em grupos monofiléticos definidos, essa variação está dispersa ao longo dos cladogramas formados dentro da filogenia. O valor de divergência genética intraespecífica (Anexo 9) foi de 3,19%, indicando que as sequências apresentam baixa divergência. Dessa maneira, pode-se considerar que a variação do FN dentro de *P. steerei* ($FN=40, 41, 42$) se trata de um polimorfismo cromossômico.

Os exemplares da localidade de Ucayali, Peru (identificados como *P. cf. steerei* por Aniskin et al, 1991) apresentam $FN=44$ e assim seriam necessários rearranjos envolvendo 2-4 inversões pericêntricas entre as formas $FN=40-42$. Devido a esses exemplares apresentarem poucas rearranjos cromossômicos em relação aos demais citótipos descritos para a espécie e por estarem na área de distribuição geográfica de *P. steerei*, é provável pertençam a espécie citada.

Um exemplar com $2n=24/42$ de Ucayali, Peru (Reig e Useche, 1976) se distinguiu na forma do cromossomo X que nesse caso foi submetacêntrico grande, ao invés do padrão encontrado que é de um acrocêntrico médio. Nesse caso, não é possível confirmar se a variação no par sexual é verdadeira ou uma distinção no modo de interpretação dos cariótipos dada a compactação dos cromossomos.

Diversos estudos demonstram a complexidade em definir os limites das espécies e os geográficos em *Proechimys* (Patton e Gardner 1972; Reig e Useche, 1976; Bonvicino et al., 2005; Patton et al., 2000).

No presente estudo, foram fornecidos novos dados sobre *Proechimys* em um contexto multidisciplinar cariotípico e molecular que podem ser úteis no esclarecimento sobre a diversificação evolutiva desse gênero de roedor tão complexo.

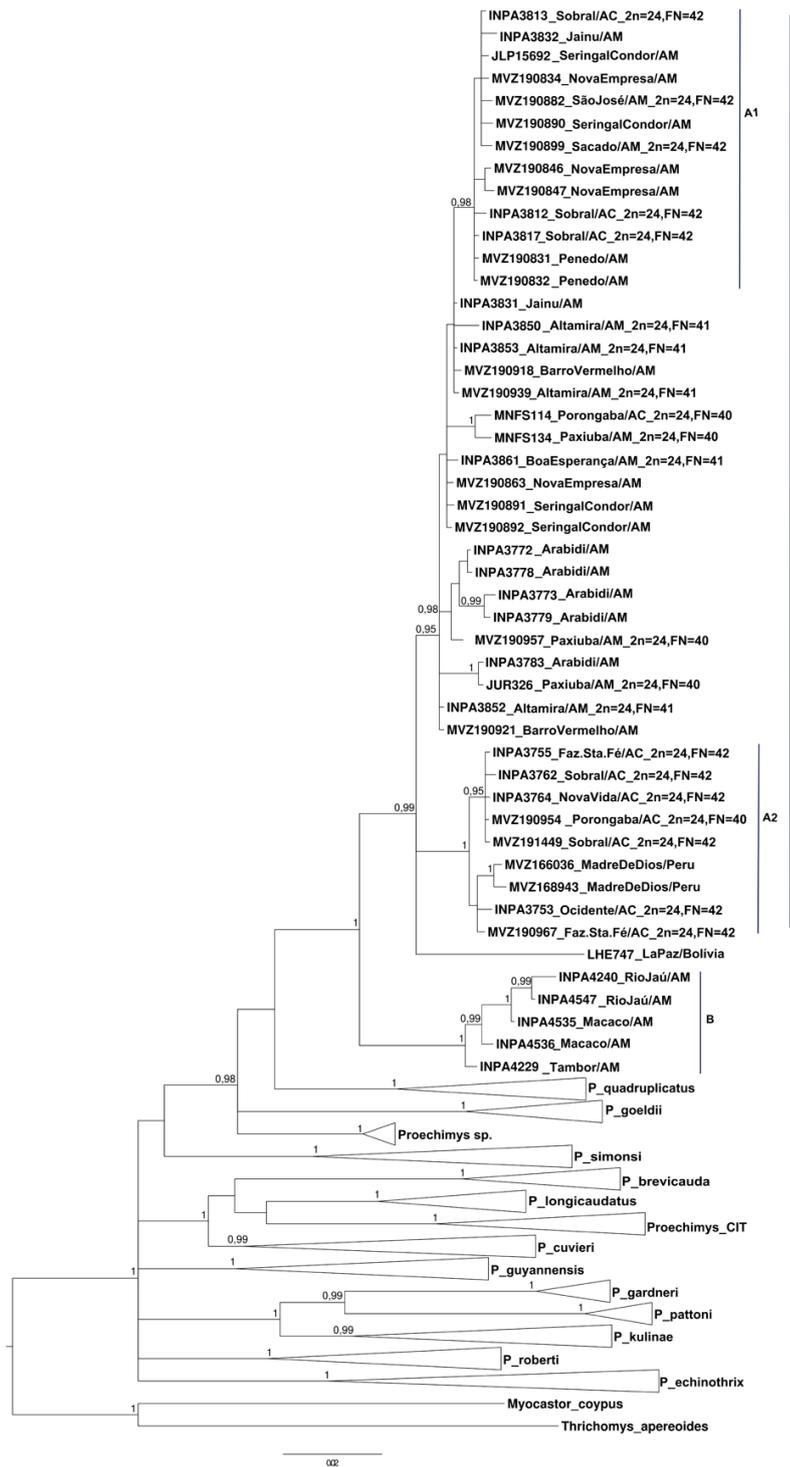


Figura 14. Árvore de inferência Bayesiana de espécies de *Proechimys*, com destaque para os grupos de *P. steerei*, construída com sequências do gene mitocondrial citocromo b (Cytb) e do éxon 28 do gene nuclear do fator de von Willebrand (vWF). Números acima dos ramos indicam a probabilidade posterior Bayesiana (PPB) $\geq 0,95$. Cada exemplar está identificado pelo seu número de coletor ou código do Genbank e associado à sua localidade. Os cariótipos, quando descritos, estão associados ao exemplar.

Referências

Aguilera M, Reig OA e Perez-Zapata A (1995) G- and C-banding karyotypes of spiny rats (*Proechimys*) of. *Rev Chil Hist Nat* 68:185–196.

Aguilera M, OA Reig MA Barros e MG Basañez (1979) Sistemática, citogenética y datos reproductivos de una población venezolana de *Proechimys canicollis* (Allen, 1899) (Rodentia: Echimyidae). *Acta Científica Venezolana* 30: 408-417.

Amaral PJS, Nagamachi CY, Noronha RCR, Costa MJR, Pereira AL, Rossi R V, Mendes-Oliveira AC e Pieczarka JC (2013) *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae): characterization and taxonomic considerations of a form with a very low diploid number and a multiple sex chromosome system. *BMC Genet* 14:21. doi: 10.1186/1471-2156-14-21.

Amorim APS, Oliveira TG, Carvalho Neta AV e Tchaicka L (2013) Chromosomal Characterization of *Proechimys* from Maranhão and Tocantins. In: Congresso Brasileiro de Genética, Águas de Lindóia.

Aniskin VM (1993) Three new karyotypes of prickly chinchillas of the Family Echimyidae (Rodentia). *Genetika* 29:1500-1507.

Aniskin VM, Malygin AA, Warshavski e Isaev SI (1991) Karyological interrelations of three chromosomal forms of *Proechimys*. *Genetika* 1066–1075.

Barros RMS (1978) Variabilidade cromossômica em *Proechimys* e *Oryzomys* (Rodentia) da Amazônia. Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Bonvicino CR, Otazú IB e Vilela JF (2005) Karyologic and Molecular Analysis of *Proechimys* Allen, 1899 (Rodentia, Echimyidae) From the Amazonian Region. *Arq do Mus Nac Rio Janeiro* 63:191–200.

Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY e Burke T (1992) Single-locus and DNA fingerprinting. *Molecular Genetic Analyses of Populations: a Practical Approach* (ed. by AR Hoelzel), pp. 225–269. IRL Press, Oxford.

Bueno ML, Gomez-laverde M e Morales A (1989) Caracterización Carlotológica De *Proechimys sp.* (Rodentia: Echimyidae) de una colonia experimental. *Biomedica* 9:13–22.

- Bueno ML e Gomez-laverde M (1993) Variacion Heterocromatica En *Proechimys semispinosus* (Rodentia: Echimyidae) De La Region Pacifica Colombiana. *Caldasia* 17: 333-340.
- Carvalho GAS e Salles LO (2004) Relationships among extant and fossil echimyids (Rodentia: Hystricognathi): *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 142, p. 445–477. doi:10.1111/j.1096-3642.2004.00150.x.
- Darriba DT, Tobada GL e Doallo RPD (2012) JModelTest 2 More Models, New Heuristics and Parallel Computing. *Nat. Methods* 9, 772.
- da Silva MNF (1998) Four new species of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from the western Amazon of Brazil. *Proc Biol Soc Washingt* 111:436–471.
- Eler ES, Silva MNF, Silva CEF e Feldberg E (2012) Comparative cytogenetics of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) from the Amazon region. *Genet Mol Res* 11:830–846. doi: 10.4238/2012.April.3.5.
- Ellerman JR (1940) The families and genera of living rodents II. Family Muridae. London, British Museum Natural History, 690pp.
- Fagundes V (1993) Análises cromossômicas e dos complexos sinaptonêmicos de roedores brasileiros das famílias Cricetidae e Echimyidae. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.
- Gardner AL e Emmons L (1984) Species Groups in *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) as Indicated by Karyology and Bullar morphology. *J Mammal* 65:10–25.
- George W e Weir BJ (1973) A note on the Karyotype of *Proechimys guairae* (Rodentia: Hystricomorpha). *Mammalia* 37:
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W e Gascuel O (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59(3):307-21.
- Howell WM e Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1- step method. *Experientia* 36:1014-1015.

- Huchon D, Catzelis FM e Douzery EJP (1999) Molecular evolution of the nuclear von Willebrand factor gene in mammals and the phylogeny of rodents. *Mol. Biol. Evol.* 16, 577-589
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Kumar S, Stecher G e Tamura K (2015) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*.
- Lara MC e Patton JL (2000) Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zool J Linn Soc* 130:661-686. doi: 10.1006/zjls.2000.0240
- Lara MC, Patton JL e da Silva MNF (1996) The simultaneous diversification of South American echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Mol Phylogenet Evol* 5:403-413. doi: 10.1006/mpev.1996.0035
- Leal-Mesquita ER (1991) Estudos citogenéticos em 10 espécies de roedores brasileiros da família Echimyidae. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Lima J (2000) Diversidade cariológica de roedores de pequeno porte do estado do Tocantins, Brasil. Tese de Doutorado, São Paulo, Rio Claro.
- Machado T, Maria MJ, Leal-Mesquita ER, Carmignotto AP e Yonenaga-Yassuda Y (2005) Nine karyomorphs for spiny rats of the genus *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. *Genet Mol Biol* 28:682-692. doi: 10.1590/S1415-47572005000500007.
- Maia V e Langguth A (1993) Constitutive Heterochromatin polymorphism and NORs in *Proechimys cuvieri* Peter, 1978. *Brazilian Journal of Genetics*, 16: 145-154.
- Moojen J (1948) Speciation in the Brazilian spiny rats (genus *Proechimys*, family Echimyidae). University of Kansas Publications, Museum Natural History, 1, 303-401.

Patton JL e Leite RN (2015) Genus *Proechimys*. In: Patton JL, Pardiñas UFJ e D'Elía GD (Eds), Mammals of South America, Volume 2, Rodents, University of Chicago Press, Chicago , p. 950-989.

Patton JL e Gardner AL (1972) Notes on Systematics of *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae), with emphasis on Peruvian Forms. Occas Pap Museum Zool Louisiana State Univertisty 44:1–30.

Patton JL, Da Silva MNF e Malcolm JR (2000) Mammals of the Rio Juruá and the Evolutionary and Ecological Diversification of Amazonia. Bull Am Museum Nat Hist 244:1. doi: 10.1206/0003-0090(2000)244<0001:MOTRJA>2.0.CO;2

Pérez-Zapata A, Aguilera M e Reig OA (1992) An Allopatric karyomorph of the *Proechimys guairae* complex (Rodentia: Echimyidae) in eastern Venezuela. Interciencia 235–240.

Pereira DFP e Nagamachi CY (2013) Estudos Citogenéticos em *Proechimys* da Amazônia brasileira. Caderno de Resumos do Seminário de Iniciação Científica da UFPA.

Pessoa LM, Oliveira JA e Reis SF (1990) Quantitative cranial character variation in selected populations of the guyannensis-group of *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from Brazil. Zoo Anzeiger, 225: 396-400.

Quintana Sosa M, Páez JL e Jaramillo-García M (2008) Descripción cariotípica y primera evidencia cariológica de la presencia de *Proechimys canicollis* Allen (Rodentia, Echimyidae) em el Departamento de Sucre, Colombia. Revista Medicina 7:1.

Reig OA, Aguilera M, Barros MA e Useche M (1980) Chromosomal speciation in a Rassenkreis of Venezuelan spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). Genetica 52–53:291–312. doi: 10.1007/BF00121839

Reig OA, Tranier M e Barros MA (1979) Sur l'identification chromosomique de *Proechimys guyannensis* (E. Geoffroy, 1803) et de *Proechimys cuvieri* Petter, 1978 (Rodentia, Echimyidae). Mammalia 43:501–506. doi: 10.1515/mamm.1979.43.4.501.

Reig OA e Useche M (1976) Diversidad cariotipica y sistematica en poblaciones Venezolanas de *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae), com datos adicionales sobre poblaciones de Peru y Colombia. Acta Cient Venez 27:132-140.

Rodrigues da Costa MJ, Siqueira do Amaral PJ, Pieczarka JC, Sampaio MI, Rossi RV, Mendes-Oliveira AC, Rodrigues Noronha RC e Nagamachi CY (2016) Cryptic Species in *Proechimys goeldii* (Rodentia, Echimyidae) A Case of Molecular and Chromosomal Differentiation in Allopatric Populations. Cytogenet Genome 148:199-210

Rodrigues FHG, Silveira L, Jácomo ATA, Carmignotto AP, Bezerra AMR, Coelho DC, Garbognini H, Pagnozzi J e Hass A (2002) Composição e caracterização da fauna de mamíferos do Parque Nacional das Emas, Goias, Brasil. Rev Bras Zool 19:589–600. doi: 10.1590/S0101-81752002000200015

Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA e Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology, 61, 539–542.

Saranholi BH, Cristina RBF e Sousa JFL (2008) Karyologic Survey of Not Flying Small Mammals from Tocantins, Brazil. Estud Biol 30:91–97.

Seabright M (1971) A rapid technique for human chromosomes. Lancet 2:971-972.

Smith MF and Patton JL (1993) The diversification of Sout American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. Biol J Linn Soc 50:149–177.

Silva CEF, Eler ES, da Silva MNF e Feldberg E (2012) Karyological analysis of *Proechimys cuvieri* and *Proechimys guyannensis* (Rodentia, Echimyidae) from central Amazon. Genet Mol Biol 35:88–94. doi: 10.1590/S1415-47572012005000007.

Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochomatin. Experimental Cell Research 75:304-306.

Svartman, M (1989) Levantamento cariotípico de roedores da região do Distrito Federal Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Weksler M, Bonvicino CR, Otazu IB e Silva Júnior JS (2001) Status of *Proechimys roberti*

and *P. oris* (Rodentia: Echimyidae) from Eastern Amazonia and Central Brazil. *J Mammal* 82:109–122. doi: 10.1644/1545-1542.

Woods CA and CW Kilpatrick (2005) Infraorder Hystricognathi; p. 1538-1600 In D.E. Wilson and D.M. Reeder (eds.). *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference*. Third edition. Baltimore: Johns Hopkins University Press.

Xia X. (2013) DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 1720– 1728.

Anexo 1. Relação dos exemplares de *Proechimys* utilizados no presente estudo para análises citogenéticas.

Código	Sexo¹	2n²	FN³	Localidade⁴	Coordenadas	
<i>P. cuvieri</i>						
SLF223/ LGA2373	F	28	46	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S	57°03'O
SLF305/ LGA2388	F	28	46	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S	57°03'O
SLF328/ LGA2408	F	28	46	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S	57°03'O
SLF315/ LGA2397	F	28	46	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S	57°03'O
<i>P. longicaudatus</i>						
LPC462/ UFESCTA415/ LGA2420	M	28	50	Fazenda São Luis, 30 km norte Barra do Garças, Barra do Garças, MT	15°37'S	52°21'O
APC1085/ LGA734	F	28	50	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	15°15'S	56°50'O
APC1080/ LGA738	M	28	50	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	15°15'S	56°50'O
APC1095/ LGA755	F	28	50	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	15°15'S	56°50'O
APC1110/ LGA770	F	28	50	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	15°15'S	56°50'O
<i>P. roberti</i>						
APC1217/ LGA913	F	30	56	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	10°22'S	47°25'O
APC1218/ LGA914	F	30	56	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	10°22'S	47°25'O
APC1237/ LGA915	M	30	56	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	10°22'S	47°25'O
APC2333	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2336	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2337	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2338	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2344	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2345	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2352	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2353	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2357	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2358	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2359	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O
APC2364	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S	47°20'O

Anexo 1. Continuação.

Código	Sexo ¹	2n ²	FN ³	Localidade ⁴	Coordenadas
APC2365	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2373	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2374	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2375	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2379	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2380	M	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2384	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2378	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2383	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2382	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2381	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2390	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
APC2391	F	30	56	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	7°19'S 47°20'O
<i>P. guyannensis</i>					
SLF316/ LGA2398	M	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O
SLF309/ LGA2392	F	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O
SLF312/ LGA2395	M	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O
SLF326/ LGA2406	M	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O
SLF327/ LGA2407	F	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O
SLF313/ LGA2396	F	46	50	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	1°29'S 57°03'O

¹F=Fêmea; M=Macho. ²2n=número diplóide; ³FN=número fundamental. ⁴MA=Maranhão; MT=Mato Grosso; PA=Pará; TO=Tocantins.

Anexo 2. Compilação de todos os dados cariotípicos descritos para representantes de *Proechimys*.

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração *	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
14	16	2	4	Am	Ap	1, 2	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Jacarécanga-Flexal, PA	Barros, 1978 ¹
15	16	1+1un	4+2un	Am	-	1	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Barros, 1978 ¹
15	16	1+1un	4+2un	Am	-	1, 2, 3, 4, 5, 7	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Juruena, MT	Machado et al., 2005
15	16	1+1un	4+2un	Am	-	1	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Juruena, MT	Presente Estudo
16	16	1	6	Am	Ap	1, 2	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Barros, 1978 ¹
16	16	1	6	Am	-	2, 3, 4 7	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Cotriguaçu, MT	Amaral et al., 2013 ⁹
16	16	1	6	Am	-	2, 3, 4 7	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Querência, MT	Amaral et al., 2013 ⁹
16	16	1	6	Am	-	-	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Itaituba, PA,	Rodrigues da Costa et al., 2016 ⁹
16	16	1	6	Am	-	-	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ⁹
17	16	1un	6+2un	Am	Ap	2, 3, 7	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Querência, MT	Amaral et al., 2013 ⁹
17	16	1un	6+2un	Am	Ap	2, 3, 4 7	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Cotriguaçu, MT	Amaral et al., 2013 ⁹
17	16	1un	6+2un	Am	Ap	1	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Ribeirão Cascalheira, MT	Presente Estudo
17	16	1un	6+2un	Am	Ap	-	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Itaituba, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ⁹
17	16	1un	6+2un	Am	Ap	-	goeldii	<i>Proechimys sp.</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ⁹
24	42	10-Par3:Mm	1	Ap	Ami	1	goeldii	<i>P.goeldii</i>	Altamira, PA	Patton et al., 2000
24	42	10-Par3:Mm	1	SMg	-	4, 6, 7	goeldii	<i>P.goeldii</i>	Tailândia, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
24	42	10-Par3:Mm	1	SMg	-	4, 6, 7	goeldii	<i>P.goeldii</i>	Mocajuba, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰

Anexo 2. Continuação.

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
24	42	10-Par3:Mm	1	SMg	-	4, 6, 7	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Marabá, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
25	42	10-Par3:Mm	1+1b	SMg	Ap	-	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Mocajuba, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
25	42	10-Par3:Mm	1+1b	SMg	Ap	-	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Marabá, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
26	42	9-Par3:Mm	3	SMg	-	2, 3, 7	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Belterra, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
26	42	9-Par3:Mm	3	SMg	-	2, 3, 7	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Itaituba, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
26	42	9-Par3:Mm	3	SMg	-	2, 3, 7	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
26	42	9-Par3:Mm	3	SMg	Ap	1, 3	NA	<i>P. goeldii</i>	Itaituba, PA	Barros, 1978 ^{16,18}
27	42	9	3+1b	SMg	Ap	2, 3, 4, 6	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Belterra, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
27	42	9	3+1b	SMg	Ap	2, 3, 4, 6	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Itaituba, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
27	42	9	3+1b	SMg	Ap	2, 3, 4, 6	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Jacarécanga - Flexal, PA	Rodrigues da Costa et al., 2016 ¹⁰
27	42	9	3+1b	SMg	Ap	1, 2	goeldii	<i>P. goeldii</i>	Itaituba, PA	Barros, 1978 ^{16,18}
24	40	9	2-Par10:Am Par11:Ap	Am	Ap	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Macaco, AM	Patton et al., 2000
24	40	9	2-Par 10:Am Par11:Ap	Am	Ap	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Lago Vai-Quem-Quer, AM	Patton et al., 2000
24	41	9	2-Par10: 1unAm+ 1unSMm Par11:Ap	Am	Ap	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Sacado, AM	Patton et al., 2000 ¹¹
24	42	10-Par3:SMg	1	Am	Ap	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Nova Vida, AC	Patton et al., 2000
24	42	10-Par3:SMg	1	Am	-	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Balta, Peru	Patton e Gardner, 1972
24	42	-	-	-	-	-	goeldii	<i>P. steerei</i>	Pakitza, Peru	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
24	42	10	1	Am	-	1	goeldii	<i>P. steerei</i>	Pucallpa, Ucayali, Peru	Reig e Useche, 1976
24	44	11	-	Am	Ap	2, 3	goeldii	<i>P. cf. steerei</i>	Pucallpa, Ucayali, Peru	Aniskin et al., 1991 ²
24	44	11	-	Am	Ap	1	canicollis	<i>P. canicollis</i>	Rio Cachirí, Zulia, Peru	Aguilera et al., 1979
24	44	11-	-	Am	-	2	canicollis	<i>P. canicollis</i>	Rio Cachirí, Zulia, Peru	Aguilera et al., 1995
24	44	11	-	Am	-	-	canicollis	<i>P. canicollis</i>	Bonda, Magdalena, Colômbia	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
24	44	11		Am	Ap	1, 3	canicollis	<i>P. canicollis</i>	Colosó, Sucre, Colômbia	Quintana Sosa et al., 2008
26	44	10	2	Am	-	1	goeldii	<i>P. quadruplicatus</i>	La Esmeralda, Território Federal Amazonas, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
28	42	8	5	Am	Ap	1	goeldii	<i>P. quadruplicatus</i>	La Poza, Amazonas, Peru	Patton et al., 2000
28	42	8	5	Am	Ap	1, 3	goeldii	<i>P. quadruplicatus</i>	Santa Isabel, AM	Bonvicino et al., 2005
28	44	9	4	Am	sm	1	goeldii	<i>P. quadruplicatus</i>	Limoncocha, Napo, Equador	Gardner e Emmons, 1984 ³⁶
28	ND	-	-	-	-	-	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Mineiros, GO	Rodrigues et al., 2002
28	46	10	3-Par11:A Par12 e 13:a	Mm	m	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Lado direito do Rio Aripuanã, AM	Eler et al., 2012 ¹²
28	46	10	3-Par11:A Par12 e 13:a	Mm	m	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Lado esquerdo do Rio Aripuanã, AM	Eler et al., 2012 ¹²

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
28	46	10	3-Par11:A Par12 e 13:a	Mm	-	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Monte Dourado, PA	Eler et al., 2012 ²²
28	46	10	3-Par11:A Par12 e 13:a	Am	Ap	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Macaco, AM	Patton et al., 2000
28	46	10	3-Par11:A Par12 e 13:a	Am	Ap	1, 2, 4	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Presidente Figueiredo, AM	Maia e Langguth, 1993 ⁷
28	46	10	3-Par11:A Par 12 e 13:a	Am	Ap	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Presidente Figueiredo, AM	Silva et al., 2012 ²⁶
28	46	10	3-Par 11:A Par12 e 13:a	Am	-	1, 2, 4	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Oriximiná, PA	Presente Estudo
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Altamira, PA	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Penedo, AM	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Porongaba, AC	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Nova Vida, AC	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Ipixuna, AM	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Sobral, AC	Patton et al., 2000
28	48	11	2-Par12:Am Par13:a	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Barro Vermelho, AM	Patton et al., 2000
28	50	12	1-Par13:Am	Ap	Ami	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Nova Vida, AC	Patton et al., 2000
28	50	12	1-Par13:a	Ap	-	1	longicaudatus	<i>P. cuvieri</i>	Saul Cayenne, Guiana Francesa	Reig et al., 1979

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
28	48	-	-	-	-	-	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Tambopata, Madre de Dios, Peru	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
28	48	11	2-Par12 e Par13:Ap	Am	Ap	1	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Sobral, AC	Patton et al., 2000
28	50	12	1-Par13:Ap	Am	Ap	1,	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Tingo Maria, Huánuco, Peru	Patton e Gardner, 1972
28	50-51	12	1-Par13:Ap	Am	Ap	2, 3	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Pucallpa, Ucayali, Peru	Aniskin et al., 1991 ¹¹
30	48	10	4	Am	Ap	1	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Huampani, AM, Peru	Gardner e Emmons, 1984
30	48	10	4	Am	Ap	1	longicaudatus	<i>P. brevicauda</i>	Limoncocha, Napo, Equador	Gardner e Emmons, 1984
28	48	11-	2-Par3:Ag Par11:Ap	SMm	sm	2, 3	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Aripuanã, MT	Machado et al., 2005 ²⁰
28	48	11	2-Par3:Ag Par11:Ap	SMm	sm	2, 3	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Juruena, MT	Machado et al., 2005 ²⁰
28	50	11	2-Par3:Ag Par11:Ap	SMm	Ap	1, 2, 4	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Candeias do Jamari, RO	Machado et al., 2005 ²⁰
28	50	12-Par11:STm	1- Par3:A	SMm	Ap	1, 2	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Apiacás, MT	Machado et al., 2005 ¹⁴
28	50	12	1- Par13: Ap	Am	Ap	1, 2	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Mineiros, GO	Machado et al., 2005 ^{15,21}
28	50	12	1-Par11:Ap	Am	Ap	1, 4	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Barra do Garças, MT	Presente Estudo
28	50	12	1-Par11:Ap	Am	Ap	1, 4	longicaudatus	<i>P. longicaudatus</i>	Porto Estrela, MT	Presente Estudo
30	52	12	2- Par13:A Par14:Am	SMm	-	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. aff. longicaudatus</i>	Candeias do Jamari, RO	Leal-Mesquita, 1991 ²⁴
30	52	12	2- Par13:A Par14:Am	SMm	-	1, 2, 3, 4	longicaudatus	<i>P. aff. longicaudatus</i>	Candeias do Jamari, RO	Machado et al., 2005 ²⁴
30	50-54	ND	ND	ND	ND	ND	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Zona do Canal, Panamá	Gardner e Emmons, 1984

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
30	50-55	ND	ND	ND	ND	ND	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Buenaventura, Sabaletas, Colômbia	Gardner e Emmons, 1984
30	50-56	ND	ND	ND	ND	ND	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Esmeraldas, Majua, Equador	Gardner e Emmons, 1984
30	52	12	2-Par12 e 14: Ap	Am	-	1,	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	El Oro, Santa Rosa, Equador	Gardner e Emmons, 1984
30	54	13	1	Am	-	-	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Cariari, Província de Limón, Costa Rica	Patton e Gardner, 1972
30	56	14-Par4:SMp	-	Am	Ap	2	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Tumaco, Nariño, Colômbia	Bueno e Gómez-Laverde, 1993
30	56	14-Par4 SMp	-	Am	Ap	2	semispinosus	<i>P. semispinosus</i>	Quibdó, Chocó, Colômbia	Bueno e Gómez-Laverde, 1993
30	54	-	-	-	-	-	decumanus	<i>P. decumanus</i>	Tumbes Aguas Verdes, Peru	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
30	54	-	-	-	-	-	decumanus	<i>P. decumanus</i>	El Oro Santa Rosa, Equador	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
30	54	-	-	-	-	-	decumanus	<i>P. decumanus</i>	Chongon Guayas, Equador	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
30	56	14- Par13:STm Par14:Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Bacabal, MA	Weksler et al., 2001 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	São Sebastião, TO	Weksler et al., 2001 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Lajeado, TO	Weksler et al., 2001 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Primavera, PA	Weksler et al., 2001 ³

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
30	56	14-Par13:STm Par14:Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Cavalcante, GO	Weksler et al., 2001 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Jalapão, TO	Presente Estudo
30	56	14-Par13:STm Par14 Mp	-	SMg	Ap	1,	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Distrito Federal	Svartman, 1989 ⁴
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Lajeado, TO	Lima, 2000 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Porto Nacional, TO	Lima, 2000 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMg	-	-	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Ipueiras, TO	Saranholi et al., 2008 ^{3,27}
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1, 2, 3	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Jacaréanga-Flexal, PA	Barros, 1978 ¹⁷
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Carolina, MA	Presente Estudo
30	56	-	-	-	-	-	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Bacabal, MA	Amorim et al., 2013 ³
30	56	-	-	-	-	-	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Capinzal do Norte, MA	Amorim et al., 2013 ³
30	56	-	-	-	-	-	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Araguatins, TO	Amorim et al., 2013 ³
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Curuá-Una, PA	Gardner e Emmons, 1984 ⁵
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1, 2	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Uruçuí-Una, PI	Machado et al., 2005 ²⁸
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1, 2	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Paraná , TO	Machado et al., 2005 ²⁸
30	56	14-Par13:STm Par14: Mp	-	SMm	Ap	1, 2	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Peixe, TO	Machado et al., 2005 ²⁸
30	56	14-Par14:STp	-	STm	SMp	1	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Vila Rica, MT	Machado et al., 2005 ³⁰
30	56	14-Par13 e 14: STp	-	SMm	Ap	1	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Gáúcha do Norte, MT	Machado et al., 2005 ²⁹
30	56	14-Par13 e 14: STp	-	SMm	Ap	1	guyannensis	<i>P. roberti</i>	Cláudia, MT	Machado et al., 2005 ²⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
32	56	13	2	Am	Mp	1, 2, 3, 4, 6	trinitatis	<i>P. chrysaolus</i>	Departamento de Nariño, Tumaco, Colômbia	Bueno e Gómez-Laverde, 1989
32	57-58	14	1	Am	Ap	2, 3	-	<i>Proechimys sp.</i>	Pucallpa, Ucayali, Peru	Aniskin et al., 1991 ^{11,36}
32	58	14	1	Am	Ap	1	-	<i>Proechimys sp.</i>	Puerto Asís, Putumayo, Colômbia	Reig e Useche, 1976 ⁶
32	58	-	-	-	-	-	simonsi	<i>P. simonsi</i>	Limoncocha, Napo, Equador	Gardner e Emmons, 1984 ¹
32	58	-	-	-	-	-	simonsi	<i>P. simonsi</i>	La Merced – Satipo, Junin, Peru	Gardner e Emmons, 1984 ²⁷
32	58	14	1	Am	-	1	simonsi	<i>P. simonsi</i>	Tambopata, Madre de Dios, Peru	Patton e Gardner, 1972
32	58	14	1	Am	-	1	simonsi	<i>P. simonsi</i>	Purus, Ucayali, Peru	Patton e Gardner, 1972
32	58	14	1	Am	Ap	-	simonsi	<i>P. simonsi</i>	Rio Urucu, AM	Patton et al., 2000 ²⁷
32	58	14	1	Am	Ap	-	simonsi	<i>P. simonsi</i>	Rio Juruá, AM	Patton et al., 2000 ²⁷
32	60	15	-	a	Ap	-	echinothrix	<i>P. echinothrix</i>	Barro Vermelho, AM	Patton et al., 2000 ²⁷
32	60	15	-	a	Ap	-	echinothrix	<i>P. echinothrix</i>	Vira-Volta, AM	Patton et al., 2000 ²⁷
32	60	15	-	a	Ap	-	echinothrix	<i>P. echinothrix</i>	Lago Vai-Quem-Quer, AM	Patton et al., 2000 ²⁷
34	52	11	4	Mp	SMP	1	gardneri	<i>P. kulinae</i>	Ipixuna, AM	Da silva, 1998 Patton et al., 2000 ²⁷
34	56	12	4	Am	Ap	1, 2, 3	NA	<i>Proechimys sp.</i>	Loreto, Peru	Aniskin, 1993
38	52	8	10	STg	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P. gr. guyannensis</i>	Vale do Rio Jari, AM	Eler et al., 2012

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
38	52	8	10	STg	Ap	1, 3	guyannensis	<i>P. gr. guyannensis</i>	Barcelos, AM	Bonvicino et al., 2005
40	50	6	13	SMm	Ap	1, 2, 3, 7, 8	guyannensis	<i>P. guyannensis</i>	Rio Amapá Grande, AP	Pereira, 2013 ²⁷
40	52	7	12-Par8:Ag	STm	a _{min}	1	guyannensis	<i>P. guyannensis</i>	Saül, Cayenne, Guiana Francesa	Reig et al., 1979 ⁸
40	52	7	12-Par8:Ag	STm	-	1	guyannensis	<i>P. guyannensis</i>	Caicara del Orinoco Bolívar, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ²⁵
46	50	3	19	Am	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P.guyannensis</i>	Presidente Figueiredo, AM	Silva et al., 2012
46	50	3	19	Am	Ap	1	guyannensis	<i>P.guyannensis</i>	São João da Baliza, RR	Bonvicino et al., 2005
46	50	3	19	Am	Ap	1, 4	guyannensis	<i>P.guyannensis</i>	Oriximiná, PA	Presente estudo
44	52	5	16	STm	Ap	1, 2, 3, 4	guyannensis	<i>P. gr. guyannensis</i>	Manaus, AM	Machado et al., 2005 Leal-Mesquita, 1991
40	56	9	10	Am	Ap	1	gardneri	<i>P. pattoni</i>	Balta, Loreto, Peru	Patton e Gardner, 1972
40	56	9	10	Am	Ap	1	gardneri	<i>P. pattoni</i>	Sobral, AC	Da silva, 1998
40	56	-	-	-	-	-	gardneri	<i>P. pattoni</i>	Porongaba, AC	Patton et al., 2000 ²⁷
40	56	-	-	-	-	-	gardneri	<i>P. pattoni</i>	Sobral, AC	Patton et al., 2000 ²⁷
40	54	8	11-Par 9:Ap Par 11:Ag	Am	Ap	1, 2, 3, 4	gardneri	<i>P.gardneri</i>	Bela Vista, AM	Eler et al., 2012
40	56	9	10	Am	Ap	1	gardneri	<i>P.gardneri</i>	Altamira, AM	Da silva, 1998 Patton et al., 2000 ²⁷
40	56	9	10	Am	Ap	-	gardneri	<i>P.gardneri</i>	Flora, AC	Patton et al., 2000 ²⁷

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
48	68	11	12	Am	-	1	trinitatis	<i>P. mincae</i>	Minca, Magdalena, Colômbia	Gardner e Emmons, 1984
42	76	18	2	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Kásmera, Zulia, Peru	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Juan de Colón Tachira, Venezuela	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Providencia, Mérida, Venezuela	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Zea, Mérida, Venezuela	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Tendida, Tachira, Venezuela	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Umuquema, Tachira, Venezuela	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Rosario, Zulia, Peru	Aguilera et al., 1995
42	76	18	2	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Los Angeles del Tucuco, Zulia, Peru	Aguilera et al., 1995
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Bejuquero, Mérida, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Miquimboch, Trujillo, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Venado, Zulia, Peru	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Consejo, Zulia, Peru	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Caja Seca, Mérida, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Miquimboch, Trujillo, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Las Virtudes, Mérida, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Río Frio, Mérida, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
44	72	15	6	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Rio Frio Arriba, Mérida, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Aragua, Cata, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Bobare, Lara, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Sanare, Falcon, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹ Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Esteban, Carabobo, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹ Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Bahía de Cata Aragua, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹ Reig et al., 1980 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Ocumare de la Costa, Aragua, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Trilla, Cojedes, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹ Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Palma, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Las Rosas, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Maraquita, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Solano, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1,	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Tiara, Aragua, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Subida del Diablo Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Tierra Caliente, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Valle Hondo, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Sierra San Luis-Cabure, Falcon, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Sierra San Luis-Carrizalito, Falcon, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Urachiche, Yaracuy, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	72	14	8	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Uveral-Bobare, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
46	74	15	7	STm	Mp	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Ocumare de la Costa, Venezuela	George e Weir, 1973 ⁶
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Limón, Aragua, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Turiamo, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Pascua, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Manuare, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Morón, Carabobo, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Las Rosas, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Solano, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Subida del Diablo, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Horqueta, Miranda, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Antonio, Miranda, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Sabana, Vargas, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Dos Caminos, Guarico, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Pao, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Tierra Caliente, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
48	72	13	10	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Valle de Sertenejas, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
50	64	11	10	Am	Ap	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Apartaderos, Cojedes, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
50	64	11	10	Am	Ap	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Carlos, Cojedes, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
50	64	11	10	Am	Ap	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Píritu, Portuguesa, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
50	64	11	10	Am	Ap	1	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Turrén, Portuguesa, Venezuela	Reig e Useche, 1976 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Solano, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Hacienda La Coromoto, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Baul, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Charcoti, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Blanca, Cojedes, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Yaguara, Cojedes, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Palmero, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Tierra Caliente, Cojedes, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Valle Hondo, Cojedes, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Chaparro, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Veja, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	La Trinidad, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Ospino, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Payara, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Pablo, Portuguesa, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Jorge, Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
50	72	12	12	Am	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Nueva Florida, Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
50	72	12	12	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Turén, Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 ¹⁹ Aguilera et al., 1995 ¹⁹
52	72	11	14	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Cueva del Agua, Anzoatégui, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
52	72	11	14	Am	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Juan de Aero, Monagas, Venezuela	Aguilera et al., 1995 ¹⁹
52	74	12	13	Am	Ap	1, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	San Juan de Aero, Monagas, Venezuela	Pérez-Zapata et al., 1992 ³⁹
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Tierra Buena, Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Las Matas, Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Las Cocuizas, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Portuguesa, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Barinitas, , Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	El Rincón, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Guaquitas, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995
62	74	7	23	Mm	Ap	1, 2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Buena Vista, Venezuela	Reig et al., 1980 Aguilera et al., 1995

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares)		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
62	74	7	23	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. guairae</i>	Guanare, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	68	4	26	Mm	Ap	1	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Guaquitas, Barinas, Venezuela	Reig e Useche, 1976
62	80	10	20	Mm	Ap	1	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Caripe, , Venezuela	Reig e Useche, 1976
62	80	10	20	Mm	Ap	1	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Chaguaramas, Trindade e Tobago	Reig et al., 1979
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Cachipo, Monagas, Venezuela	Pérez-Zapata et al., 199227; Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Cumanacoa, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Cueva del Guacharo, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Guanaguana, Monagas, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	El Algarrobo, Sucre, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	El Pilar, Sucre, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Guaraunos, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	San Vicente, Venezuela	Aguilera et al., 1995
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Santa Maria de Cariaco, Venezuela	Aguilera et al., 1995

Anexo 2. Continuação

2N	FN	Quantidade e morfologia Autossomos (pares))		Morfologia Sexual		Coloração*	Grupo de Espécies Associado	Espécie Associado	Localidade	Referências
		M/Sm/St	A	X	Y					
62	80	10	20	Mm	Ap	2, 3	trinitatis	<i>P. trinitatis</i>	Turimiquire, Sucre, Venezuela	Aguilera et al., 1995

NA= Não associado. *Coloração: 1=coloração comum, 2= Bandeamento C; 3= Bandeamento G; 4=RON; 5=Bandeamento Q; 6 =FISH Ribossomal, 7= FISH Telomérica. ¹Autora denominou *Proechimys* sp.3. ²Os autores consideraram como cf. *steerei* mas não há registro de *P. steerei* com FN=44 e o citótipo apresentado é idêntico ao descrito para *P. canicollis*. ³Cariótipo reinterpretado: Os autores consideraram o último par como acrocêntrico mas é provável que seja um metacêntrico pequeno devido a compactação do par cromossômico, alterando o FN de 54 para 56. ⁴Cariótipo reinterpretado: a autora considerou o par 13 como acrocêntrico e par 14 como metacêntrico. Pela fotografia original o par 13 é subtelocêntrico. ⁵Cariótipo reinterpretado: Os autores consideraram o último par como subtelocêntrico mas é provável que seja um metacêntrico pequeno. Cromossomo Y definido como submetacêntrico pequeno mas a qualidade da fotografia deixa dúvidas e o mesmo pode ser um acrocêntrico pequeno. ⁶Os autores determinam apenas o 2n e descrevem as morfologias dos cromossomos. O cariótipo foi reinterpretado utilizando a fotografia original que não apresenta boa qualidade. Assim, foi considerado nesse trabalho os pares originais 5 e 13 como sendo de dois braços e há dúvidas quanto a morfologia do X que pode ser um acrocêntrico médio e o Y que pode ser um acrocêntrico pequeno. ⁷Cariograma reorganizado: Pares com um braço foram separados dos de dois braços e alocados para a posição final do cariograma. Antigo par 3 foi realocado para o par 11. ⁸Cariótipo reinterpretado: Os autores consideraram o par três como subtelocêntrico mas pela fotografia é acrocêntrico, alterando o FN de 54 para 52. O cariótipo foi reorganizado e os pares com um braço foram separados dos de dois braços, assim o antigo par 3 foi realocado para a posição 8. ⁹Cariótipo reinterpretado. Amaral considerou como Sistema Múltiplo de Determinação Sexual porém o par sexual é idêntico ao par 1 decrito por Barros (1978) e Machado et al. (2005). ¹⁰Cariótipo reinterpretado. Os autores proporam Sistema Múltiplo de Determinação Sexual mas a variação cariotípica pode ser devido a presença de cromossomo b como apresentado em Barros, 1978. ¹¹Variação cariotípica: presença de um par heteromórfico. ¹²Denominado Citótipo A. ¹³Denominado Citótipo B: difere do A pelo padrão de ; 4 e BC. ¹⁴Denominada Carioforma B. ¹⁵Denominada Carioforma C. ¹⁶Cariótipo idêntico ao descrito por Rodrigues da Costa et al. (2016). A variação cariotípica é explicada pela presença de cromossomos b. ¹⁷O autor identificou como *Proechimys* sp.1 e a associação a espécie foi realizada no presente estudo. ¹⁸A autora identificou como *Proechimys* sp.2 e a associação a espécie foi realizada no presente estudo. ¹⁹Os autores definiram o X como **STm** mas pela fotografia é um **Am**. ²⁰Denominada Carioforma A. Cariótipo reinterpretado: Os autores consideraram o par 11 como subtelocêntrico mas pela fotografia original é um acrocêntrico. ²¹Cariótipo reinterpretado: Os autores consideraram o par 11 como subtelocêntrico e 01 braço mas pela fotografia original é um acrocêntrico. Foi reorganizado e passou da posição 11 para 14. ²² Os autores associam o citótipo a *P. cuvieri* mas o mesmo é idêntico a *P. longicaudatus*. ²³ Os autores consideram o X como submetacêntrico médio mas pela fotografia original a morfologia é de um acrocêntrico médio. ²⁴Cariograma reorganizado: Pares com um braço foram separados dos de dois braços e alocados para a posição final do cariograma. Antigo par 3 foi realocado para a posição 13 e par 12 para posição 14. ²⁵Os autores determinam apenas o 2n e descrevem as morfologias dos cromossomos. O cariótipo foi reinterpretado utilizando a fotografia original que não apresenta boa qualidade. Assim, o par 11 que era considerado subtelocêntrico, pela reanálise passou a ser acrocêntrico. Cariograma reorganizado: Pares com um braço foram separados dos de dois braços e assim o par 3 acrocêntrico grande passou a ocupar a posição 8 e o par 8 subtelocêntrico grande passou a ocupar a posição 3. ²⁶Cariograma reorganizado: Pares com um braço foram separados dos de dois braços e alocados para a posição final do cariograma. Antigo par 3 foi realocado para a posição 11. ²⁷Somente citou o 2n e FN, sem fotografia. ²⁸Denominada Carioforma D. ²⁹Denominada Carioforma E. ³⁰Denominada Carioforma F. ³¹Figura do cariótipo com qualidade ruim. Os autores descreveram o cromossomo X como **STm**

mas pela morfologia pode ser **Am**.³²Figura do cariótipo com qualidade ruim. Os autores descreveram o cromossomo como **m** mas pode ser **a**.³³Figura do cariótipo com qualidade ruim. A descrição da morfologia dos cromossomos seguiu a proposta original dos autores.³⁴Os autores não apresentam a fotografia do cromossomo **Y**, impossibilitando a confirmação da morfologia do mesmo.³⁵Os autores associaram o cariótipo a *Proechimys* sp. Mas o citótipo descrito é idêntico a *P. simonsi*.³⁶Os autores não disponibilizam a imagem do cromossomo **Y**, gerando dúvidas quanto a morfologia do mesmo.

Anexo 3. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc=o cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys sp.</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys CIT</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyannensis</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,19	1,64	1,82	1,64	1,78	1,64	1,78	1,71	1,62	1,48	1,75	1,88	1,63	1,64	1,65	2,47	2,21
<i>P. quadruplicatus</i>	12,24	3,46	1,83	1,75	2,04	1,70	1,95	1,78	1,83	1,76	1,92	1,92	1,76	1,89	1,76	2,49	2,43
<i>P. goeldii</i>	13,97	13,69	3,99	1,78	1,73	1,63	2,14	1,68	1,85	1,60	2,01	2,26	1,79	1,90	1,44	2,49	2,51
<i>Proechimys sp1</i>	11,35	12,57	12,96	2,26	1,89	1,65	1,88	1,62	1,58	1,66	1,73	1,59	1,57	1,95	1,64	2,36	2,54
<i>P. simonsi</i>	13,83	16,88	13,35	14,69	4,27	1,58	2,18	1,78	1,74	1,66	2,03	2,21	1,82	1,82	1,81	2,72	2,31
<i>P. brevicauda</i>	12,38	13,43	12,40	11,65	11,91	2,30	1,68	1,49	1,51	1,58	1,93	1,89	1,84	1,78	1,74	2,44	2,37
<i>P. longicaudatus</i>	13,41	14,96	16,19	13,21	18,39	11,78	2,40	1,61	1,55	1,77	1,99	2,12	1,87	1,73	1,86	2,37	2,52
<i>Proechimys sp2</i>	12,66	13,74	12,44	11,13	14,53	10,54	11,00	3,21	1,34	1,71	1,86	1,75	1,75	1,67	1,61	2,10	2,56
<i>P. cuvieri</i>	13,25	15,03	14,77	11,65	15,35	11,54	11,53	9,95	5,57	1,62	1,80	1,80	1,72	1,61	1,59	2,23	2,19
<i>P. guyannensis</i>	10,70	12,91	11,90	11,05	12,79	11,77	12,53	11,81	12,54	3,57	1,82	1,98	1,50	1,64	1,44	2,32	2,16
<i>P. gardneri</i>	12,86	14,45	16,12	12,02	16,92	15,21	14,04	14,45	15,06	14,02	2,65	1,90	1,56	1,83	1,87	2,69	2,48
<i>P. pattoni</i>	14,72	13,79	18,00	10,71	18,72	14,95	16,76	13,27	14,83	14,72	13,31	1,39	1,74	2,01	1,88	2,43	2,40
<i>P. kulinae</i>	13,39	14,19	15,25	11,84	16,56	15,31	15,03	14,50	14,98	11,81	12,68	13,62	6,33	1,75	1,56	2,30	2,44
<i>P. roberti</i>	12,39	14,51	14,06	14,63	15,15	13,67	12,52	12,76	13,20	12,76	13,50	15,78	14,28	3,41	1,78	2,29	2,02
<i>P. echinothrix</i>	14,28	14,60	11,95	12,20	15,97	14,56	15,36	12,82	13,59	11,49	16,02	15,03	13,33	14,57	6,04	2,30	2,20
<i>Myocastor</i>	20,92	20,89	20,90	18,30	24,15	20,37	19,83	16,33	19,26	19,59	21,59	19,62	20,68	18,47	19,16	nc	2,56
<i>Thrichomys</i>	17,94	19,59	20,78	19,82	19,90	20,05	19,94	20,47	18,95	17,86	20,37	19,51	21,44	15,25	19,18	19,09	nc

Anexo 4. Relação de exemplares de *Proechimys* analisados nas análises filogenéticas no presente estudo, com respectivos dados citogenéticos (quando existentes), localidade e número de acesso no Genbank (quando disponíveis).

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
<i>P. cuvieri</i>					
28	46	SLF223/LGA2373	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	
28	46	SLF305/LGA2388	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
28	46	SLF315/LGA2397	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
28	46	SLF328/LGA2408	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
		INPA2529 ³	Comunidade Colina, São Gabriel da Cachoeira, AM		
		INPA2758 ³	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA		
28	48	INPA3461 ³ INPA3462 ³	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
28	48	INPA3476 ³ MVZ190693 ³	Seringal Condor, Rio Juruá, AM		
		JLP16783 ³ JLP16804 ³	Lago Meduiním, Rio Negro, AM		
		USNM549559 ³	Rio Xingu, Altamira, PA		
		MV970010 ³ MV970021 ³	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru		
		MV970034 ³	La Colmena, Quebrada La Colmena, Loreto, Peru		
		MV970070 ³ MV970080 ³	La Colmena, Quebrada La Colmena, Loreto, Peru		
		MVZ157874 ³	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru		
		MVZ160091 ³ MVZ160092 ³	Rio Cuyuni, Bolivar, Venezuela		
28	48	MVZ190683 ³ MVZ190684 ³	Penedo, Rio Juruá, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
28	48	MVZ190697 ³ MVZ190698 ³	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM		
		V849 ³ V872 ³	La Trinité Mountains, Guiana Francesa		
		V824	Saint Jean du Maroni, Guiana Francesa	AJ251400	
		V879	Les Nouragues, Guiana Francesa	AJ251402	
		V816 = MNHN1998-313	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251403	
		PCU2479	Pic Matecho, Guiana Francesa	AY206622	
		PCU2340	Baramita, Guiana Francesa	AY206623	
		PCU1561	Petit Saut, Guiana Francesa	AY206624	
		PCU2271	Nouragues, Guiana Francesa	AY206625	
		PCU2336	Baramita, Guiana Francesa	AY206626	
		PCU2475	Pic Matecho, Guiana Francesa	AY206627	
		PCU2484	Saul, Guiana Francesa	AY206628	
		PCU2519	Saul, Guiana Francesa	AY206629	
		PCU1750	Petit Saut Guiana Francesa	AY206630	
		PCU1757	St Jean, Guiana Francesa	AY206631	
		PCU1833	Trinité, Guiana Francesa	AY206632	
		PCU1856	Nouragues, Guiana Francesa	AY206633	

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
					KF590675
<i>P. brevicauda</i>					
		AMNH272700 ³ AMNH272698 ³ M13337 ³ M13338 ³	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru		
		INPA3440 ³ INPA3441 ³	Oposto ao Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
28	48	INPA3445 ³ INPA3446 ³ MVZ190671 ³ MFNS1458 ³	Sobral, Rio Juruá, AC		
28	48	MFNS1044 ³ MFNS999 ³	Ocidente, Rio Juruá, AC		
		MV970001 ³ MV970004 ³ MV970006 ³ MV970091 ³ MV970092 ³ MV970093 ³	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru		
		MVZ155121 ³ MVZ155125 ³	Huampami, Río Cenepa, AM, Peru		
		MVZ157878 ³ MVZ157905 ³	La Poza, Río Santiago, AM, Peru		
28	48	MVZ190657 ³ MFNS1030 ³ MFNS1055 ³	Fazenda Santa Fé, Rio Juruá, AC		
28	48	MVZ190660 ³ INPA3421 ³ INPA3424 ³	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
28	48	MVZ190677 ³ MVZ190678 ³ MVZ190680 ³	Nova Vida, Rio Juruá, AC		
28	48	INPA3418 ³	Oposto ao Ocidente, Rio Juruá, AC		
<i>P. longicaudatus</i>					
28	48	CIT622 ² CIT623 ² CIT642 ²	Juruena, MT	PE	
28	48	CIT668 ² CIT680 ²	Aripuanã, MT	PE	
28	50	CIT440 ² CIT441 ² CIT448 ² CIT449 ²	Apiacás, MT	PE	

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
28	50	APC1079/LGA723 ¹	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	PE
28	50	APC1085/LGA734	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	
28	50	APC1080/LGA738	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	PE
28	50	APC1095/LGA755	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	PE
28	50	APC1110/LGA770	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	PE
		APC1114/LGA774	Estação Ecológica Serra das Araras, Porto Estrela, MT	PE	PE
		LHE1413 LHE1419	El Refugio, Río Paragua/Tavo, Santa Cruz, Bolívia		
		LPC462	Fazenda São Luis, Barra do Garças, MT	PE	
		TTS119 ³	Bolívia ⁴		
		MSB:Mamm:59654		HM544128	
		MSB:Mamm:59654		NC020657	
					KJ742619
<i>Proechimys sp.</i>					
17	16	UFESCTA1689/LPC742/ LGA2442	Fazenda Noirumbá, Ribeirão Cascalheira, MT	PE	PE
15	16	CIT648/MZUSP31924 ²	Juruena, MT	PE	

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
<i>P. goeldii</i>					
		INPA2760 ³	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA		
		LPC564 ³	Reserva Ecológica Cristalino, Alta Floresta, MT		
24	42	USNM549572 ³ USNM549573 ^{3,5}	Rio Xingu, Altamira, PA		
<i>P. steerei</i>					
24	42	INPA3753 ³ MVZ191448 ³	Oposto ao Ocidente, Rio Juruá, AC		
24	42	INPA3755 ³ MVZ190967 ³	Fazenda Santa Fé, Rio Juruá, AC		
		INPA3762 ³ INPA3812 ³ INPA3813 ³ INPA3817 ³			
24	42	MFNS1548 ³ MVZ191449 ³	Sobral, Rio Juruá, AC		
24	42	INPA3764 ³	Nova Vida, Rio Juruá, AC		
		INPA3772 ³ INPA3773 ³	Lago Três Unidos, Igarapé Arabidi, Rio Juruá, AM		
		INPA3778 ³ INPA3779 ³	Ilhazinha, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM		
		INPA3783 ³	Colocação Vira-Volta, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM		
		INPA3831 ³ INPA383 ³ 2	Jainu, Rio Juruá, AM		
24	41	INPA3850 ³ INPA3852 ³ INPA3853 ³ MVZ190939 ^{1,3}	Altamira, Rio Juruá, AM		
24	41	INPA3861 ³	Boa Esperança, Rio Juruá, AM		
		INPA4229 ³	Tambor, Rio Jaú, AM		
		INPA4240 ³ INPA4547 ³	Rio Jaú, AM		
		INPA4535 ³ INPA4536 ³	Macaco, Rio Jaú, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
		JLP15692 ³ MVZ190890 ³ MVZ190891 ³ MVZ190892 ³	Seringal Condor, Rio Juruá, AM		
24	40	JUR326 ³ MFNS134 ^{1,3} MVZ190957 ³	Ilha Paxiuba, Rio Juruá, AM		
		LHE747 ³	Prov. Iturraldi, Río Madidi, La Paz, Bolívia		
24	40	MFNS114 ^{3,5} MVZ190954 ³	Oposto ao Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
		MVZ166036 ³ MVZ168943 ³	Reserva Cusco Amazónico, Madre de Dios, Peru		
		MVZ190831 ³ MVZ190832 ³	Penedo, Rio Juruá, AM		
		MVZ190834 ³ MVZ190840 ³ MVZ190846 ³ MVZ190847 ³ MVZ190851 ³ MVZ190863 ³	Nova Empresa, Rio Juruá, AM		
24	42	MVZ190882 ³	São José, Rio Juruá, AM		
24	42	MVZ190899 ³	Sacado, Rio Juruá, AM		
		MVZ190918 ³ MVZ190921 ³	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM		
<i>P. quadruplicatus</i>					
		ALG14039 ³ ALG14040 ³	San Carlos de Río Negro, Isla Saramá, Amazonas, Venezuela		
		ALG14243 ³	Base de campo Neblina, Río Mawarinuma, Amazonas, Venezuela		
		CCM35 ³ CCM36 ³	Arquipélago Anavilhanas, Rio Negro, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
28	42	INPA4552 ³	Lago Meduiním, lado esquerdo do Rio Negro, AM		
		MV970098 ³ MV970099 ³ MV970101 ³ MV970102 ³ MV970104 ³ MV970117 ³ MV970122 ³	El Chino, Río Tahuayo, Loreto, Peru		
		MVZ157871 ³ MVZ157875 ³	La Poza, Río Santiago, Amazonas, Peru		
		ALG14040	Venezuela	U35413	
		CRB1483	Rio Padauri, Santa Isabel, AM	AF308435	
					AJ849313
<i>P. roberti</i>					
30	56	APC2345 APC2390	Carolina, Parque Nacional Chapada das Mesas, MA	PE	PE
30	56	APC1217/LGA913	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	PE	PE
30	56	APC1218/LGA914	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	PE	PE
30	56	APC1237/LGA915	Lagoa do Tocantins, Jalapão, TO	PE	PE
30	56	APC817/LGA548	Centro de Instrução de Adestramento de Brasília, Brasília, DF	PE	PE
30	56	APC839/LGA560	Centro de Instrução de Adestramento de Brasília, Brasília, DF	PE	PE
		CJ5 ³	Floresta Nacional de Carajás, Distrito de Sossego, Parauapebas, PA		
		CRB931 ³	Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, GO		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
		CRB963 ³	Fazenda Fiandeiras, Cavalcanti, GO		
		DSR3758 ³	Niquelândia, GO		
		INPA2746 ³ INPA2747 ³ INPA2748 ³	Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, Marabá, PA		
		LPC522 ³ LPC523 ³ LPC540 ³ LPC714 ³	Reserva Ecológica Cristalino, Alta Floresta, MT Rio Santa Teresa, Peixe, TO		
		USNM549582 ³ USNM549586 ³ USNM549587 ³	Lesta do Rio Xingu, Altamira, PA		
		CIT714	Vila Rica, MT	EU544666	
					AJ251139
<i>P. simonsi</i>					
		AMNH272677 ³ MUSM13339 ³ MUSM1334 ³ MUSM1334 ³ 5	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru		
		INPA3528 ³	Ilha Paxiuba, Rio Juruá, AM		
		INPA3560 ³ INPA3561 ³ INPA3574 ³	Ocidente, Rio Juruá, AC		
		INPA3607 ³ INPA3609 ³ INPA3622 ³ INPA3625 ³	Sobral, Rio Juruá, AC Nova Vida, Rio Juruá, AC		
		INPA3650 ³ MFNS1751 ³	Ilhazinha, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM		
		INPA3654 ³ INPA3655 ³ JUR270 ³ JUR271 ³	Colocação Vira-Volta, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM Lago Vai-Quem-Quer, Rio Juruá, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
		LHE1431 ³ LHE1432 ³ LHE1434 ³ LHE1435 ³ LHE1466 ³ LHE1468 ³ LHE1479 ³ LHE1488 ³	Tangoshiari, Cusco, Peru		
		LHE742 ³	Provincia Iturraldi, Río Madidi, La Paz, Bolívia		
		LHE813 ³ USNM579694 ³	Colpa de Guacamayo, Río Tambopata, Madre de Dios, Peru		
		LHE820 ³ LHE821 ³	Río Tavera, Fila Boca Guacamayo, Madre de Dios, Peru		
		MFNS1136 ³ MFNS1336 ³	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
		MFNS1377 ³	Oposto ao Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
		MFNS190 ³ MFNS192 ³	Alto Rio Urucu, AM		
		MV970035 ³ MV970038 ³ MV970047 ³	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru		
		MVZ157914 ³	La Poza, Río Santiago, AM, Peru		
		MVZ166803 ³ MVZ166805 ³	Aguas Calientes, Río Alto Madre de Dios, Madre de Dios, Peru		
		MVZ190709 ³ MVZ190710 ³	Penedo, Rio Juruá, AM		
		MVZ190753 ³ MVZ190754 ³	Seringal Condor, Rio Juruá, AM		
		MVZ190804 ³ MVZ190809 ³	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM		
		MVZ190814 ³ MVZ190817 ³	Altamira, Rio Juruá, AM		
		FMNH175264 ³		EU313249	
		FMNH175283 ³		EU313250	
		JLP11051 ³	Madre de Dios, Aguas Calientes, Peru	U35414	

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
					AJ849320
<i>P. kulinae</i>					
34	52	INPA2556 ^{3,5} JLP15541 ³ MFNS541 ³	Seringal Condor, Rio Juruá, AM		
34	52	INPA3515 ^{3,5} MVZ187193 ³	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM		
		AMNH272714 ³ MUSM13340 ³	Nuevo San Juan, Río Gálvez, Loreto, Peru		
		MV970015 ³ MV970016 ³ MV970028 ³ MV970031 ³	San Pedro, Río Blanco, Loreto, Peru		
		MV970059 ³ MV970078 ³ MV970079 ³	La Colmena, Quebrada La Colmena, Loreto, Peru		
<i>P. pattoni</i>					
		MFNS1166 ³ MFNS1200 ³ MVZ187194 ³ MVZ187193 ⁵ MVZ187199 ³	Igarapé Porongaba, Rio Juruá, AC		
		MVZ187197 ³	Sobral, Rio Juruá, AC		
<i>P. gardneri</i>					
40	56	INPA3504 ^{3,5} MVZ187206 ³ MVZ187209 ³	Altamira, Rio Juruá, AM		
		LHE834 ³	Centro, Abuna, Pando, Bolívia		
		LHE890 ³ LHE891 ³	Río Negro, Pando, Bolívia		
		MFNS121 ³ MFNS88 ³	Alto Rio Urucu, AM		
<i>P. echinothrix</i>					
		INPA2526 ³	Comunidade Colina, São Gabriel da Cachoeira, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
32	60	INPA2551 ^{3,5} MFNS740 ³	Barro Vermelho, Rio Juruá, AM		
32	60	INPA3482 ^{3,5} INPA3927 ^{3,5} MVZ187180 ³ MVZ187181 ³	Lago Vai-Quem-Quer, Rio Juruá, AM		
32	60	INPA3501 ^{3,5} INPA3502 ^{3,5} MVZ187183 ³	Colocação Vira-Volta, Rio Juruá, Igarapé Arabidi, AM		
		INPA4226 ³ INPA4227 ³	Tambor, Rio Jaú, AM		
		INPA4533 ³ INPA4534 ³	Macaco, Rio Jaú, AM		
		INPA4537 ³ INPA4538 ³	Lado direito do rio Jaú, AM		
		MFNS133 ³ MFNS191 ³	Alto Rio Urucu, AM		
<i>P. guyannensis</i>					
46	50	SLF309/LGA2392	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
46	50	SLF312/LGA2395	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
46	50	SLF313/LGA2396	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
46	50	SLF316/LGA2398	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
46	50	SLF326/LGA2406	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
46	50	SLF327/LGA2407	Platô Bacaba, Porto de Trombetas, Oriximiná, PA	PE	PE
		ALG14297 ³ USNM560675 ³ USNM560676 ³ USNM560678 ³	Río Mawarinuma, Amazonas, Venezuela		
		CCM42 ³	82 km Norte Manaus, AM		

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
		CRB633 ³ CRB639 ³ MNRJ42831 ³	São João da Baliza, Usina Hidrelétrica Alto Jatapú, RR		
		INPA2533 ³ INPA2534 ³	Estrada Piçarreira, Parque Nacional do Pico da Neblina, AM		
		JPB0 ³	São Gabriel da Cachoeira, AM		
		MFNS1796 ³			
		MVZ160094 ³	Santa Elena, Bolívar, Venezuela		
		ROM98216v	Loo Creek, Demerara-Mahaica, Guiana		
		CRB1487	Rio Padauri, Santa Isabel, AM	AF308436	
		MNHN-1994-128	St Eugene, Guiana Francesa	AJ251395	
		V-811	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251396	
		V-873	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251397	
		V-939	Les Nouragues, Guiana Francesa	AJ251398	
		V-815	Petit Saut, Guiana Francesa	AJ251399	
		PCA3292	Cayenne, Guiana Francesa	AY206600	
		PCA2656	Cayenne, Guiana Francesa	AY206601	
		PCA1990	Macouria, Guiana Francesa	AY206602	
		PCA2715	Cayenne, Guiana Francesa	AY206603	
		PCA1991	Macouria, Guiana Francesa	AY206604	
		PCA2476	Pic Matecho, Guiana Francesa	AY206605	

Anexo 4. Continuação

2N	FN	Código	Localidades Geográficas	Número de Acesso GenBank - CitB	Número de Acesso GenBank - vWF
		PCA2477	Pic Matecho, Guiana Francesa	AY206606	
		PCA1394	Petit Saut, Guiana Francesa	AY206607	
		PCA2725	Cayenne, Guiana Francesa	AY206608	
		PCA1762	Petit Saut, Guiana Francesa	AY206609	
		PCA1832	Petit Saut, Guiana Francesa	AY206610	
<i>Myocastor coypus</i>				EU544663	AJ251140
<i>Thrichomys apereoides</i>				EU544668	AJ849315

Legenda: PE: Presente Estudo. ¹Espécimes não cariotipados. ²Espécimes cariotipados por Machado et al. 2005. ³Sequências cedidas por J. Patton. ⁴Localidade com registro incompleto. ⁵Espécimes cariotipados. Siglas das Coleções/Código do Coletor: ALG: Alfred L. Gardner; AMNH: American Museum of Natural History, New York, USA; APC: Ana Paula Carmignotto; BIO/CIT: Y. Yonenaga-Yassuda; CRB: Cibele R. Bonvicino; LGA: Laboratório de Genética Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; INPA: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil; JLP: James L. Patton; JPB: Jean-Phillipe Boubi; JUR: Jay R. Malcolm; LHE: Louise H. Emmons; LPC: Leonora Pires Costa; MFNS: Maria Nazareth F. Da Silva; MNRJ: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; MUSM: Museo de Historia Natural, Universidad Mayor de San Marcos, Lima, Peru; MV: Michael Valqui; MVZ: Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley, EUA; ROM: Royal Ontario Museum, Toronto, Canada; SLF: S.L. Freitas; UFESCTA: Coleção de Tecidos e DNA, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; USNM: National Museum of Natural History (formerly The United States National Museum), Washington, D.C., USA.

Anexo 5. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, com destaque (em cinza) a *P. cuvieri* e subgrupos relacionados (A, A1, A2 A3, A4, A5, B e C) calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc=0 cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys spl.</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys sp2</i>	<i>P. cuvieri</i>	A	A1	A2	A3	A4	A5	B	C	<i>P. guyannensis</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,20	1,80	1,99	1,82	1,84	1,81	1,86	1,87	1,75	1,84	1,84	1,94	1,89	1,97	1,91	2,01	2,14	1,65	1,90	2,18	1,78	1,80	1,91	2,74	2,30
<i>P. quadruplicatus</i>	12,70	3,41	1,91	1,87	2,22	1,91	2,07	1,94	1,99	2,19	2,25	2,22	2,18	2,21	2,34	2,09	2,17	1,88	2,01	2,00	1,86	2,02	1,93	2,86	2,55
<i>P. goeldii</i>	14,58	14,10	4,08	1,84	1,83	1,85	2,26	1,85	1,93	2,08	2,12	2,11	2,14	2,19	2,05	2,11	2,24	1,71	2,22	2,36	1,85	1,94	1,55	2,70	2,72
<i>Proechimys spl</i>	11,89	13,08	12,85	2,23	2,05	1,71	1,91	1,72	1,65	1,79	1,82	1,90	1,81	1,90	1,88	1,90	2,04	1,73	1,82	1,68	1,64	2,04	1,69	2,46	2,73
<i>P. simonsi</i>	13,69	17,34	13,92	15,17	4,26	1,66	2,25	1,92	1,86	2,00	2,04	2,09	2,01	2,06	2,07	2,01	2,21	1,71	2,12	2,46	1,92	1,95	1,89	2,96	2,47
<i>P. brevicauda</i>	12,37	14,03	12,76	11,94	11,90	2,34	1,74	1,62	1,59	1,79	1,84	1,96	1,82	1,81	1,83	1,64	1,81	1,71	2,08	2,10	1,91	1,92	1,87	2,60	2,57
<i>P. longicaudatus</i>	13,25	15,42	16,77	13,71	18,14	11,74	2,37	1,64	1,56	1,66	1,71	1,78	1,70	1,66	1,81	1,89	2,04	1,78	1,92	2,29	1,84	1,78	1,92	2,57	2,60
<i>Proechimys sp2</i>	12,52	14,13	12,94	11,54	14,35	10,53	10,84	3,16	1,38	1,45	1,52	1,55	1,49	1,41	1,58	1,72	1,88	1,77	1,95	1,91	1,89	1,89	1,65	2,21	2,66
<i>P. cuvieri</i>	13,49	15,81	14,93	11,76	15,56	11,56	11,75	10,19	5,57	0,66	0,67	0,85	0,68	0,74	0,88	1,04	1,19	1,68	1,83	1,94	1,78	1,77	1,64	2,38	2,44
A	12,78	16,07	14,75	11,19	15,44	11,65	10,91	9,12	4,50	1,77	0,33	0,65	0,40	0,58	0,68	1,53	1,70	1,80	2,01	2,05	1,94	1,88	1,73	2,39	2,53
A1	12,49	16,06	14,71	10,99	15,38	11,59	10,92	9,14	4,22	1,31	0,70	0,72	0,47	0,73	0,75	1,58	1,76	1,84	2,00	2,09	1,94	1,92	1,75	2,40	2,55
A2	12,94	15,70	14,25	11,49	15,48	12,65	11,61	9,36	5,13	2,35	2,25	0,85	0,76	0,87	0,95	1,67	1,77	1,88	2,13	2,03	2,03	1,93	1,78	2,55	2,46
A3	13,09	15,95	15,01	11,08	15,52	11,70	10,70	9,19	4,39	1,57	1,26	2,53	0,73	0,71	0,79	1,56	1,72	1,82	2,10	2,10	1,99	1,89	1,83	2,41	2,63
A4	13,23	15,73	15,16	11,49	15,52	11,36	10,22	8,44	4,55	2,05	2,20	2,83	2,18	0,18	0,99	1,51	1,73	1,86	2,13	2,09	2,03	1,95	1,78	2,48	2,68
A5	13,00	17,43	14,26	11,66	15,42	11,55	11,86	10,06	5,59	2,78	2,66	3,70	2,85	3,97	0,27	1,73	1,79	1,92	2,16	2,17	2,13	2,05	1,81	2,57	2,62
B	14,24	15,25	15,11	12,64	15,66	10,81	12,84	11,56	6,49	8,86	8,70	9,63	8,86	8,29	10,16	1,13	0,77	1,90	2,00	2,22	1,84	2,05	1,87	2,79	2,70
C	15,68	15,50	15,62	13,59	16,87	12,25	14,16	13,22	7,59	10,36	10,35	10,78	10,24	10,04	10,84	3,00	0,71	2,11	2,10	2,23	1,96	2,10	1,96	2,81	2,77
<i>P. guyannensis</i>	11,01	13,35	12,22	11,38	13,29	12,03	12,98	12,22	12,69	12,25	12,14	12,06	12,27	12,33	12,91	13,24	14,82	3,44	1,97	2,14	1,64	1,77	1,56	2,52	2,36
<i>P. gardneri</i>	12,73	14,87	16,61	12,45	16,73	15,13	13,86	14,28	15,19	15,10	14,68	15,42	15,46	15,49	16,03	15,09	15,92	14,27	2,62	2,05	1,66	1,94	1,99	2,80	2,66
<i>P. pattoni</i>	15,26	14,28	17,81	10,55	19,19	15,22	17,25	13,66	14,89	14,39	14,38	13,81	14,57	14,30	15,01	15,74	15,90	15,13	13,74	1,37	1,80	2,16	1,93	2,61	2,69
<i>P. kulinae</i>	13,68	14,76	15,35	11,89	16,79	15,42	15,27	14,69	15,02	15,29	14,91	15,61	15,43	15,55	16,52	14,27	15,40	12,08	12,89	13,65	6,53	1,77	1,61	2,39	2,64
<i>P. roberti</i>	13,05	14,85	14,12	14,72	15,82	14,08	13,18	13,38	13,46	13,05	12,96	12,73	12,75	12,98	14,53	14,27	14,49	12,72	14,04	15,86	14,55	3,54	1,90	2,51	2,06
<i>P. echinothrix</i>	14,35	14,99	12,25	12,41	15,99	14,63	15,38	12,83	13,78	13,38	13,19	13,16	13,93	13,32	14,06	14,31	14,94	11,84	16,04	15,21	13,48	15,03	6,20	2,31	2,34
<i>Myocastor</i>	21,42	21,34	20,66	18,01	24,57	20,59	20,29	16,69	19,27	18,06	17,71	18,86	17,88	18,20	19,32	21,33	21,93	19,90	21,98	19,31	20,62	18,52	19,29	nc	2,67
<i>Thrichomys</i>	18,33	19,62	21,48	20,63	20,30	20,58	20,32	20,78	19,75	19,48	19,32	18,32	19,81	20,29	19,52	20,14	20,88	18,23	20,72	20,31	22,15	15,75	19,66	19,89	nc

Anexo 6. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, com destaque (em cinza) a *P. longicaudatus* e subgrupos relacionados (A1, A2 e *Proechimys* sp2), calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc=0 cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys sp1</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys sp2</i>	A1	A2	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyannensis</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,16	1,76	1,87	1,78	1,97	1,81	1,89	1,81	1,87	1,87	1,68	1,63	1,88	2,05	1,75	1,73	1,74	2,51	2,31
<i>P. quadruplicatus</i>	12,04	3,50	1,86	1,88	2,16	1,83	2,07	1,90	1,94	1,99	1,88	1,85	2,00	2,03	1,82	1,97	1,79	2,64	2,64
<i>P. goeldii</i>	14,04	13,42	3,89	1,91	1,71	1,66	2,16	1,85	1,90	1,93	1,81	1,60	2,20	2,39	1,85	1,94	1,47	2,57	2,57
<i>Proechimys sp1</i>	11,45	12,38	13,05	2,29	2,03	1,78	1,94	1,75	1,81	1,83	1,59	1,70	1,84	1,67	1,60	2,10	1,69	2,36	2,68
<i>P. simonsi</i>	13,94	16,71	13,41	14,84	4,26	1,66	2,36	1,95	1,92	2,11	1,80	1,70	2,20	2,41	1,99	1,97	1,85	2,86	2,43
<i>P. brevicauda</i>	12,42	13,38	12,39	11,70	11,94	2,24	1,75	1,63	1,61	1,78	1,54	1,69	2,03	2,14	1,96	1,88	1,87	2,56	2,55
<i>P. longicaudatus</i>	13,23	15,02	15,94	13,02	18,24	11,67	2,24	1,65	1,70	1,73	1,60	1,72	1,95	2,30	1,96	1,75	1,94	2,47	2,65
<i>Proechimys sp2</i>	12,69	13,49	12,43	11,17	14,58	10,50	10,75	3,13	0,52	0,63	1,31	1,66	1,91	1,87	1,81	1,76	1,64	2,12	2,63
A1	12,58	13,23	12,26	10,98	13,70	9,54	10,76	2,60	1,59	0,88	1,37	1,73	2,02	1,92	1,82	1,79	1,73	2,10	2,69
A2	12,82	13,81	12,65	11,42	15,68	11,70	10,73	3,02	4,24	1,98	1,39	1,72	1,94	1,96	1,92	1,88	1,66	2,29	2,71
<i>P. cuvieri</i>	13,27	14,98	14,75	11,68	15,39	11,55	11,41	9,88	9,53	10,32	5,49	1,59	1,89	1,87	1,79	1,70	1,62	2,33	2,33
<i>P. guyannensis</i>	10,80	12,71	11,97	11,19	12,92	11,83	12,33	11,86	11,89	11,82	12,58	3,62	1,83	2,02	1,49	1,69	1,43	2,30	2,37
<i>P. gardneri</i>	12,68	14,62	15,88	11,83	16,76	15,18	14,09	14,22	14,58	13,78	15,01	13,84	2,67	2,08	1,71	1,93	2,00	2,73	2,77
<i>P. pattoni</i>	14,55	13,96	17,76	10,50	18,57	14,91	16,85	13,02	12,62	13,51	14,78	14,54	13,48	1,41	1,82	2,16	1,95	2,63	2,61
<i>P. kulinae</i>	13,20	14,37	14,99	11,64	16,39	15,28	15,09	14,25	13,74	14,90	14,93	11,60	12,83	13,79	6,41	1,78	1,61	2,43	2,64
<i>P. roberti</i>	12,28	14,49	13,92	14,54	15,06	13,62	12,42	12,61	12,01	13,35	13,13	12,66	13,48	15,77	14,26	3,26	1,80	2,32	2,10
<i>P. echinothrix</i>	14,26	14,56	11,87	12,18	15,96	14,56	15,30	12,75	12,90	12,56	13,56	11,47	16,01	15,00	13,28	14,51	5,94	2,26	2,39
<i>Myocastor</i>	20,80	21,16	20,69	18,15	24,05	20,38	19,96	16,09	15,01	17,45	19,27	19,45	21,87	19,88	20,96	18,50	19,17	nc	2,57
<i>Thrichomys</i>	17,80	19,85	20,56	19,68	19,76	20,06	20,07	20,26	20,15	20,39	18,94	17,70	20,63	19,77	21,73	15,24	19,19	19,34	nc

Anexo 7. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, com destaque (em cinza) a *P. roberti* e subgrupos relacionados (A, B, C e D), calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc= o cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys sp1.</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys sp2</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyannensis</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	A	B	C	D	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,20	1,70	1,95	1,78	2,00	1,80	1,86	1,85	1,79	1,62	1,82	2,15	1,76	1,75	1,79	1,91	1,85	2,31	1,87	2,69	2,36
<i>P. quadruplicatus</i>	11,83	3,02	1,89	1,86	2,18	1,83	2,13	1,84	1,85	1,78	2,00	2,08	1,81	1,96	1,97	2,07	2,07	2,74	1,77	2,67	2,64
<i>P. goeldii</i>	14,06	13,40	4,08	1,91	1,81	1,78	2,31	1,85	1,85	1,57	2,32	2,37	1,92	1,99	2,15	2,10	1,98	2,35	1,54	2,68	2,77
<i>Proechimys sp1.</i>	11,71	12,23	13,36	2,40	2,12	1,83	2,11	1,82	1,68	1,64	1,78	1,79	1,60	2,00	2,07	2,14	2,06	2,69	1,77	2,53	2,81
<i>P. simonsi</i>	14,44	16,78	13,22	15,08	4,28	1,60	2,25	1,90	1,93	1,78	2,28	2,45	2,01	1,96	2,00	2,06	1,96	2,73	1,97	2,89	2,51
<i>P. brevicauda</i>	12,51	13,07	12,76	12,41	11,84	2,40	1,72	1,55	1,60	1,62	2,17	2,19	1,98	1,86	1,89	2,10	2,01	2,20	1,96	2,67	2,59
<i>P. longicaudatus</i>	12,81	14,57	17,04	13,67	17,81	11,97	2,11	1,61	1,67	1,80	2,07	2,42	2,03	1,88	1,98	1,97	1,89	2,49	2,01	2,80	2,75
<i>Proechimys sp2</i>	12,55	12,95	13,07	12,06	14,33	11,07	10,90	3,18	1,48	1,73	2,07	2,00	1,90	1,78	1,92	1,99	1,85	2,13	1,71	2,27	2,54
<i>P. cuvieri</i>	13,64	14,92	15,03	12,14	15,69	12,11	11,84	10,53	5,56	1,57	2,02	2,02	1,83	1,63	1,75	1,78	1,70	2,08	1,68	2,51	2,41
<i>P. guyannensis</i>	11,35	12,93	11,72	10,88	13,51	11,69	12,33	11,87	12,36	3,53	1,98	2,03	1,47	1,65	1,77	1,87	1,80	1,90	1,51	2,57	2,48
<i>P. gardneri</i>	12,55	14,17	16,36	12,50	16,63	15,77	14,16	14,60	15,68	13,83	2,64	1,98	1,76	2,06	2,07	2,17	2,09	3,11	2,14	2,82	2,76
<i>P. pattoni</i>	14,96	13,89	18,33	11,05	19,00	15,81	17,74	14,01	15,41	14,36	14,20	1,48	1,87	2,19	2,26	2,51	2,24	2,80	2,09	2,74	2,75
<i>P. kulinae</i>	13,34	14,12	15,35	11,79	16,51	15,65	15,55	14,69	15,34	11,47	13,01	14,06	6,60	1,80	1,83	1,98	1,80	2,59	1,62	2,56	2,72
<i>P. roberti</i>	12,37	14,57	14,49	14,97	15,10	14,08	13,23	13,31	13,36	12,41	13,91	16,25	14,56	3,29	0,46	0,65	0,56	1,25	1,90	2,52	2,26
A	11,86	13,65	15,13	14,43	15,02	13,41	13,16	13,61	13,36	12,55	13,07	15,45	13,92	2,53	0,94	0,86	0,80	1,49	1,99	2,67	2,33
B	12,53	14,50	14,22	15,28	14,90	15,66	13,02	13,47	13,27	12,72	13,90	17,80	14,81	3,12	3,31	0,29	0,67	1,57	2,10	2,74	2,51
C	11,75	14,29	13,20	14,54	14,11	14,55	12,10	12,49	12,65	12,09	13,18	15,97	13,33	2,71	2,93	1,85	0,68	1,53	1,91	2,66	2,37
D	15,17	18,42	15,25	17,41	17,51	14,33	15,71	13,70	14,80	12,22	18,24	18,64	18,98	6,15	6,94	7,22	7,10	1,22	2,39	2,59	2,59
<i>P. echinothrix</i>	14,48	14,26	12,35	12,75	16,08	15,09	15,72	13,12	14,15	11,64	16,33	15,73	13,75	15,13	15,17	15,72	14,18	16,45	6,09	2,52	2,51
<i>Myocastor</i>	20,80	21,43	21,47	18,37	24,13	20,83	20,91	16,56	19,40	19,15	22,32	20,19	21,27	18,93	19,52	19,45	18,82	16,93	19,71	nc	2,60
<i>Thrichomys</i>	17,62	19,83	21,29	19,94	19,76	20,07	20,16	20,07	19,19	18,02	20,34	20,03	22,33	15,58	15,28	16,53	15,40	16,76	19,58	20,03	nc

Anexo 8. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, com destaque (em cinza) a *P. guyannensis* e subgrupos relacionados (A, A1, A2, B e C), calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc= o cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys sp.</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys CIT</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyannensis</i>	A	A1	A2	B	C	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,21	1,68	1,90	1,76	1,81	1,67	1,87	1,73	1,73	1,60	1,57	1,65	1,60	1,66	1,91	1,81	2,09	1,78	1,72	1,83	2,68	2,33
<i>P. quadruplicatus</i>	12,50	3,12	1,84	1,87	2,18	1,79	2,04	1,85	1,82	1,89	1,96	2,04	1,91	1,98	2,07	1,97	1,93	1,82	1,92	1,75	2,69	2,44
<i>P. goeldii</i>	14,60	13,69	4,14	1,92	1,76	1,77	2,27	1,87	1,92	1,65	1,79	1,82	1,88	1,82	1,74	2,19	2,38	1,93	1,90	1,59	2,75	2,59
<i>Proechimys sp.</i>	11,85	12,53	13,51	2,35	2,02	1,84	2,02	1,77	1,71	1,67	1,70	1,79	1,68	1,84	1,84	1,85	1,71	1,66	2,13	1,68	2,51	2,67
<i>P. simonsi</i>	14,23	17,40	13,74	15,14	4,30	1,55	2,31	1,90	1,88	1,74	1,85	1,88	1,92	1,90	1,82	2,13	2,37	1,90	1,92	1,90	2,93	2,49
<i>P. brevicauda</i>	12,35	13,58	13,37	12,58	11,73	2,45	1,79	1,56	1,62	1,61	1,70	1,79	1,70	1,71	1,83	2,11	2,13	1,96	1,88	1,89	2,60	2,41
<i>P. longicaudatus</i>	13,27	15,01	17,70	14,52	18,25	12,36	2,49	1,64	1,58	1,81	1,89	1,97	1,89	1,96	1,97	2,01	2,40	1,92	1,83	2,02	2,65	2,49
<i>Proechimys CIT</i>	12,51	13,62	13,62	12,22	14,28	11,10	11,47	3,34	1,41	1,66	1,73	1,77	1,75	1,80	1,87	1,95	1,97	1,88	1,81	1,62	2,28	2,46
<i>P. cuvieri</i>	13,56	15,36	15,58	12,30	15,59	12,05	12,29	10,64	5,70	1,61	1,69	1,75	1,69	1,74	1,80	1,97	1,92	1,82	1,75	1,65	2,37	2,36
<i>P. guyannensis</i>	11,40	13,49	11,99	11,11	13,53	11,78	12,77	12,02	12,51	3,73	0,59	0,60	0,70	0,50	0,81	1,90	1,98	1,57	1,71	1,55	2,50	2,35
A	10,31	13,03	11,98	10,30	13,81	11,55	12,34	11,39	12,11	3,31	1,65	0,37	0,51	0,66	1,17	1,97	2,05	1,61	1,72	1,57	2,58	2,40
A1	10,25	13,45	11,90	10,69	13,43	11,57	12,48	11,27	12,10	3,11	1,25	0,58	0,78	0,72	1,19	1,95	2,15	1,60	1,73	1,56	2,64	2,44
A2	10,42	12,33	12,12	9,65	14,43	11,53	12,10	11,59	12,11	3,66	1,75	2,57	0,58	0,82	1,26	2,13	2,00	1,70	1,82	1,67	2,59	2,45
B	10,61	13,10	12,21	10,95	13,83	11,18	12,51	11,75	12,23	2,75	2,45	2,23	2,81	0,38	1,16	2,03	2,15	1,61	1,73	1,64	2,51	2,38
C	13,04	14,28	11,63	11,98	12,85	12,92	13,17	12,89	13,18	4,24	5,49	5,31	5,80	5,22	1,13	2,05	2,13	1,72	2,01	1,78	2,78	2,60
<i>P. gardneri</i>	12,62	14,43	17,19	12,92	16,67	15,65	14,36	14,79	15,64	14,14	13,86	13,23	14,91	14,08	14,41	2,59	2,09	1,75	1,96	1,96	2,79	2,62
<i>P. pattoni</i>	15,39	13,79	18,80	11,15	19,37	16,05	18,30	14,48	15,63	14,91	14,71	15,13	14,00	15,43	14,72	14,25	1,45	1,80	2,13	1,94	2,67	2,58
<i>P. kulinae</i>	13,81	14,15	15,82	12,24	16,94	15,94	15,82	15,23	15,64	11,94	11,61	11,30	12,13	11,42	12,24	13,10	14,11	6,81	1,77	1,65	2,49	2,63
<i>P. roberti</i>	12,90	14,70	14,67	15,28	15,60	14,54	13,67	13,85	13,80	12,82	12,04	11,66	12,67	11,87	14,05	14,33	16,47	14,80	3,61	1,90	2,49	2,06
<i>P. echinothrix</i>	14,66	14,50	12,66	12,92	16,24	15,24	16,08	13,38	14,33	11,87	11,15	10,70	11,91	11,21	12,93	16,50	15,90	13,99	15,39	6,39	2,41	2,34
<i>Myocastor</i>	21,54	21,09	21,47	18,73	24,83	21,41	21,16	17,34	19,91	19,62	19,30	19,52	18,93	18,27	21,13	22,61	20,12	21,14	18,91	19,87	nc	2,67
<i>Thrichomys</i>	18,34	19,89	21,65	20,65	20,45	20,61	20,37	20,82	19,74	18,55	18,00	17,92	18,13	17,44	20,04	20,61	20,33	22,36	15,82	19,89	19,92	nc

Anexo 9. Distâncias genéticas p não corrigidas (%) intra e interespecíficas de *Proechimys*, com destaque (em cinza) a *P. steerei* e subgrupos relacionados (A, A1, A2 e B), calculadas a partir de sequências de CitB. Na diagonal, em vermelho, representam divergências intraespecíficas. nc= o cálculo da distância intraespecífica não calculado. Abaixo da diagonal: valores de distância interespecífica. Acima da diagonal: erro padrão.

	<i>P. steerei</i>	A	A1	A2	B	<i>P. quadruplicatus</i>	<i>P. goeldii</i>	<i>Proechimys sp.</i>	<i>P. simonsi</i>	<i>P. brevicauda</i>	<i>P. longicaudatus</i>	<i>Proechimys sp2</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. guyannensis</i>	<i>P. gardneri</i>	<i>P. pattoni</i>	<i>P. kulinae</i>	<i>P. roberti</i>	<i>P. echinothrix</i>	<i>Myocastor</i>	<i>Thrichomys</i>
<i>P. steerei</i>	3,20	0,41	0,41	0,65	1,16	1,78	1,88	1,66	1,76	1,69	1,72	1,64	1,64	1,48	1,82	2,10	1,68	1,73	1,71	2,60	2,34
A	2,74	2,27	0,39	0,65	1,28	1,83	1,92	1,69	1,80	1,72	1,74	1,68	1,66	1,52	1,86	2,15	1,72	1,76	1,74	2,62	2,37
A1	2,32	1,79	0,36	0,89	1,35	2,00	1,97	1,79	1,88	1,74	1,86	1,74	1,72	1,61	1,91	2,19	1,86	1,87	1,79	2,69	2,47
A2	3,49	3,02	3,55	0,83	1,44	1,93	2,08	1,88	1,74	1,86	1,84	1,74	1,76	1,57	1,95	2,29	1,87	1,87	1,90	2,79	2,47
B	6,56	7,19	6,87	7,50	1,41	1,74	1,97	1,92	1,88	1,77	1,97	1,76	1,99	1,71	1,97	2,10	1,74	2,01	1,83	2,80	2,51
<i>P. quadruplicatus</i>	12,88	12,98	13,61	13,34	11,99	3,47	1,93	1,87	2,24	1,83	1,92	1,85	1,94	1,79	2,02	2,00	1,91	1,98	1,87	2,71	2,35
<i>P. goeldii</i>	14,80	14,75	14,87	14,70	15,19	14,37	4,15	1,79	1,83	1,69	2,05	1,73	1,79	1,60	2,19	2,29	1,82	1,89	1,52	2,54	2,67
<i>Proechimys sp1.</i>	11,77	11,62	12,02	12,17	13,07	12,97	12,74	2,27	2,08	1,66	1,91	1,72	1,60	1,75	1,78	1,59	1,61	1,97	1,66	2,38	2,79
<i>P. simonsi</i>	13,88	13,82	14,09	12,96	14,39	17,67	14,18	15,11	4,33	1,60	2,17	1,79	1,79	1,66	2,10	2,41	1,96	1,98	1,87	2,86	2,45
<i>P. brevicauda</i>	12,23	12,24	11,90	12,93	12,20	13,91	12,63	12,14	11,77	2,36	1,66	1,47	1,48	1,66	1,97	1,97	1,83	1,82	1,80	2,58	2,61
<i>P. longicaudatus</i>	13,15	13,07	13,21	13,20	13,82	15,35	16,71	13,97	18,12	11,94	2,41	1,57	1,47	1,77	1,93	2,30	1,78	1,69	1,86	2,52	2,60
<i>Proechimys sp2</i>	12,40	12,39	12,11	12,59	12,48	14,04	12,83	11,76	14,27	10,71	11,04	3,22	1,34	1,67	1,91	1,85	1,78	1,70	1,65	2,21	2,61
<i>P. cuvieri</i>	13,38	13,12	12,94	13,63	15,68	15,74	14,85	11,97	15,50	11,75	11,97	10,37	5,67	1,57	1,90	1,90	1,69	1,65	1,65	2,35	2,44
<i>P. guyannensis</i>	10,88	10,76	10,94	10,53	11,83	13,25	12,09	11,60	13,20	12,24	13,23	12,45	12,94	3,51	1,97	2,08	1,53	1,62	1,50	2,49	2,32
<i>P. gardneri</i>	12,72	12,70	12,40	13,06	12,92	14,90	16,67	12,11	16,77	14,79	13,53	13,95	14,87	13,93	2,53	2,02	1,75	1,87	1,95	2,86	2,59
<i>P. pattoni</i>	15,48	15,57	15,18	16,47	14,75	14,55	18,16	10,41	19,56	15,12	17,20	13,56	14,81	15,04	13,75	1,40	1,82	2,03	1,93	2,57	2,55
<i>P. kulinae</i>	13,87	13,89	14,33	14,67	13,69	15,04	15,64	11,77	17,10	15,32	15,19	14,61	14,94	11,96	12,89	13,91	6,65	1,71	1,53	2,39	2,59
<i>P. roberti</i>	13,18	13,02	13,15	13,22	14,64	15,06	14,33	14,65	16,05	13,99	13,09	13,29	13,37	12,62	14,02	16,10	14,76	3,51	1,81	2,38	2,14
<i>P. echinothrix</i>	14,24	14,18	14,06	14,87	14,80	14,88	12,10	12,62	15,91	14,87	15,66	13,06	14,02	12,05	15,71	15,10	13,35	14,94	6,28	2,34	2,36
<i>Myocastor</i>	21,14	21,00	20,56	21,98	22,30	21,00	20,32	18,01	24,29	20,62	20,33	16,67	19,29	19,95	21,68	18,95	20,28	18,21	19,31	nc	2,68
<i>Thrichomys</i>	18,02	17,94	18,03	18,12	18,69	19,27	21,15	20,68	19,96	20,61	20,37	20,85	19,78	18,24	20,40	19,97	21,82	15,40	19,69	20,28	nc

Conclusão

O presente estudo pretendeu investigar dois gêneros muito complexos de roedores, que mostravam sinais de alta diversidade interespecífica, grande número de cariótipos descritos sem associação de nomes específicos, baixa diversidade morfológica, com muita sobreposição de caracteres ou até mesmo ausência de caracteres diagnósticos, além de incertezas sobre localidades tipo, distribuição geográfica e limites das espécies. O uso do cariótipo como ferramenta que auxiliaria na compreensão da diversidade genética, morfológica e molecular mostrou-se altamente eficiente, por evidenciar, em linhas gerais, cariótipos distintos, sem compartilhamento de cariótipos idênticos entre duas espécies. Por outro lado, obter dados além das colorações comuns dos cromossomos é um desafio nesse grupo, que apresenta cromossomos altamente compactados após técnicas corriqueiras de preparações citogenéticas *in vivo*. Alia-se o fato de que poucos exemplares desses grupos são cariotipados e menos ainda estão disponíveis para análise simultânea do cariótipo e das sequências de DNA. A compilação de todos os dados citogenéticos disponíveis na literatura foi massiva e altamente produtiva.

Os genes citocromo B e Vwf mostraram-se eficientes em resgatar a história filogenética das espécies e subespécies no grupo, embora as relações basais de alguns táxons não foram esclarecidas. O monofiletismo dos clados foi recuperado com alto sucesso, indicando a existência de possíveis táxons escondidos. Aliados aos dados cariotípicos, algumas novidades puderam ser apresentadas.

Em *Trinomys*, os cariótipos de *T. paratus* e *T. s. denigratus* foram descritos pela primeira vez no presente estudo. A reconstrução filogenética dos dados concatenados recuperou dez linhagens evolutivas com alto suporte, cada qual associada às espécies de *Trinomys*. Os cariótipos associados a cada clado são distintos entre si, não havendo compartilhamento de formas cariotípicas entre as espécies. As evidências citogenéticas, aliadas aos baixos valores de divergência genética, não dão suporte à divisão entre *T. g. graciosus* e *T. g. bonafidei*, bem como entre *T. a. minor* e *T. a. albispinus*. Entretanto, confirmam três subespécies para *T. setosus*: *T. s. setosus*, *T. s. elegans* e *T. s. denigratus*, recuperando o status de *denigratus* como subespécie válida. Nossos resultados reforçam a importância dos dados cariotípicos na caracterização das espécies de *Trinomys* e mostram que os cariótipos são espécie-específicos.

Para o gênero *Proechimys*, por outro lado, mais complexo que *Trinomys*,

algumas questões puderam ser investigadas e esclarecidas, porém levantou outras questões ainda a serem investigadas. Com a análise citogenética e molecular de indivíduos com $2n=15$ e 17 , os menores valores de $2n$ e FN para o gênero, a dúvida em relação ao mecanismo responsável pela variação do cariótipo, que varia de $2n=14$ a 17 , assim como a identidade do táxon e seus relacionamentos dentro do gênero puderam ser esclarecidas. Das duas propostas na literatura que explicavam essa variação do número diplóide, concluiu-se que não há evidências para a ocorrência de sistema múltiplo do tipo XX/XY_1Y_2 , com $2n=17$ ocorrendo somente em machos e $2n=16$ em fêmeas pertencentes ao grupo *longicaudatus*, e $2n=14$ e $2n=15$ pertencentes a outro táxon, mas que o mecanismo de fissão/fusão é o mais provável para explicar a origem do polimorfismo, uma vez que foi constatado que as formas $2n=15$ e 17 pertencem ao mesmo táxon, com 2,26% de divergência genética, no grupo *goeldii*. Ainda, confirmou-se pelo citótipo bem distinto dos demais do grupo e alta taxa de divergência das demais espécies desse clado, que se trata de um táxon distinto das demais espécies válidas.

O levantamento de todos os dados cariotípicos do grupo mostrou quem cerca de 1125 exemplares já foram cariotipados em *Proechimys*, mostrando um alta diversidade cariotípica, com mais de 39 cariótipos, sendo muitos reinterpretados.

Identificamos um táxon novo associado ao grupo *cuvieri* com $2n=28/FN=48$, ficando *P. cuvieri* relacionado ao cariótipo $2n=28/FN=46$. No grupo *longicaudatus*, *P. longicaudatus* foi associado a $2n=28/FN=50$, e um novo táxon deve estar associado ao cariótipo $2n=28/FN=48,50$, distinto do anterior pela morfologia e tamanho dos cromossomos. *P. roberti* foi associado ao cariótipo $2n=30/FN=56$, havendo uma variante cariotípica associada a um táxon novo no grupo. O grupo de espécies *P. guyannensis* é bastante complexo, sendo o cariótipo $2n=46/FN=50$ associado a *P. guyannensis*, e uma série de variantes ainda a se investigar.

Quando os demais dados de cariótipos disponíveis na literatura foram associados à filogenia molecular gerada no presente estudo, foi possível observar a complexidade desse gênero. Trabalhando de maneira integrativa com cariótipo, sequências de DNA, e a localização geográfica dos exemplares sequenciados e cariotipados foram observadas evidências de potenciais novas espécies, confirmando sugestões anteriores de que a diversidade de espécies em *Proechimys* está escondida.

O presente estudo apresentou dados inéditos na literatura, com uma abordagem inovadora de se associar cariótipos e filogenias moleculares, visando auxiliar na delimitação dos táxons no grupo. Os dados citogenéticos mostraram que são marcadores

essenciais na distinção de unidades taxonômicas nesses dois gêneros, que mostraram baixa variabilidade cariotípica intraespecífica e alta variabilidade interespecífica. Entretanto, é essencial a continuidade desses estudos, adicionando indivíduos, que tenham sido investigados simultaneamente pelo cariótipo, pela morfologia e sequenciamento de DNA, além de associar os dados de distribuição geográfica, constituindo uma análise integrativa que permitirá o esclarecimento gradual dos processos evolutivos que envolvem um grupo tão complexo de roedores que habitam uma área geográfica complexa, recortada por rios, montanhas e biomas tão distintos. Por enquanto, deixamos exposta a ponta do iceberg.