

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRÉ FILIPE TESTONI



ANÁLISE CITOGENÉTICA E ESTUDO FILOGENÉTICO DE *Rhagomys rufescens*  
(THOMAS, 1886) (RODENTIA: SIGMODONTINAE) DA FLORESTA ATLÂNTICA  
DO SUL DO BRASIL

CURITIBA

2009



**ANDRÉ FILIPE TESTONI**

**ANÁLISE CITOGENÉTICA E ESTUDO FILOGENÉTICO DE *Rhagomys rufescens*  
(THOMAS, 1886) (RODENTIA: SIGMODONTINAE) DA FLORESTA ATLÂNTICA  
DO SUL DO BRASIL**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética, Departamento de Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração em Genética.**

**Orientador: Prof. Dr. Ives José Sbalqueiro**

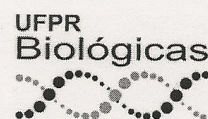
**Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Althoff**

**CURITIBA**

**2009**



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Genética



## PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **ANDRÉ FILIPE TESTONI** para fins de adquirir o título de Mestre em Ciências Biológicas na Área de Genética da Universidade Federal do Paraná, no Programa de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira ao candidato o conceito "A".  
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 27 de fevereiro de 2009

Professor Doutor Ives José Sbalqueiro - UFPR  
Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Professora Doutora Iris Hass - UEPG  
Membro Titular

Professor Doutor Iglênir João Cavalli - UFPR  
Membro Titular

Professor Doutor Sérgio Luiz Althoff - FURB  
Co-Orientador e Membro Suplente

Visto:

Profª Drª Maria Luiza Petzl-Erler  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Genética

"A ignorância gera confiança com mais frequência do que o conhecimento: são aqueles que sabem pouco, e não aqueles que sabem muito, que tão positivamente afirmam que esse ou aquele problema jamais será resolvido pela ciência."

*Charles Darwin*

## AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo aos meus orientadores Prof. Dr. Ives José Sbalqueiro e Prof. Dr. Sérgio Luiz Althoff que por todo esse tempo, bem antes da dissertação, encaminham-me ao mundo dos cromossomos de pequenos mamíferos.

Agradeço a Comissão de Acompanhamento e Membros da Banca da Defesa da Dissertação Prof. Dr. Iglénir João Cavalli (UFPR), Profa Dra Iris Hass (UFPR) e Prof. Dr. Sérgio Luiz Althoff (FURB), por toda ajuda durante a elaboração do projeto, até os resultados finais.

Este trabalho dedico aos meus pais José Claudio Testoni, Nelita Benvenuti Testoni, minhas irmãs Fabíola Maria Testoni e Bruna Laís Testoni, e à Mariah Damiani da Silva, que acreditaram que tudo isso era possível, apoiando-me durante todo esse tempo.

Agradeço aos meus primos André Pereira, Simone Nicoletti e Gabriel Pereira, também ao meu amigo Ives José Sbalqueiro, que me hospedaram em Curitiba, ora sim ora não, durante o período de realização do mestrado. Também a Maurício Pozzobon, Josias Alan Rezini e Luciano Ceolin pelas viagens científico-filosóficas.

Várias pessoas me auxiliaram em campo, durante as coletas para obtenção das amostras e em laboratório nas análises citogenéticas, assim, agradeço a Ayrton Adão Schmitt Junior, Cláudio Rafael Souza, Elisa Carolina Ferreira, Esmeralda Dádiva Ferreira Silva, Fernando José Venâncio, Levi Koch Beckhauser, Luciano Ceolin, Marcelo Pessoa, Marcelo Reinert; especialmente a Francisco Steiner de Souza, Rafael Pasold e Guilherme Pereira Rabelo.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal do Paraná que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial ao meu amigo Guilherme Pereira Rabelo e Dra Iris Hass, também ao Dr. Rafael Bueno Noletto pelo auxílio no protocolo com os fluorocromos.

Gostaria de agradecer ao Laboratório de Genética e Laboratório de Biologia Animal do Departamento de Ciências Naturais da Universidade Regional de Blumenau (FURB), em especial ao Prof. Dr. Geraldo Moretto, Prof. MsC. André Paulo Nascimento, MsC. Elisabete Rechenberg e Prof. Dr. Sérgio Luiz Althoff, que possibilitaram a utilização da estrutura da instituição durante a realização deste trabalho. Também aos amigos Lucas Mariotto e Fernando José Venâncio pelo apoio.

Ao Prof. Nélcio Lindner pelas autorizações para permanência no Parque Natural Nascentes do Garcia. E a MsC. Cintia Gizele Gruener pela ajuda em resolver problemas burocráticos.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelos meses de bolsa.

Para realizar as comparações filogenéticas, vários pesquisadores cederam suas amostras e/ou resultados obtidos em seus trabalhos, assim, agradeço ao Dr. Nilson Ivo Tonin Zanchin, Dra Margarete Sune Mattevi, Dr. Ives José Sbalqueiro, Guilherme Pereira Rabelo e Dr. João Marcelo D. Miranda e sua equipe.

Aos meus amigos Célio Testoni, Guilherme Gropp, Ayrton Adão Schmitt Junior e Marcelo Reinert, que de uma forma ou de outra, contribuíram muito para eu chegasse ao término deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos os meus novos amigos do Departamento de Genética (UFPR) que fizeram parte da minha vida durante esses dois anos, em especial, Márcio Marques de Moraes, Marcos Euzébio Maciel, Franciele Cabral Pinheiro, Francisco Rosa, Giovana Tardin Torrezan, Hugo da Silva Alves, Ivan Luiz Santos, Joandrei dos Santos Silva, Josiane Aparecida Gomes Figueiredo, Josiele Polzin de Oliveira, Juliana Fabris, Juliane Rezende Mercer, Sarah Franco Vieira de Oliveira e Taynah Vicari.

Ainda, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram significativamente com este trabalho.

## RESUMO

A subfamília Sigmodontinae (Cricetidae) abrange cerca de 74 gêneros e 377 espécies de roedores, sendo uma delas *Rhagomys rufescens* que é endêmica da Floresta Atlântica e tem distribuição no Sul e Sudeste do Brasil. Este trabalho apresenta os primeiros dados citogenéticos da espécie em coloração com Giemsa, CMA<sub>3</sub>/DAPI e padrões de bandeamentos cromossômicos (G, C e Ag-RON). Também foram estabelecidas as relações filogenéticas de *Rhagomys rufescens* com espécies da tribo Thomasomyini: *Rhipidomys mastacalis* (2n = 44), *Juliomys pictipes* (2n = 36) e Oryzomyini: *Oecomys* sp. (2n = 60), *Oligoryzomys flavescens* (2n = 64), através da comparação dos cromossomos em bandeamento G. Os nove exemplares de *Rhagomys rufescens* analisados apresentaram 2n = 36 e FNa = 50, com seis pares de cromossomos metacêntricos, dois pares submetacêntricos e oito pares acrocêntricos. O cromossomo X e o Y são acrocêntricos. A análise em bandeamento C mostra que maioria dos cromossomos autossomos apresenta heterocromatina constitutiva na região pericentromérica, o cromossomo X, além da marcação na região pericentromérica, também tem um bloco de HC intersticial proximal, o cromossomo Y apresenta marcação na região pericentromérica. As RON's são observadas na região centromérica nos cromossomos autossomos dos pares 4 (SM médio), 6 (M médio) e 8 (M pequeno); e na região telomérica no braço curto dos pares 10, 12 e 17 (A). Os fluorocromos CMA<sub>3</sub>/DAPI marcaram regiões ricas em bases GC, vários cromossomos autossomos mostram sinais fortes, principalmente as regiões pericentroméricas dos pares 4 (SM), 6 (M) e todo o 8 (M). Na análise filogenética, a árvore mais parsimoniosa revelou um agrupamento de *Rhagomys rufescens* com *Rhipidomys mastacalis* (bootstrap = 100%). *Juliomys pictipes* está relacionado com o grupo *Rhagomys* – *Rhipidomys*, com baixo bootstrap. O ramo *Oecomys* sp. e *Oligoryzomys flavescens* apresentou dez simplesiomorfias, enquanto o grupo formado por *Rhagomys rufescens* e *Rhipidomys mastacalis* teve cinco sinapomorfias. Foram encontradas dez, seis e três apomorfias em *Rhagomys rufescens*, *Rhipidomys mastacalis* e *Juliomys pictipes*, respectivamente. A análise filogenética usando parcimônia revelou uma forte consistência do agrupamento entre *Rhagomys rufescens* e *Rhipidomys mastacalis*, espécie considerada do grupo dos Thomasomyini “Andinos”, composta por *Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*. A espécie *Juliomys pictipes* apresentou fraca relação com *Rhagomys* -

*Rhipidomys*, sendo considerada Thomasomyini endêmica de Floresta Atlântica, assim como *Delomys*, *Phaenomys*, *Wilfredomys*.

Palavras-chave: *Rhagomys rufescens*. Cariótipo. Banda G. Banda C. Banda RON. CMA<sub>3</sub>/DAPI. Homeologia cromossômica. Filogenia. Thomasomyini.



## ABSTRACT

The subfamily Sigmodontinae (Cricetidae) covers about 74 genera and 377 species of rodents, one of which *Rhagomys rufescens* that is endemic to the Atlantic Forest and has distribution in southern and southeastern Brazil. This paper presents the first cytogenetic data of the species in staining with Giemsa, CMA3/DAPI and chromosomal banding patterns (G, C and Ag-RON). They also established the phylogenetic relationships of *Rhagomys rufescens* with species of the tribe Thomasomyini: *Rhipidomys mastacalis* ( $2n = 44$ ), *Juliomys pictipes* ( $2n = 36$ ) and Oryzomyini: *Oecomys* sp. ( $2n = 60$ ), *Oligoryzomys flavescens* ( $2n = 64$ ), by comparison of banding chromosomes in G. The nine copies of *Rhagomys rufescens* analyzed presented  $2n = 36$  and  $FNa = 50$ , with six pairs of metacentric chromosomes, two submetacentric pairs and eight acrocentric pairs. The X and the Y chromosomes are acrocentric. The analysis in C banding shows that the majority of autosomal chromosomes presents constitutive heterochromatin in the pericentromeric region, the X chromosome, in addition to marking the pericentromeric region, also has a block of interstitial proximal HC, the Y chromosome shows marking the pericentromeric region. The RON's are observed in the centromeric region of autosomal chromosomes of pairs 4 (8M medium), 6 (M medium) and 8 (M small) and the telomeric region on the short arm of pairs 10, 12 and 17 (A). The fluorochromes CMA3/DAPI marked rich regions in GC bases, several autosomal chromosomes show strong signals, especially the pericentromeric regions of pairs 4 (8M), 6 (M) and the whole 8 (M). The staidest tree showed a group of *Rhagomys rufescens* with *Rhipidomys mastacalis* (bootstrap = 100%). *Juliomys pictipes* is related to the *Rhagomys* - *Rhipidomys* group, with low bootstrap. The *Oecomys* sp. and *Oligoryzomys flavescens* branch presented ten symplesiomorphy, while the group of *Rhagomys rufescens* and *Rhipidomys mastacalis* had five synapomorphies. Were founded ten, six and three apomorphies in *Rhagomys rufescens*, *Rhipidomys mastacalis* and *Juliomys pictipes*, respectively. The Phylogenetic analysis using parsimony showed a strong group consistency between *Rhagomys rufescens* and *Rhipidomys mastacalis*, this one is considered Thomasomyini's group "Andean", composed by *Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* and *Rhipidomys*. The *Juliomys pictipes* species showed weak relationship with *Rhagomys* - *Rhipidomys* is

considered Thomasomyini endemic Atlantic Forest as well as *Delomys*, *Phaenomys*, *Wilfredomys*.

Key words: *Rhagomys rufescens*, karyotype, G-bands, C-bands, NOR-bands, CMA<sub>3</sub>/DAPI, chromosome homeology, phylogeny, Thomasomyini.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	- Gêneros de roedores Sigmodoninae na América do Sul identificados nos grupos “ <i>incertae sedis</i> ” e “ <i>plesiomorphic Neotropical muroid</i> ” .....	22
FIGURA 2	- Relação de <i>Rhagomys</i> com gêneros Sigmodoninae na América do Sul da tribo Thomasomyini .....	23
MAPA 1	- Localidades em que a espécie <i>Rhagomys longilingua</i> foi amostrada no Peru e Bolívia .....	24
MAPA 2	- Localidades em que a espécie <i>Rhagomys rufescens</i> foi amostrada nos estados do Brasil .....	26
FIGURA 3	- Relação filogenética de <i>Rhagomys rufescens</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parsimônia com caracteres não-ordenados e pesos iguais.....	29
FIGURA 4	- Relação filogenética de <i>Rhagomys rufescens</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parsimônia com caracteres ordenados e pesos diferentes .....	30
FIGURA 5	- Relação filogenética do grupo de thomasomyines “Andinos” e outros Sigmodontinae, usando análise de máxima-parsimônia com caracteres ordenados e pesos diferentes .....	34
FIGURA 6	- Vista ventral da pata anterior direita de <i>Rhagomys rufescens</i> (18mm), mostrando o primeiro dígito reduzido e as almofadas plantares e interdigitais .....	34
FIGURA 7	- Relação filogenética de <i>Rhagomys rufescentes</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parsimônia .....	36
FIGURA 8	- Relação filogenética de <i>Rhagomys rufescentes</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-probabilidade .....	37
FIGURA 9	- Relação filogenética de <i>Rhagomys longilingua</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parsimônia .....	39
FIGURA 10	- Relação filogenética de <i>Rhagomys longilingua</i> dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-probabilidade .....	40

FIGURA 11	- Armadilhas de passagem <i>Havahart</i> (®) suspensas entre 1,5 e 2,5m de altura do solo para captura de <i>Rhagomys rufescens</i> .....	110
MAPA 3	- Localização do Mono, no Parque Natural Nascentes do Garcia, inserido no Parque Nacional da Serra do Itajaí, Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil .....	111
FIGURA 12	- Cariograma em bandeamento G de <i>Oligoryzomys flavescens</i> , $2n = 64$ e $FNa = 66$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por SBALQUEIRO (1989) .....	121
FIGURA 13	- Cariograma em bandeamento G de <i>Oecomys</i> sp., $2n = 60$ e $FNa = 64$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta I. J. Sbalqueiro e G. P. Rabelo (comunicação pessoal) .....	122
FIGURA 14	- Cariograma em bandeamento G de <i>Rhagomys rufescens</i> , $2n = 36$ e $FNa = 50$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por A. F. Testoni (presente estudo, capítulo 1) .....	123
FIGURA 15	- Cariograma em bandeamento G de <i>Rhipidomys mastacalis</i> , $2n = 44$ e $FNa = 74$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por ZANCHIN <i>et al.</i> (1992) .....	124
FIGURA 16	- Cariograma em bandeamento G de <i>Juliomys pictipes</i> , $2n = 36$ e $FNa = 34$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta I. J. Sbalqueiro (comunicação pessoal) .....	125

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1	- Número de indivíduos (N) da espécie <i>Rhagomys rufescens</i> coletados em várias localidades do Brasil .....	25
TABELA 2	- Espécies de roedores e números de coleção dos indivíduos comparados com <i>Rhagomys rufescens</i> através de dados morfológicos por PERCEQUILLO <i>et al.</i> (2004) .....	33
TABELA 3	- Cariótipos das espécies de roedores Thomasomyini com cariótipos determinados .....	42
TABELA 4	- Espécies dos roedores utilizadas na análise filogenética .....	112
TABELA 5	- Tabela de caracteres utilizados na análise filogenética, sendo que os caracteres considerados foram os cromossomos de <i>Oligoryzomys flavescens</i> (OFL) .....	126
TABELA 6	- Matriz de dados baseada na presença e ausência dos 29 caracteres	127
TABELA 7	- Homeologias de cromossomos inteiros ou rearranjos cromossômicos compartilhados entre as espécies .....	128

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>2n</b>	– Número diplóide de cromossomos
<b>A</b>	– Cromossomo acrocêntrico
<b>Ag-RON</b>	– Técnica para identificar RON's
<b>BMNH</b>	– Natural History Museum, Londres, Inglaterra
<b>bs</b>	– Bremer Support values
<b>CBG</b>	– Técnica de bandeamento C
<b>CIT</b>	– Laboratório de Citogenética de Vertebrados, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo
<b>CMA<sub>3</sub></b>	– Cromomicina A <sub>3</sub>
<b>DAPI</b>	– 4´6-Diamidino-2-fenil-indol
<b>DNA</b>	– Ácido Desoxirribonucléico
<b>DZUP / CCMZ</b>	– Coleção de Mastozoologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná
<b>FISH</b>	– Fluorescence In Situ Hybridization
<b>FNa</b>	– Número de braços dos cromossomos autossomos
<b>FURB</b>	– Coleção Científica do Laboratório de Biologia Animal da Universidade Regional de Blumenau
<b>GC</b>	– Ligação guanina - citosina
<b>GTG</b>	– Técnica de bandemaneto G
<b>HC</b>	– Heterocromatina Constitutiva
<b>IC</b>	– Índice de Consistência
<b>IR</b>	– Índice de Retenção
<b>IRBP</b>	– Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein
<b>IUCN</b>	– International Union for Conservation of Nature
<b>jk</b>	– Valor de parsimônia <i>jackknife</i>
<b>JPI</b>	– <i>Juliomys pictipes</i>
<b>M</b>	– Cromossomo metacêntrico
<b>ML</b>	– Máxima-propabilidade
<b>MMA</b>	– Ministério do Meio Ambiente
<b>MN</b>	– Museu Nacional do Rio de Janeiro

- MP** – Máxima-parsimônia
- MZUSP** – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo
- NP** – Número de Passos
- OFL** – *Oligoryzomys flavescens*
- OTU** – Operational Taxonomic Unit
- P** – Coleção de Mastozoologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná
- PAUP** – Phylogenetic Analysis Using Parsimony
- pb** – Pares de Base
- PEI** – Parque Estadual de Intervales
- PNMNG** – Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia
- PNSI** – Parque Nacional da Serra do Itajaí
- RFMG** – Reserva Florestal do Morro Grande
- RMA** – *Rhipidomys mastacalis*
- RON** – Regiões organizadoras de nucléolo
- RRU** – *Rhagomys rufescens*
- SEPFA** – Serviço de Estudos e Pesquisas da Febre Amarela Silvestre
- SM** – Cromossomo submetacêntrico
- UFPB** – Coleção de Mamíferos do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2. REVISÃO BILIOGRÁFICA</b> .....	19
2.1 ORDEM RODENTIA .....	19
2.2 DISTRIBUIÇÃO E SISTEMÁTICA DO GÊNERO <i>Rhagomys</i> .....	21
2.3 O ESTUDO DOS CROMOSSOMOS .....	41
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	46
<b>4. CAPITULO 1</b>	
Descrição do cariótipo de <i>Rhagomys rufescens</i> Thomas, 1886 (Rodentia, Sigmodontinae) de Floresta Atlântica do Sul do Brasil .....	47
Resumo .....	49
Introdução . .....	50
Material e Métodos .....	51
Reultados .....	52
Discussão .....	53
Referências .....	56
Tabelas .....	63
Figuras .....	65
<b>5. CAPITULO 2</b>	
Filogenia cromossômica de <i>Rhagomys rufescens</i> (Rodentia, Sigmodontinae), por banda G, em relação a espécies das tribos Thomasomyini e Oryromyini ....	68
Resumo .....	69
Introdução . .....	70
Material e Métodos .....	71
Reultados .....	72
Discussão .....	76
Bibliografia .....	80



Tabelas .....	83
Figuras .....	86
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	91
6.1 ANÁLISE DO CARIÓTIPO DE <i>Rhagomys rufescens</i> .....	91
6.2 ANÁLISE DA FILOGENIA DE <i>Rhagomys rufescens</i> .....	93
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	96
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	98
<b>APÊNDICES</b> .....	109
APÊNDICE 1 – MATERIAL E MÉTODOS .....	109
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA .....	109
MÉTODOS CITOGENÉTICOS .....	113
ANÁLISE CROMOSSÔMICA .....	116
ESTUDO CLADÍSTICO .....	117
INDIVÍDUOS ANALISADOS .....	119
APÊNDICE 2 – CARIOGRAMAS EM BANDEAMENTO G DAS ESPÉCIES ANALISADAS .....	121
APÊNDICE 3 – SUPORTE AO ESTUDO FILOGENÉTICO .....	126
TABELA DE CARACTERES .....	126
MATRIZ TOTAL .....	127
HOMEOLOGIAS E REARRANJOS CROMOSSÔMICOS .....	128

## 1. INTRODUÇÃO

Os roedores compreendem um grupo de mamíferos que têm papel importante nos processos de sucessão ecológica (LANGE e MARGARIDO, 1993). Diferentes abordagens têm sido realizadas para que se possam determinar seus hábitos, distribuição geográfica e características particulares, em especial os genéticos, seja a nível de marcadores moleculares ou citogenéticos. Entretanto, é preciso uma maior amostragem taxonômica e geograficamente balanceada, assim como um maior número de gêneros amostrados para que favoreça os trabalhos de revisão taxonômica (VIVO *et al.*, 1999). Através destes trabalhos as relações filogenéticas entre as espécies podem ser sugeridas, onde os gêneros que apresentam maior similaridade são tentativamente agrupados.

A ordem Rodentia apresenta algumas espécies que estão em pleno processo inicial de diferenciação, sendo que ainda não apresentam caracteres morfológicos que sirvam para diagnosticá-las. Ocorrem também, por outro lado, casos de espécies com distribuições próximas que apresentam zonas de hibridação, exemplificadas pelas espécies crípticas. Portanto, o estudo dos cromossomos é uma ferramenta extremamente útil na identificação dessas espécies (JACKSON, 1970). Neste sentido, a identificação de cariótipos diferentes entre duas espécies, aparentadas ou crípticas, desencadeia, frequentemente, trabalhos que focam outros caracteres morfológicos, mais específicos, viabilizando, com isso, a descrição de novas espécies (ZIMA, 2000). A citogenética é considerada, também, de fundamental importância nos estudos de sistemática e taxonomia (JACKSON, 1970), pois fornecem subsídios para inferências sobre as relações filogenéticas entre as espécies (PATTON e SHERWOOD, 1983).

Os métodos de análise filogenética têm sido utilizados no contexto da sistemática dos organismos (SCHNEIDER, 2003), possibilitando a correlação entre diferentes espécies. Os achados citogenéticos, como por exemplo, os provenientes dos rearranjos cromossômicos associados, entre outros, ao bandeamento G, podem servir como parâmetros para essas análises (BAKER *et al.*, 1983; KOOP *et al.*, 1984; SBALQUEIRO, 1989; BOROWIK, 1995; OLIVEIRA, 1996; HASS, 1997; GEISE *et al.* 1998; VOLOBOUEV e ANISKIN, 2000).

A posição taxonômica das espécies do gênero *Rhagomys* é um tanto polêmica, pois, esse gênero pode ser identificado em diferentes tribos, ou sequer ser sugerido uma posição para o grupo, sendo, neste caso, considerado Sigmodontinae *incertae sedis* (REIG, 1980, 1984, 1986; EMMONS e FEER, 1997; MCKENNA e BELL, 1997, SMITH e PATTON, 1999; MUSSER e CARLETON, 2005) e *plesiomorphic Neotropical murid* (VOSS, 1993; STEPPAN, 1995). A comparação de dados citogenéticos de *Rhagomys rufescens* com os de espécies de gêneros considerados próximos, conforme estudos com caracteres morfológicos (PACHECO, 2003), marcadores moleculares com DNA mitocondrial (citocromo b) (PERCEQUILLO *et al.*, 2004) e DNA nuclear (gene IRBP) (D'ELÍA *et al.*, 2006), pode ajudar a elucidar tanto os problemas relacionados com a posição taxonômica como os mecanismos envolvidos na evolução cariotípica deste grupo.

Saliente-se a inexistência, na literatura, de dados citogenéticos sobre as duas espécies de *Rhagomys*, uma de ocorrência na região Sul e Sudeste do Brasil (*R. rufescens*) e a outra no Peru e Bolívia (*R. longilingua*).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ORDEM RODENTIA

Os roedores representam uma das ordens com maior número de espécies, apresentando cerca de 1800 a 2300 espécies vivas, chegando a 11% dos mamíferos do Mundo (ANDERSON, 1967; HARTENBERGER, 1985; POUGH *et al.*, 1999). Esse grupo compreende aproximadamente 43% das espécies de mamíferos que habitam o Continente Sul-Americano e estima-se cerca de 450 espécies viventes (REIG, 1984).

A região dos trópicos concentra considerável número de espécies de roedores (EISENBERG e REDFORD, 1999). No entanto, a diversidade da fauna dessas regiões vem sendo alterada pelo crescente e desordenado desenvolvimento econômico, tendo como resultado a fragmentação dos ecossistemas (WILSON, 1974). Para PINE (1981) a fauna de mamíferos da América do Sul é a mais rica e menos conhecida do mundo, sendo os roedores de pequeno porte um dos grupos mais estudados, mas mesmo assim, ainda existem lacunas de conhecimento sobre a distribuição de várias espécies. VOSS e EMMONS (1996) chamam a atenção pelo fato de que as florestas úmidas neotropicais têm sua diversidade subestimada devido ao baixo número de inventários, deixando incompletas as listas locais de espécies. Segundo FONSECA e KIERULFF (1989) existem cerca de 129 espécies de mamíferos com distribuição na Floresta Atlântica, sendo que 40% destas espécies são endêmicas, dentre elas várias de roedores.

Na ordem Rodentia as espécies de tamanho pequeno têm papel importante no ecossistema, sendo destacadas suas múltiplas funções: como dispersoras, predadoras e polinizadoras de espécies vegetais. Além disso, são consideradas excelentes indicadoras do grau de degradação de ambientes (LANGE e MARGARIDO, 1993). Apresentam grande variedade de hábitos alimentares, sendo herbívoras, insetívoras, piscívoras ou carnívoras (LANDRY-JUNIOR, 1970), isto faz com que tenham grande adaptação ecológica, podendo assim ser: terrestres, arborícolas, fossoriais, saltatórias ou semi-aquáticas. Algumas vivem durante toda

sua vida no dossel de florestas tropicais, enquanto outras raramente emergem de seus túneis subterrâneos (CARLETON, 1984).

A fauna de mamíferos viventes na América do Sul foi constituída ao longo de um processo evolutivo no qual participaram linhagens autóctones de história antiga no continente, representado, atualmente, somente pelos marsupiais e os edentados, mas que tiveram uma ampla diversidade no passado geológico, com linhagens imigrantes que povoaram o continente em tempos diferentes e que tiveram origens diferentes (REIG, 1981). Segundo este autor, os roedores pertencem a esse grupo, ou seja, tiveram várias origens distintas, cujos antecessores não fizeram parte da fauna sul-americana durante o Paleoceno e Eoceno. No entanto, para ANDERSON (1967) e VAUGHAN (1978) os roedores estariam representados na América do Sul desde o Paleoceno até o recente e se encontram, presentemente, em plena radiação adaptativa.

As espécies de roedores com distribuição na América do Sul podem ser agrupadas em três infraordens: Sciuromorpha, Caviomorpha e Myomorpha. Levando-se em consideração toda a fauna vivente de mamíferos no continente: Sciuromorpha compreende 2,2%; enquanto Caviomorpha representa 19,1%; e Myomorpha 21,9%, sendo este último o mais abundante, com o maior número de espécies (REIG, 1981).

Os Myomorpha são caracterizados por possuírem canal infra-orbital em forma de fenda, sendo comumente chamados de ratos e camundongos. A proposta de SIMPSON (1945) apresenta duas famílias: Muridae e Cricetidae, incluídas na superfamília Muroidea por REIG (1980). A família Cricetidae tem representantes viventes e extintos na Eurásia, África, Américas do Norte, Central e do Sul e nas Antilhas (REIG, 1984).

De acordo com HERSHKOVITZ (1972) os cricetídeos sul-americanos e os norte-americanos são classificados na família Muridae, subfamília Cricetidae nas tribos Sigmodontini (do Sul) e Peromyscini (do Norte). No entanto, REIG (1980) coloca os roedores cricetídeos da família Cricetidae, nas subfamílias Sigmodontinae (sul-americanos) e Neotominae (norte-americanos).

No presente trabalho foi utilizado a classificação proposta por REIG (1980), ou seja, identificando os roedores cricetídeos sul-americanos como sigmodontíneos.

A subfamília Sigmodontinae apresenta, segundo REIG (1984) 51 gêneros e 249 espécies distribuídas em sete tribos: Oryzomyini, Ichthyomyini, Akodontini,

Scapteromyini, Wiedomyini, Phyllotini, Sigmodontini; e mais um grupo de espécies Sigmodontinae *incertae sedis*. De acordo ainda com esse autor, a tribo Oryzomyini corresponde a 44,2% das espécies, sendo a mais abundante com 13 gêneros; enquanto Akodontini (24,9%) tem 10 gêneros; e Phyllotini (18,1%) com 14 gêneros.

## 2.2 DISTRIBUIÇÃO E SISTEMÁTICA DO GÊNERO *Rhagomys*

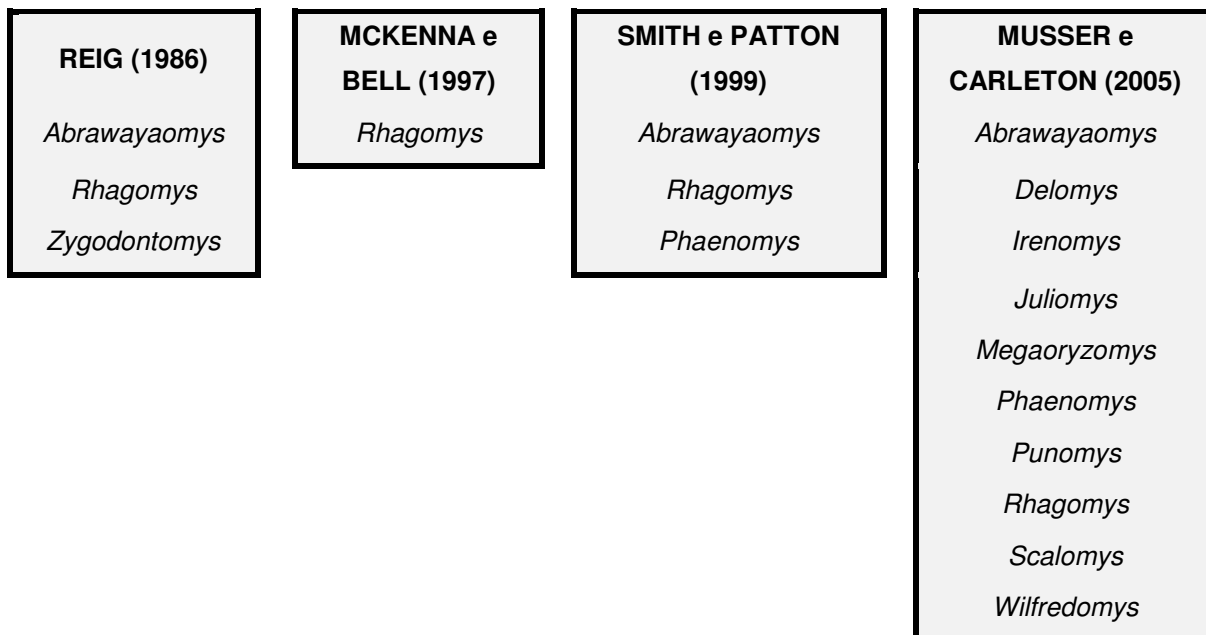
O gênero *Rhagomys* pertence à família Cricetidae e subfamília Sigmodontinae (REIG, 1977, 1981) porém, apresenta posição taxonômica bastante polêmica, tanto que THOMAS (1917) o identificou de uma maneira dúbia, relacionando-o com Oryzomyini (*Oryzomys* e *Oecomys*), e Thomasomyini (*Thomasomys* e *Delomys*) (PERCEQUILLO *et al.*, 2004).

Para REIG (1977), o gênero *Rhagomys* está entre os sigmodontinos sul-americanos que incluem formas primitivas, derivadas diretamente dos representantes extintos do Oligoceno e pertencentes à subfamília Cricetodontinae.

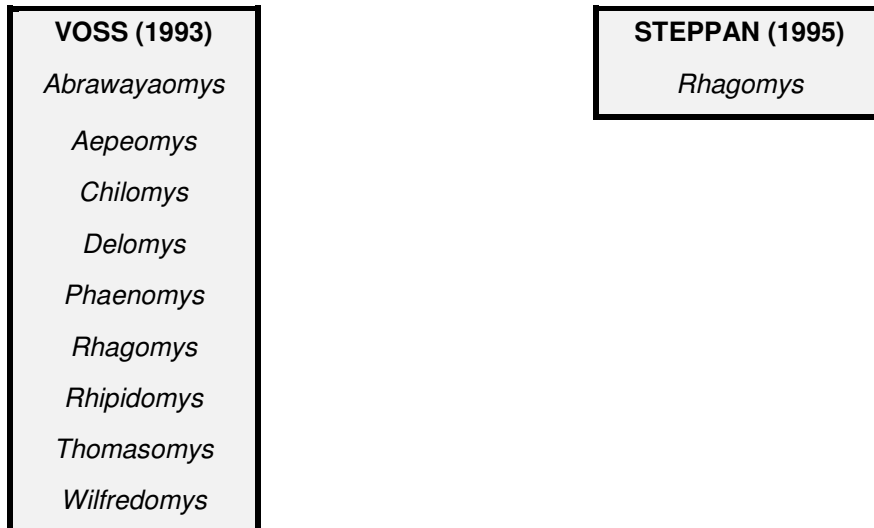
Portanto, o gênero *Rhagomys* é considerado Sigmodontinae *incertae sedis*, sem classificação tribal, por REIG (1980, 1984, 1986), EMMONS e FEER (1997), MCKENNA e BELL (1997), SMITH e PATTON (1999) e MUSSER e CARLETON (2005). VOSS (1993) e STEPPAN (1995) avaliam o gênero *Rhagomys* com sendo um *plesiomorphic Neotropical murid* (Figura 1).

FIGURA 1 – Gêneros de roedores Sigmodoninae na América do Sul identificados nos grupos “*incertae sedis*” e “*plesiomorphic Neotropical muroid*”.

***incertae sedis***



***plesiomorphic Neotropical muroid***



FONTE: modificações de SMITH e PATTON (1999), MUSSER e CARLETON (2005) e PACHECO (2003).

Por outro lado, os trabalhos de PACHECO (2003), D’ELÍA *et al.* (2006) e D’ELÍA *et al.* (2007) posicionam *Rhagomys* próximo aos gêneros da tribo Thomasomyini (Figura 2).

FIGURA 2 – Relação de *Rhagomys* com gêneros Sigmodoninae na América do Sul da tribo Thomasomyini.

a) PACHECO (2003)

Tribo Thomasomyini
<i>Abrawayaomys</i>
<i>Aepeomys</i>
<i>Chilomys</i>
<i>Delomys</i>
<i>Juliomys</i>
<i>Phaenomys</i>
<i>Rhagomys</i>
<i>Rhipidomys</i>
<i>Thomasomys</i>
<i>Erioryzomys</i>
<i>Inomys</i>
<i>Wiedomys</i>
<i>Wilfredomys</i>
<i>Rhipidomys</i>
<i>Thomasomys</i>
<i>Wilfredomys</i>

b) D'ELÍA *et al.* (2007)

Tribo Thomasomyini
<i>Aepeomys</i>
<i>Chilomys</i>
<i>Rhagomys</i>
<i>Rhipidomys</i>
<i>Thomasomys</i>

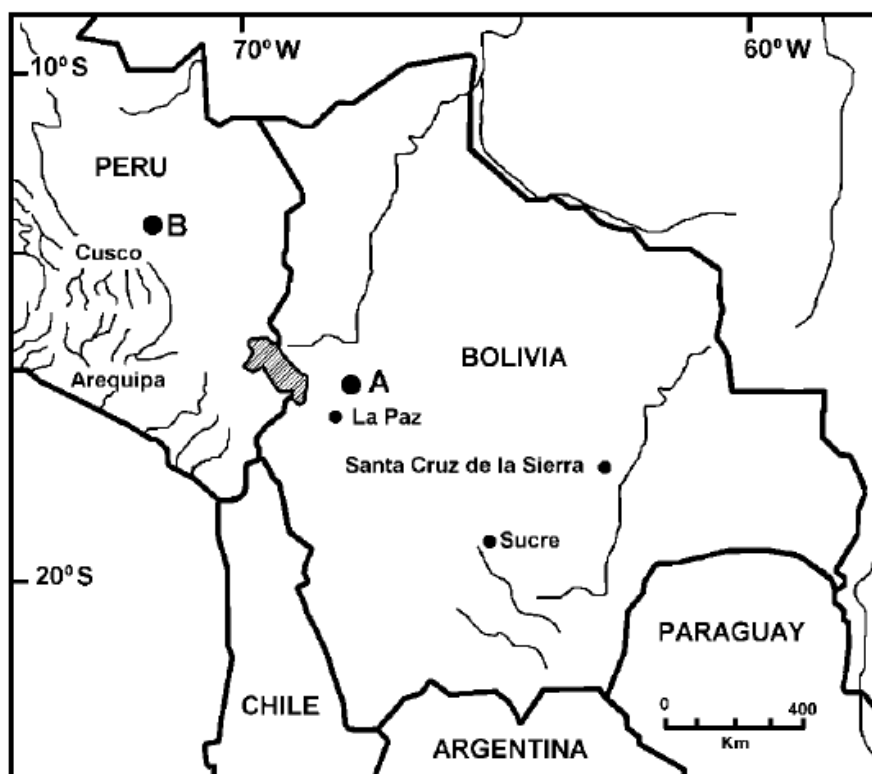
FONTE: PACHECO (2003) e D'ELÍA *et al.* (2007).

Até o momento foram descritas duas espécies para o gênero *Rhagomys*: *R. rufescens* e *R. longilingua*. A primeira delas, a partir de uma fêmea (holótipo) coletada no Rio de Janeiro, sudeste do Brasil, que foi identificada originalmente como *Hesperomys rufescens* (THOMAS, 1886). Posteriormente, THOMAS (1917) a partir de um outro exemplar de localidade desconhecida, descreveu o gênero *Rhagomys* para inclusão de *Hesperomys rufescens* (PERCEQUILLO *et al.*, 2004).

A espécie *Rhagomys longilingua* tem distribuição no Peru e Bolívia (Mapa 1), além do macho (holótipo), também foi coletada uma fêmea na localidade-tipo Manu Biosphere Reserve, Paucartambo, Perú (LUNA e PATTERSON, 2003). A distribuição geográfica desta espécie estende-se também à Bolívia, com a coleta de uma fêmea no Parque Nacional y Area de Manejo Integral Cotapata, La Paz, conforme descrição de VILLALPANDO *et al.* (2006).



MAPA 1 – Localidades em que a espécie *Rhagomys longilingua* foi amostrada no Peru e Bolívia.



**Legenda:** A: Bajo Hornuni no Parque Nacional y Area de Manejo Integral Cotapata, La Paz, Bolívia. B: Localidade-tipo de *Rhagomys longilingua*, em Manu Biosphere Reserve, Paucartambo, Perú. FONTE: VILLALPANDO *et al.* (2006).

A espécie *Rhagomys rufescens*, endêmica da Floresta Atlântica do Sul e Sudeste do Brasil, com registros de um número reduzido de indivíduos (23), apresenta uma distribuição que se estende a vários estados brasileiros: Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Santa Catarina (MOOJEN, 1952; EMMONS e FEER, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999; NOWAK, 1999; PERCEQUILLO *et al.*, 2004; PINHEIRO *et al.*, 2004; METZGER *et al.*, 2006; PARDINI e UMETZU, 2006; STEINER-SOUZA *et al.*, 2008) (Tabela 1) (Mapa 2).

TABELA 1 – Número de indivíduos da espécie *Rhagomys rufescens* coletados em várias localidades do Brasil.

Números de Coleção	N	LOCALIDADE	AUTORES
BMNH 86.2.8.5 (fêmea) (holótipo)	1	B RJ	Percequillo <i>et al.</i> , 2004 <sup>F</sup>
BMNH 48.5.6.13 (fêmea)	1	B B	Percequillo <i>et al.</i> , 2004 <sup>F</sup>
MN 66056 (fêmea)	1	Mata do Paraíso Viçosa - MG	Percequillo <i>et al.</i> , 2004
MZUSP 33889 <sup>A</sup> MZUSP 33890 <sup>A</sup>	2	Retiro Branco Poços de Caldas - MG	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008 <sup>D</sup>
MN 65545 (fêmea)	1	Parque Estadual Serra do Mar – Núcleo Picinguaba Ubatuba - SP	Pinheiro <i>et al.</i> , 2004
A	2	Reserva Florestal do Morro Grande (RFMG) Cotia - SP	Metzger <i>et al.</i> , 2006 Pardini e Umetzu 2006
A	2	Próximo ao Parque Estadual de Intervalos (PEI) Ribeirão Grande - SP	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008 <sup>E</sup>
A	1	Próximo a Reserva Florestal do Morro Grande (RFMG) Ibiúna - SP Caucaia do Alto - SP	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008 <sup>E</sup>
MZUSP 31952 <sup>A</sup>	1	Reserva Estadual Itapetinga <sup>B</sup> Atibaia - SP	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008
A	1	Próximo a Estação Ecológica de Santa Lúcia Santa Teresa - ES	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008 <sup>C</sup>
FURB 9620, 9861, 9887, 9921, 9949, 12010, 12157 (macho) FURB 9908, 12005, 12009 (fêmea)	10	Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia – Mono Indaial - SC	Steiner-Souza <i>et al.</i> , 2008

**Legenda:** A – Indivíduo com o sexo e/ou número de coleção não determinados.

B – Local de coleta não preciso (Percequillo *et al.*, 2004).

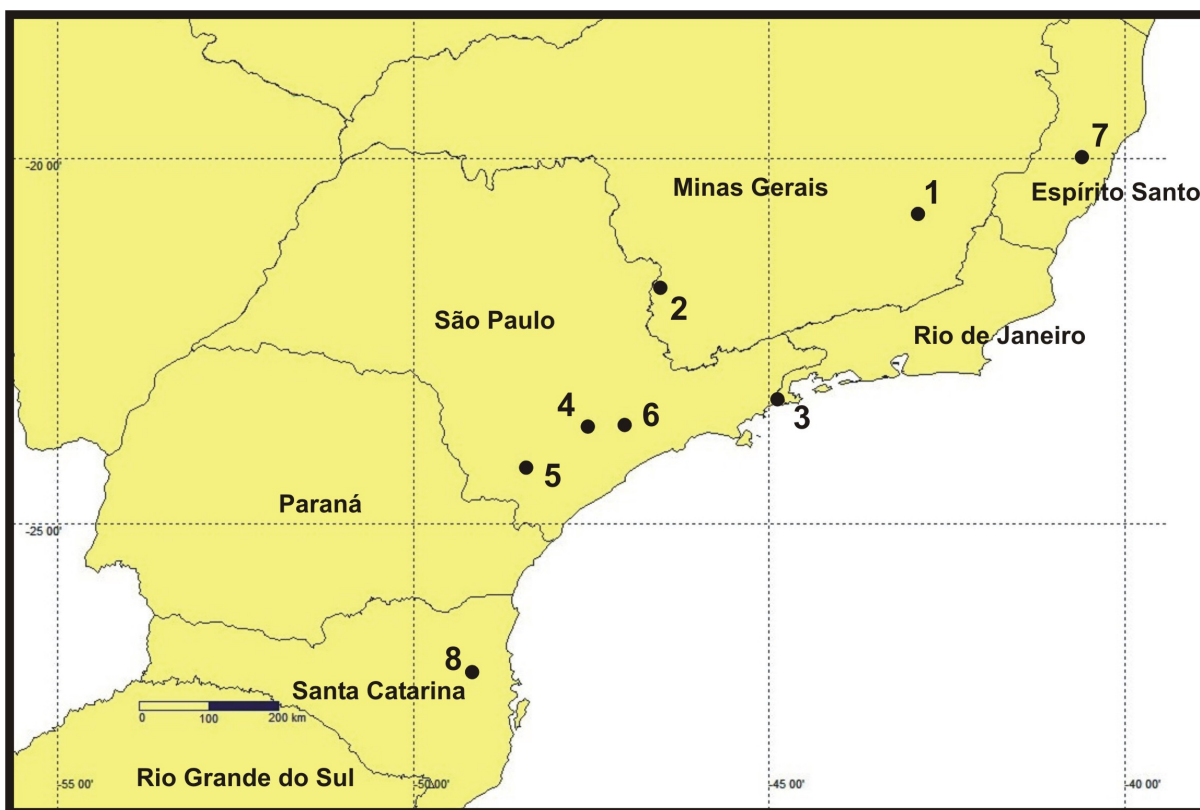
C – Dados cedidos por M. Passamani (Steiner-Souza *et al.*, 2008).

D – Dados cedidos por C. Monteiro-Leonel (Steiner-Souza *et al.*, 2008).

E – Dados cedidos por A. A. Bueno e R. Pardini (Steiner-Souza *et al.*, 2008).

F – Indivíduos obtidos por Oldfield Thomas.

MAPA 2 – Localidades em que a espécie *Rhagomys rufescens* foi amostrada nos estados do Brasil.



**Legenda:** Identificação das localidades (conforme Tabela 1):

- 1 – Mata do Paraíso (Viçosa, MG).
  - 2 – Retiro Branco (Poços de Caldas, MG).
  - 3 – Parque Estadual Serra do Mar – Núcleo Picinguaba (Ubatuba, SP).
  - 4 – Reserva Florestal do Morro Grande (RFMG) (Cotia, SP).
  - 5 – Próximo ao Parque Estadual de Intervalos (PEI) (Ribeirão Grande, SP).
  - 6 – Próximo a Reserva Florestal do Morro Grande (RFMG) (Ibiúna e Caucaia do Alto, SP).
  - 7 – Próximo a Estação Ecológica de Santa Lúcia (Santa Teresa, ES).
  - 8 – Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia (PNMNG) – Mono (Indaial, SC).
- Localidades citadas na Tabela 1 que não foram mostradas no mapa por não apresentarem coordenadas precisas:
- a) Indivíduos BMNH 86.2.8.5 e BMNH 48.5.6.13 obtidos por Oldfield Thomas no estado do Rio de Janeiro;
  - b) Indivíduo MZUSP 31952 coletado na Reserva Estadual Itapetinga (Atibaia, SP).

Como é verificado na Tabela 1, os dois indivíduos obtidos por Oldfield Thomas não apresentam locais de coleta precisos, assim, não trazem dados referentes ao habitat da espécie (PERCEQUILLO *et al.*, 2004).

No estado de Minas Gerais, o registro de *Rhagomys rufescens* foi na região de Mata do Paraíso, município de Viçosa, em formação vegetal denominada Floresta Tropical Semidecidual (Floresta Atlântica) com domínio de *Melinis minutiflora* (Poaceae) (PERCEQUILLO *et al.*, 2004). STEINER-SOUZA *et al.* (2008) cita registro para Poços de Caldas, localidade Retiro Branco, sendo a área caracterizada por ser

de transição entre Floresta Semidecidual (Floresta Atlântica) e Cerrado, onde ocorreu grande impacto antrópico, e se apresenta em estágio de recuperação. O local da coleta não apresenta dossel contínuo, com um estrato arbóreo denso, formado por árvores jovens e bambus. Os registros mencionados por EISENBERG e REDFORD (1999) para o estado de Minas Gerais são baseados em dois indivíduos machos coletados pelo Serviço de Estudos e Pesquisas da Febre Amarela Silvestre (SEPFA), do Ministério da Educação e Saúde do Brasil e a International Health Division of The Rockefeller Foundation em Além Paraíba e Passos, Minas Gerais. PERCEQUILLO *et al.* (2004) analisando esses espécimes, perceberam que se trata da espécie *Euryoryzomys russatus*. Por esta razão estes registros não constam na Tabela 1.

O primeiro registro para São Paulo foi no Parque Estadual Serra do Mar (Núcleo Picinguaba) em Ubatuba, que se caracteriza pela transição entre Restinga e Floresta Ombrófila Densa (PINHEIRO *et al.*, 2004). Outros registros são citados à Reserva Florestal do Morro Grande (RFMG), município de Cotia, por METZGER *et al.* (2006) e PARDINI e UMETZU (2006). STEINER-SOUZA *et al.* (2008) registraram mais duas localidades para o estado: uma delas próximo a RFMG, em Ibiúna e Caucaia do Alto; e a outra, em floresta contínua, próxima ao Parque Estadual de Intervales (PEI), em Ribeirão Grande. As localidades RFMG e PEI apresentam áreas com floresta secundária madura que sofreram corte intenso e seletivo, com altitude variando entre 800-1000m. No município de Atibaia (SP) Reserva Estadual Itapetinga foi registrado um indivíduo, sendo que as coordenadas do local de coleta não foram informadas (STEINER-SOUZA *et al.*, 2008).

A espécie *Rhagomys rufescens* foi registrada no estado do Espírito Santo coletada próximo à Estação Ecológica de Santa Lúcia, município de Santa Teresa, em área com Floresta Atlântica em bom estado de conservação e a altitude entre 795-873m (STEINER-SOUZA *et al.*, 2008).

Os registros ao estado de Santa Catarina apresentam a maior série coletada da espécie (dez exemplares), todos no Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia, localidade Mono, município de Indaial, que é uma área de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica), com um alto grau de regeneração e situado a uma altitude de 650m (STEINER-SOUZA *et al.*, 2008).

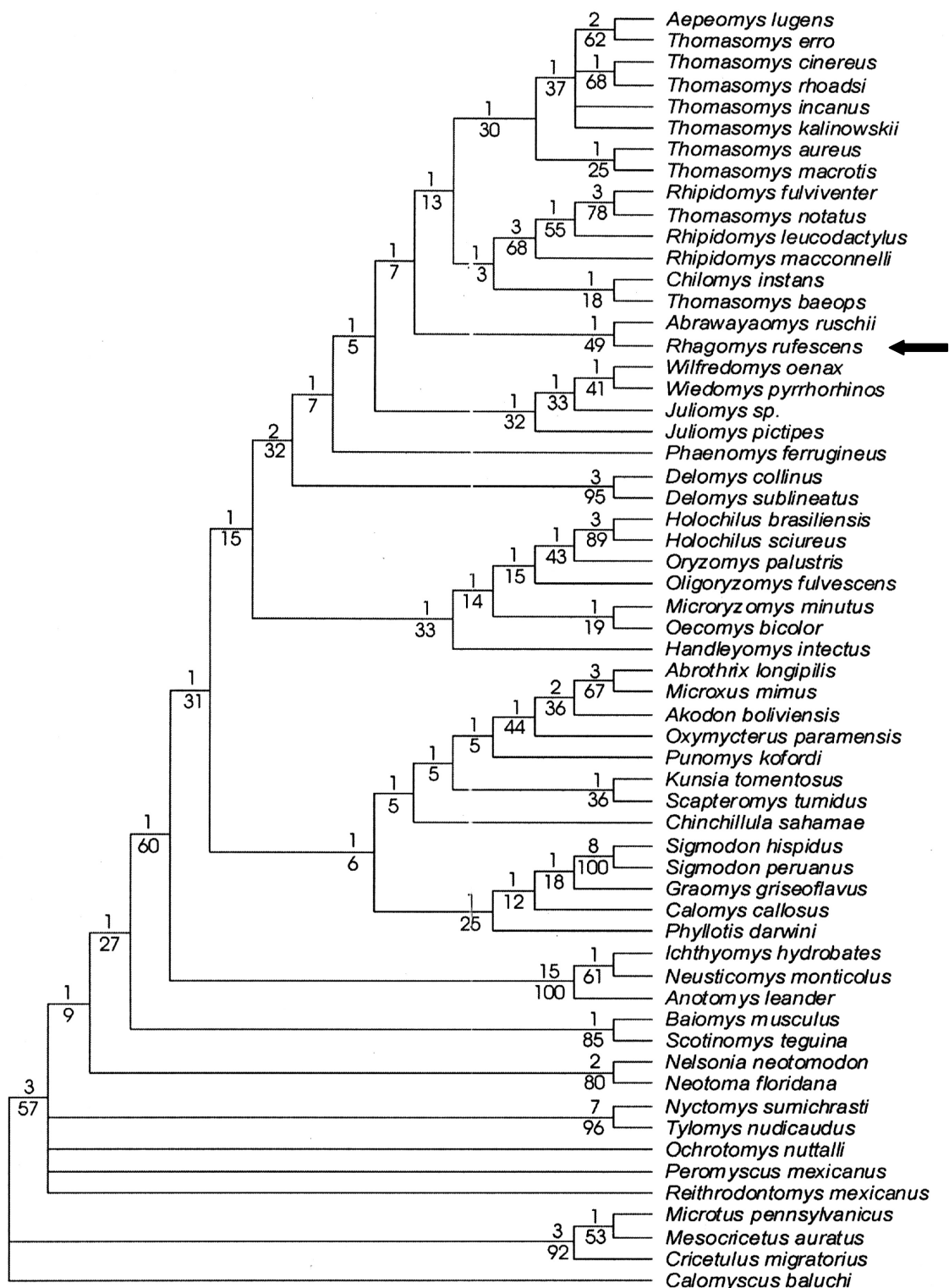
A espécie *Rhagomys rufescens* é considerada próximo de ameaçada pela IUCN (International Union for Conservation of Nature), por ter seu habitat

fragmentado e estar distribuída em poucas localidades (GEISE *et al.*, 2008), estando na Lista dos Mamíferos Ameaçados de Extinção do Brasil (MMA, 2009).

Devido ao pequeno número de indivíduos amostrados até o momento, há uma escassez de trabalhos referentes a estudos filogenéticos envolvendo o gênero *Rhagomys* e outras espécies Sigmodontinae (PACHECO, 2003; PERCEQUILLO *et al.*, 2004; D'ELÍA *et al.*, 2006).

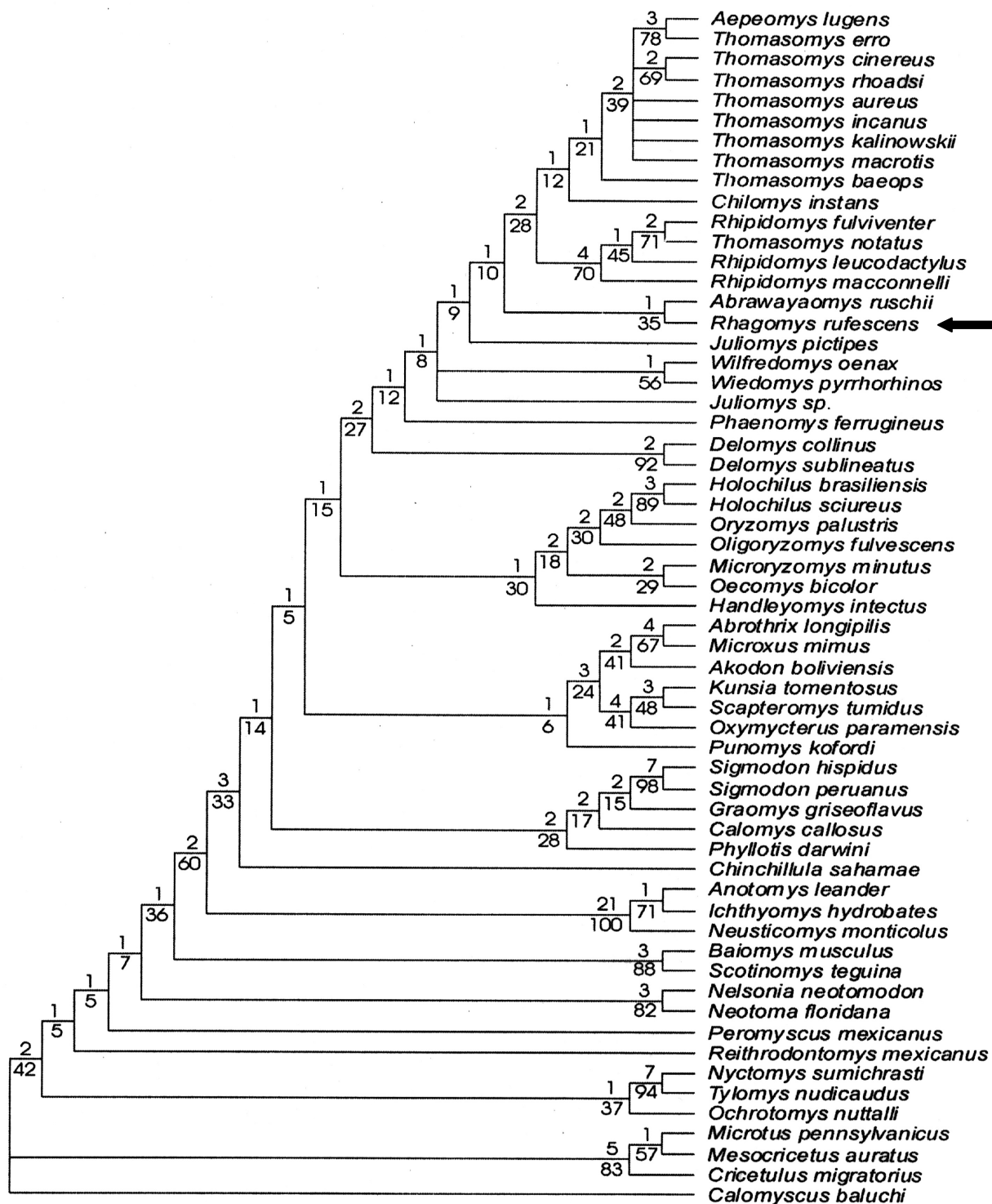
Assim, PACHECO (2003) estudando as relações filogenéticas de 59 espécies de 32 gêneros de Thomasomyini, incluindo *Rhagomys*, com base em 122 caracteres morfológicos examinados, sob dois ângulos distintos, verificou: pela primeira análise (com caracteres não-ordenados e com o mesmo peso) que a tribo mostrou-se monofilética, agrupando os gêneros *Delomys*, *Phaenomys*, *Juliomys*, *Wilfredomys*, *Wiedomys*, *Rhagomys*, *Abrawayaomys*, *Chilomys*, *Rhipidomys*, *Thomasomys* (incluindo *Erioryzomys* e *Inomys*), *Aepeomys*. *Rhagomys rufescens* aparece como um grupo irmão de *Abrawayaomys ruschii*, porém pouco suportado (*bootstrap* = 49% e *sb* = 1) (Figura 3); já na segunda análise (com 50 caracteres ordenados), *Rhagomys* e *Abrawayaomys* aparecem como grupo irmão dos thomasomyine “Andinos” (*Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*), com *bootstrap* = 10% e *sb* = 1 (Figura 4).

FIGURA 3 – Relação filogenética de *Rhagomys rufescens* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parcimônia com caracteres não-ordenados e pesos iguais.



**Legenda:** Árvore consensual (NP = 759, IC = 0.285, IR = 0.594). Valores de *bootstrap* são mostrados abaixo e valores de bs acima dos nós. FONTE: PACHECO (2003).

FIGURA 4 – Relação filogenética de *Rhagomys rufescens* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parcimônia com caracteres ordenados e pesos diferentes.

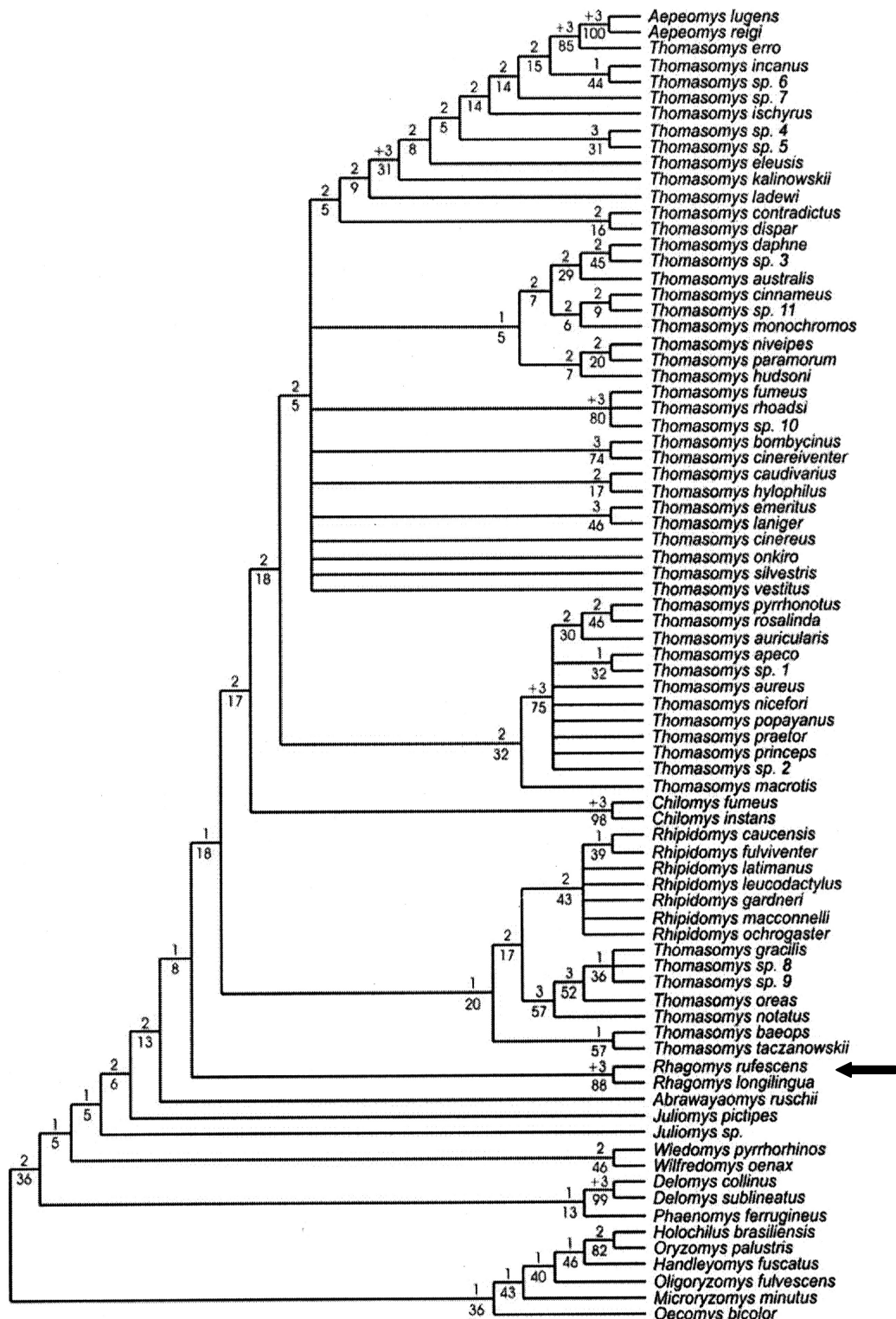


**Legenda:** Árvore consensual (NP = 837, IC = 0.264, IR = 0.609). Valores de *bootstrap* são mostrados abaixo e valores de bs acima dos nós. FONTE: PACHECO (2003).

Uma outra análise feita por PACHECO (2003) testou a monofilia do grupo de thomasomyine “Andinos”: *Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*. Nesta análise foram considerados 145 caracteres morfológicos de 80 taxa, sendo *Rhagomys rufecens* e *Rhagomys longilingua* inclusos no *out group*. A Figura 5 mostra a árvore gerada, considerando os caracteres ordenados e com pesos diferentes, onde a monofilia do grupo de thomasomyine “Andinos” é confirmada, porém com um *bootstrap* = 18% e *bs* = 1. *Rhagomys* é encontrado como um grupo irmão dos thomasomyine “Andinos”, entretanto com baixo suporte (*bootstrap* = 8% e *bs* = 1). A monofilia do gênero *Rhagomys* é suportada fortemente com *bootstrap* = 88% e *bs* = 3.



FIGURA 5 – Relação filogenética do grupo de thomasomyines “Andinos” e outros Sigmodontinae, usando análise de máxima-parcimônia com caracteres ordenados e pesos diferentes.



**Legenda:** Árvore consensual (NP = 1512, IC = 0.270, IR = 0.608). Valores de *bootstrap* são mostrados abaixo e valores de bs acima dos nós. FONTE: PACHECO (2003).

A “redescoberta” do gênero *Rhagomys* foi apresentada por PERCEQUILLO *et al.* (2004) onde utilizaram dados morfológicos para a comparação da espécie *Rhagomys rufescens* com diferentes espécies de vários gêneros de Sigmodontinae com distribuição na Floresta Atlântica: *Phaenomys ferrugineus*, *Juliomys rimofrons*, *Oecomys* sp., *Wilfredomys oenax* e *Rhipidomys* cf. *macrurus*, sendo em sua maioria consideradas *plesiomorphic Neotropical muroid* (VOSS, 1993) ou Sigmodontinae *incertae sedis* (REIG, 1984) (Tabela 2).

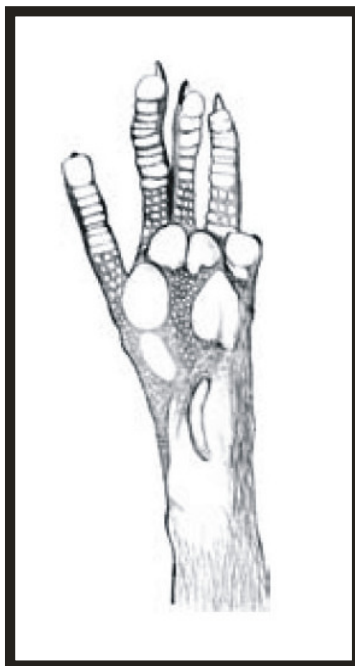
TABELA 2 – Espécies de roedores e números de coleção dos indivíduos comparados com *Rhagomys rufescens* através de dados morfológicos por PERCEQUILLO *et al.* (2004).

Espécie	Número de coleção
<i>Phaenomys ferrugineus</i>	MN 1992, MN 2124, MN 53614, BMNH 27.11.19.43, BMNH 48.5.28.1, BMNH 63.11.16.2
<i>Juliomys rimofrons</i>	MN 61647, 61646
<i>Oecomys</i> sp.	MN 29416, 10854, 10748, 9340
<i>Wilfredomys oenax</i>	MZUSP 348, 349, 1436
<i>Rhipidomys</i> cf. <i>macrurus</i>	MN 2357, 7044, 7045, 7047, 7048, 7049, 7050 7053, 2359, 11652, 11653, 11654

**Legenda:** As siglas e números das peles seguem os dados das instituições e coleções de mamíferos: MN – Museu Nacional (Rio de Janeiro, Brasil); BMNH – The Natural History Museum (Londres, Inglaterra); MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (São Paulo, Brasil). FONTE: PERCEQUILLO *et al.* (2004).

A análise morfológica externa comparativa entre *Rhagomys rufescens* e as outras espécies acima mencionadas, realizada por PERCEQUILLO *et al.* (2004) revelou que todas elas dispõem de uma pelagem macia, com o dorso avermelhado, acentuadamente diferenciado do ventre esbranquiçado. No entanto, conforme esses autores, *Rhagomys* se diferencia das outras (exceto de *Juliomys rimofrons*) por apresentar o dorso mais castanho. Por outro lado, *R. rufescens* mostra, em relação ao *J. rimofrons*, a pata anterior com o dígito I curto (Figura 6), com unhas ao invés de garras. Na avaliação dos crânios, segundo ainda esses autores, *R. rufescens* apresentou algumas características que a distingue das demais espécies e, também, outras compartilhadas com *Oecomys* e *Rhipidomys*. O esmalte, cobrindo quase que completamente os molares em indivíduos jovens, também representa uma notável condição dental visto na espécie.

FIGURA 6 – Vista ventral da pata anterior direita de *Rhagomys rufescens* (18mm), mostrando o primeiro dígito reduzido e as almofadas plantares e interdigitais.



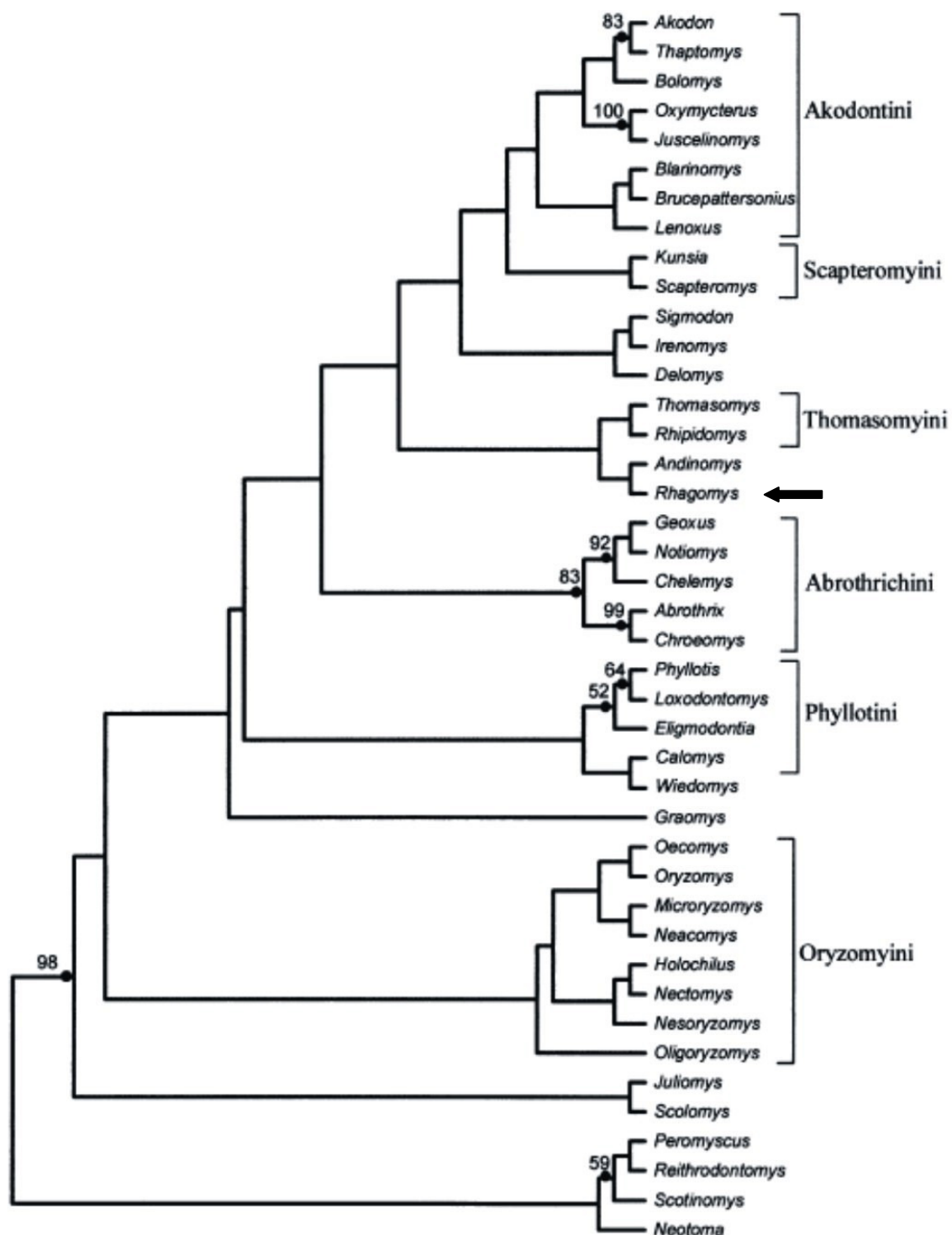
FONTE: PERCEQUILLO *et al.* (2004)

A espécie *Rhagomys rufescens* também foi avaliada filogeneticamente do ponto de vista molecular por PERCEQUILLO *et al.* (2004). Esta análise, fundamentada nas seqüências de DNA do gene citocromo b, disponibilizadas no GeneBank, tentou situá-la entre espécies Norte Americanas e Sul-Americanas da maioria das tribos de Sigmodontinae, resultando em duas árvores filogenéticas distintas, conforme o algoritmo utilizado: máxima parcimônia (MP) ou máxima-probabilidade (*maximum-likelihood*) (ML).

A análise em MP revelou uma árvore com 8979 passos (Figura 7), sendo apresentados os cinco maiores grupos dentro dos Sigmodontinae (Akodontini + Scapteromyini, Thomasomyini, Phyllotini (parte), Oryzomyini, Abrothrichini (SMITH e PATTON, 1999). O gênero *Rhagomys*, suportado por um baixo *bootstrap* (grau de confiabilidade, inferior a 50%), aparece associado a *Andinomys*, seguido do grupo *Thomasomys-Rhipidomys*. A outra topologia (Figura 8), obtida através da análise de ML, modelo HKY85 de evolução molecular, revelou uma árvore que difere da anterior (MP) no arranjo dos 5 grupos (tribos), e no valor de *bootstrap* em Oryzomyini (50%), Thomasomyini (60%) e para o grupo Akodontini + Scapteromyini (*bootstrap* < 50%). O gênero *Graomys* é incluído em Phyllotini, entretanto, *Andinomys*, *Irenomys*

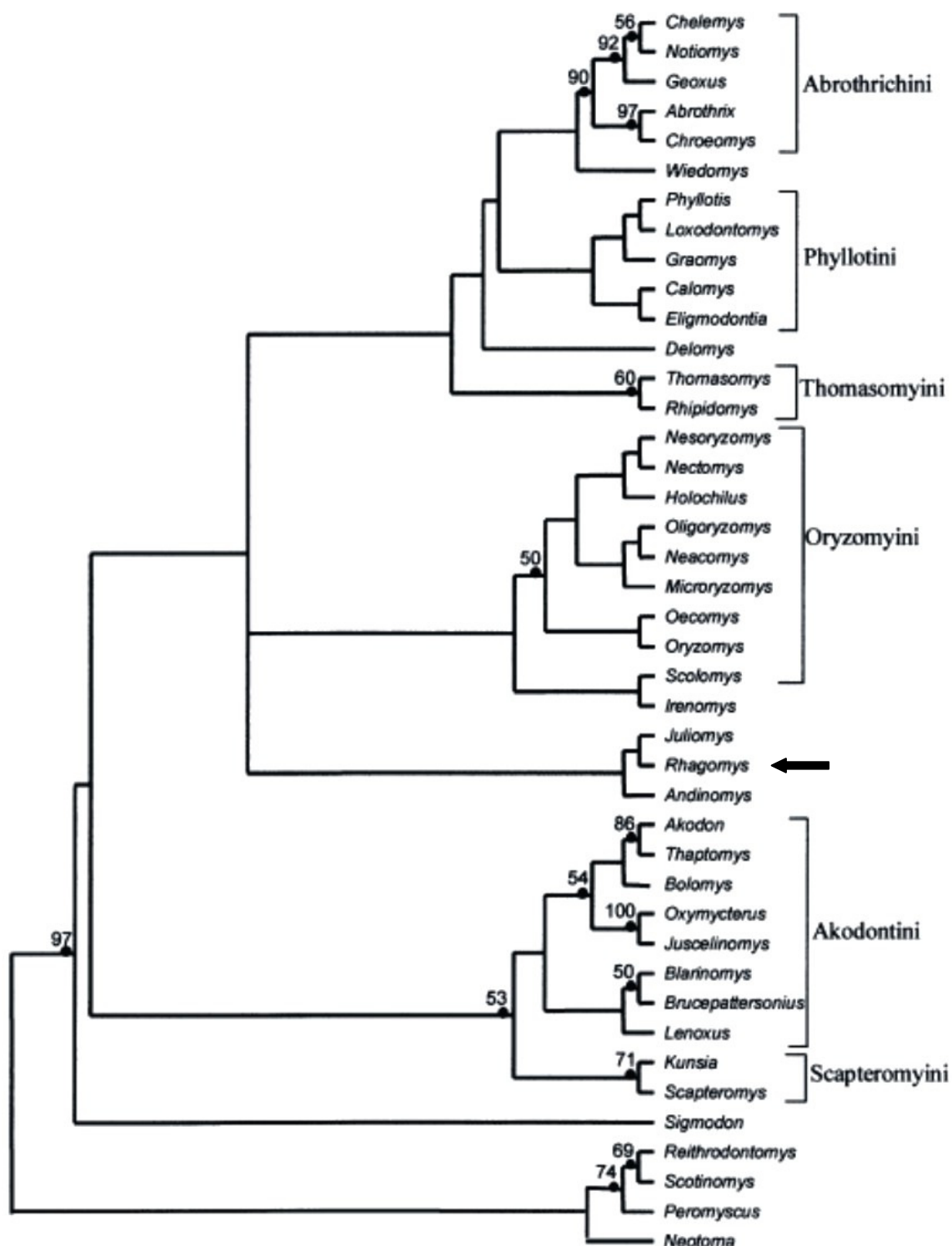
*Scolomys* não aparecem relacionados com nenhuma tribo. Neste caso, o gênero *Rhagomys* agrupa com *Juliomys*, seguido por *Andinomys*, apesar do baixo valor de confiança (*bootstrap* < 50%). Mesmo com a notável divergência de *Rhagomys* e esses gêneros, mutações com eventos de transversões (47-50 substituições) são menos frequentes que transições (85-118 substituições) em comparação com outros Sigmodontinae, sugerindo que o efeito de saturação nas sequências de DNA do citocromo b é baixo neste nível taxonômico (PERCEQUILLO *et al.*, 2004).

FIGURA 7 – Relação filogenética de *Rhagomys rufescens* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parcimônia.



**Legenda:** Esta foi a única árvore curta encontrada por pesquisa heurística com 100 sequencias ao acaso (com transversões ponderadas seis vezes mais que transições). (NP = 8979, IC = 0.2033, IR = 0.4029). Valores de *bootstrap* >50% são mostrados acima dos nós. FONTE: PERCEQUILLO *et al.* (2004).

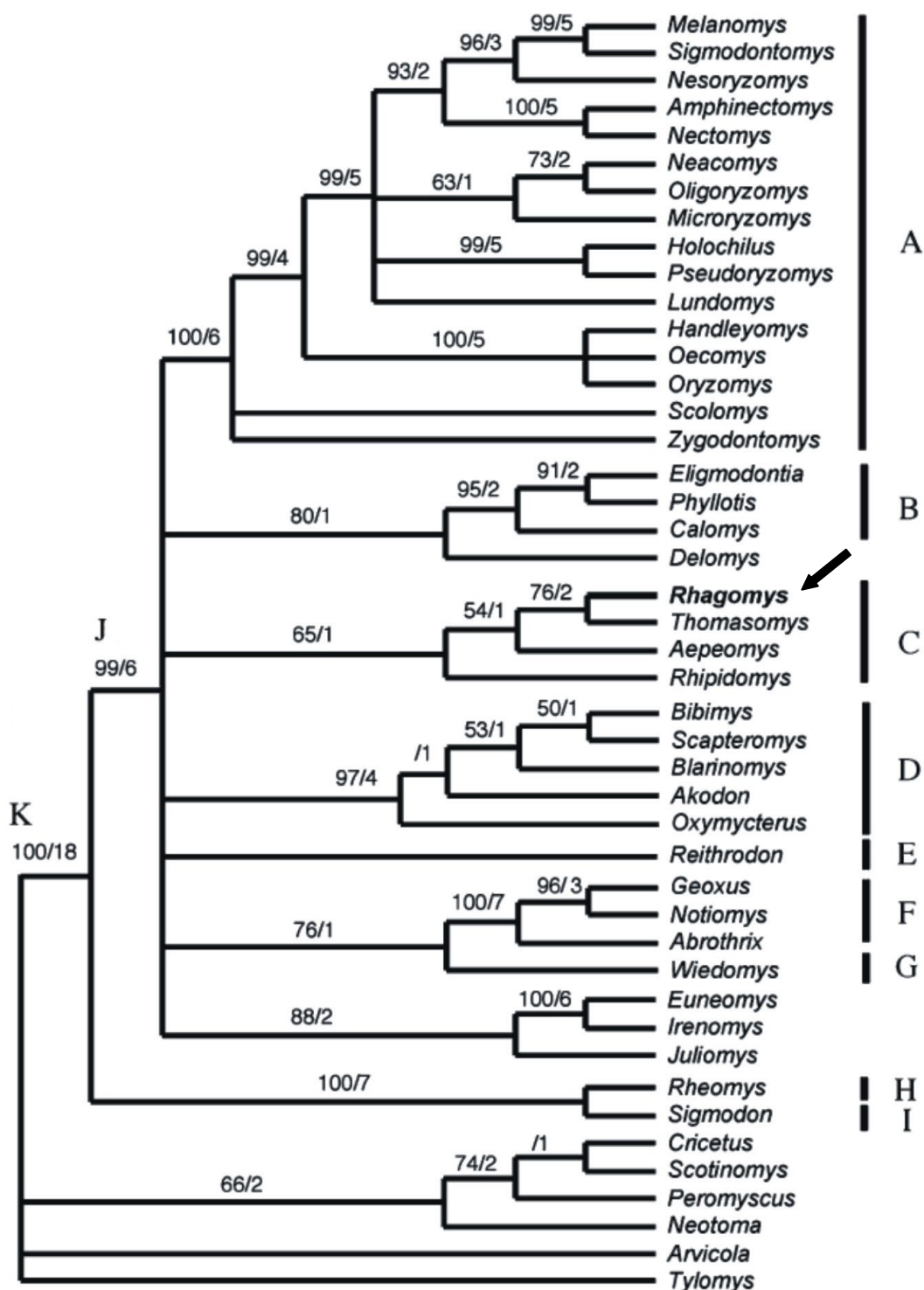
FIGURA 8 – Relação filogenética de *Rhagomys rufescens* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-probabilidade.



**Legenda:** Esta foi a melhor árvore obtida através do modelo HKY85, otimizando transições/transversões ( $k = 4.042118$ ) e distribuição gamma de substituição ( $\alpha = 0.255267$ ). Valores de *bootstrap* >50% são mostrados acima dos nós. FONTE: PERCEQUILLO *et al.* (2004).

Uma outra análise da filogenia do gênero *Rhagomys* foi feita por D'ELÍA *et al.* (2006) utilizando um fragmento de 1181pb de DNA do primeiro exon do gene nuclear IRBP (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein). Todas as sequencias foram depositas no GenBank. Nessa análise foi utilizado material de *Rhagomys longilingua*, comparado a 39 gêneros Sigmodontinae, representados por 39 espécies. Como *outgroup* foram utilizados representantes de linhagens primárias de Cricetidae: arvicolines (*Arvicola*), cricetines (*Cricetus*), baiomyines (*Scotinomys*), neotomines (*Neotoma*), peromyscines (*Peromyscus*) e tylomyines (*Tylomys*). Tal qual na análise de PERCEQUILLO *et al.* (2004) os autores também aplicaram dois tipos de algoritmos: MP (máxima parcimônia) e ML (máxima-probabilidade ou *maximum-likelihood*), obtendo, no entanto e diferentemente dos primeiros autores, resultados similares nas árvores consensuais. Desta forma, a árvore mais consensual em MP é mostrada na Figura 9, e define 29 nós pertencentes ao grupo Sigmodontinae, sendo o grau de confiabilidade (jk) desses nós muito variável. O grupo Sigmodontinae (nó K) aparece bem sustentado (jk = 100% / bs = 18). O gênero *Rhagomys* faz parte da tribo Thomasomyini, aparentemente como um grupo-irmão de *Thomasomys* (jk = 76% / bs = 2). Já, *Aepeomys* aparece como um grupo-irmão de *Rhagomys-Thomasomys* (jk = 54% / SB = 1), enquanto que *Rhipidomys* une-se ao clado composto por *Rhagomys* – *Thomasomys* – *Aepeomys* (jk = 65% sb = 1). Em relação à análise com os Sigmodontinae, agora com a aplicação do algoritmo ML (máxima-probabilidade ou *maximum-likelihood*), verifica-se uma similaridade bem acentuada àquela topografia resultante em MP (Figura 10). Analisando-se mais atentamente esta figura nota-se que *Rhagomys* aparece novamente como um grupo-irmão de *Thomasomys* (jk = 70%), em um clado maior que inclui *Aepeomys* e *Rhipidomys* (jk = 72%).

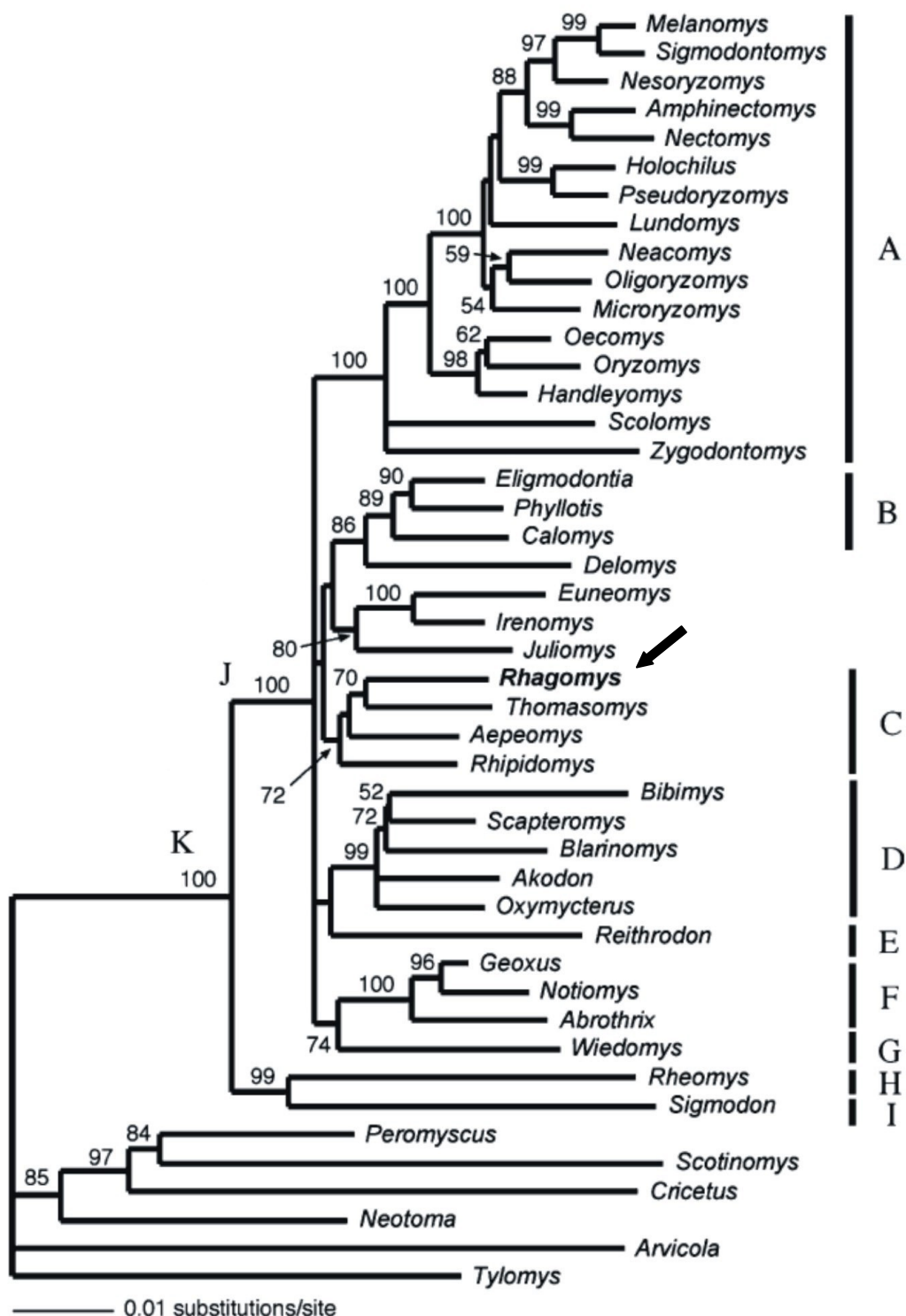
FIGURA 9 – Relação filogenética de *Rhagomys longilingua* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-parcimônia.



**Legenda:** Árvore consensual (NP = 945, IC = 0.620, IR = 0.598) Os números nos nós indicam o valor de jk (esquerda da barra) e valor de bs (direita). Somente os valores de JK >50% são mostrados. A, Oryzomyini; B, Phyllotini; C, Thomasomyini; D, Akodontini; E, Reithrodontini; F, abrotrichine group; G, Wiedomyini; H, Ichthyomyini; I, Sigmodontini; J, Oryzomyalia; K, Sigmodontinae. FONTE: D'ELIA et al. (2006).



FIGURA 10 – Relação filogenética de *Rhagomys longilingua* dentro de Sigmodontinae usando análise de máxima-probabilidade.



**Legenda:** Árvore resultante de análise de ML ( $-\ln L = 7002.63357$ ) das sequências do gene IRBP sob o modelo de substituição TVMef+I+G com os parâmetros: porcentagem de locais invariantes = 0,3328; distribuição gamma de substituição = 1.214. Os números nos nós indicam o valor de jk. Somente os valores de jk >50% são mostrados. A, Oryzomyini; B, Phyllotini; C, Thomasomyini; D, Akodontini; E, Reithrodontini; F, Abrotrichine group; G, Wiedomyini; H, Ichthyomyini; I, Sigmodontini; J, Oryzomyalia; K, Sigmodontinae. FONTE: D'ELIA *et al.* (2006).

O trabalho de LUNA-WONG (2002) relata que *Rhagomys longilingua* é um grupo-irmão de *Scolomys* (gênero Oryzomyini). E LUNA e PATTERSON (2003) atribuíram caracteres oryzomyines e thomasomyines ao gênero *Rhagomys*. No entanto, a monofilia do mesmo é confirmada tanto por LUNA e PATTERSON (2003) como por PACHECO (2003).

Em síntese, verifica-se que a posição sistemática de *Rhagomys*, entre os Sigmodontinae, varia conforme seja a forma de análise: *Rhagomys* próximo de *Abrawayaomys* ou como um grupo irmão dos thomasomyine “Andinos” (*Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*), pela análise morfológica (PACHECO, 2003); incerta, quando inferida através do citocromo b (PERCEQUILLO *et al.*, 2004); *Rhagomys* seria um grupo-irmão de *Thomasomys* próximo de *Aepeomys* e *Rhipidomys*, por meio do gene nuclear IRBP (D’ELÍA *et al.*, 2006).

A combinação das evidências morfológicas e moleculares sugere que o gênero *Rhagomys* possa constituir uma linhagem adicional divergente interposta entre diferentes grupos. Esse gênero pode ser considerado como representante de um grupo antigo que provavelmente habitou as floretas da América do Sul, acumulando mudanças genéticas que obscureceram as relações filogenéticas com os Sigmodontinae existentes (PERCEQUILLO *et al.*, 2004).

### 2.3 O ESTUDO DOS CROMOSSOMOS

As espécies de roedores apresentam, de um modo geral, uma ampla variabilidade cariotípica, consequência de rearranjos cromossômicos. Em alguns casos, a citogenética é uma ferramenta auxiliar essencial na identificação das espécies, assim como a análise dos cromossomos é de fundamental importância nos estudos de sistemática e taxonomia (JACKSON, 1970), e evolução (WHITE, 1978; KING, 1993).

Por outro lado, a posição filogenética de *Rhagomys* em Sigmodontinae não está bem esclarecida, sendo que a análise de dados morfológicos coloca o gênero como Thomasomyini (PACHECO, 2003), pelos estudos moleculares: o gênero tem posição incerta (citocromo b, PERCEQUILLO *et al.*, 2004), ou estaria entre os thomasomyiines (gene nuclear IRBP, D’ELÍA *et al.*, 2006).

Desta forma, considerando as proposições de que há uma tendência de *Rhagomys* se situar filogeneticamente entre os Thomasomyini, os achados cariotípicos observados nesta tribo demonstram uma ampla variação tanto no número de cromossomos (2n), de 20 a 82, como no de braços de autossomos (FNa), entre 34 e 114, conforme é mostrado na Tabela 3. Nesta, observa-se que entre os 47 citótipos, a maior frequência é de espécies com 2n = 44 (57,44%), com predominância dos cromossomos acrocêntricos, que é o padrão mais observado na maioria das espécies do gênero *Rhipidomys* e *Thomasomys*.

TABELA 3 – Cariótipos das espécies de roedores Thomasomyini com cariótipos determinados.

Espécies	2n	FNa	Autores
<i>Abrawayaomys ruschii</i>	58	-	Pereira <i>et al.</i> (2008)
<i>Aepeomys fuscatus</i>	54	62	Gardner e Patton (1976)
<i>Aepeomys lugens</i>	28	48	Aguilera <i>et al.</i> (2000)
<i>Aepeomys lugens</i>	44	46	Gómez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Aepeomys</i> sp.	44	46	Aguilera <i>et al.</i> (1994)
<i>Andinomy edax</i>	56	56	Spotorno <i>et al.</i> (2001)
<i>Delomys collinus</i>	82	86	Bonvicino e Geise (1995)
<i>Delomys dorsalis</i>	82	80	Zanchin <i>et al.</i> (1992b)
<i>Delomys sublineatus</i>	72	90	Zanchin <i>et al.</i> (1992b)
<i>Irenomys tarsalis</i>	64	98	Oneja <i>et al.</i> (2004)
<i>Juliomys ossitenuis</i>	20	36	Costa <i>et al.</i> (2007)
<i>Juliomys pictipes</i>	36	34	Bonvicino e Otazu (1999)
<i>Juliomys rimofrons</i>	20	34	Oliveira e Bonvicino (2002)
<i>Juliomys</i> sp.	32	48	Paresque <i>et al.</i> (2009)
<i>Phaenomys ferrugineus</i>	78	114	Bonvicino <i>et al.</i> (2001)
<i>Rhagomys rufescens</i>	36	50	<b>Presente trabalho</b>
<i>Rhipidomys cearanus</i>	44	-	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys latimanus</i>	44	48	Gardner e Patton (1976)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	44	48	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	44	48	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i> B	44	52	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys macrurus</i> .	44	48	Svartman e Almeida (1993)
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	44	74	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys mastacalis</i> A	44	80	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)

Espécies	2n	FNa	Autores
<i>Rhipidomys mastacalis</i> B	44	76	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Ripidomys</i> cf. <i>mastacalis</i>	44	52	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Rhipidomys nitela</i>	48	68	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys nitela</i>	48	67	Volobouev e Catzefflis (2000)
<i>Rhipidomys sclateri</i>	44	48	Aguilera <i>et al.</i> (1994)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	49	Svartman e Almeida (1993)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	48	Corrêa e Pessôa (1996)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	50	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys</i> sp. A	44	61	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Rhipidomys</i> sp. B	44	71,72	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Thomasomys andersoni</i>	44	42	Salazar-Bravo e Yates (2007)
<i>Thomasomys aureus</i>	44	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys kalinowskii</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys laniger</i>	42	40	Aguilera <i>et al.</i> (2000)
	40	40	Gómez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Thomasomys monochromos</i>	42	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys niveipes</i>	24	42	Gomez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Thomasomys notatus</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys</i> sp.	44	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys taczanowskii</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys vestitus</i>	44	42	Aguilera <i>et al.</i> (2000)
<i>Wiedomys cerradensis</i>	60	88	Gonçalves <i>et al.</i> (2005)
<i>Wiedomys pyrrhorhinos</i>	62	86	Maia e Langguth (1987)
<i>Wilfedomys oenax</i>	64	72	González e González (1998)

**Legenda:** 2n = número diplóide de cromossomos; FNa = número de braços dos cromossomos autossomos; - = dados não informados.

Até a presente data, dados citogenéticos de *Rhagomys rufescens* e/ou de *Rhagomys longilingua* não foram ainda publicados em revistas especializadas, assim, os valores de 2n e FNa constantes na Tabela 3, são pertinentes ao presente trabalho. Consideramos importante a análise e apresentação dos cariótipos das duas espécies de *Rhagomys*, pois podem auxiliar no esclarecimento das relações filogenéticas do gênero.

Vários estudos têm destacado a importância dos rearranjos cromossômicos na geração, não só da variabilidade cariotípica, como na possível diversidade de espécies. Dentre estes, sobressaem aqueles envolvidos no gênero *Ctenomys*

(Familia Octodontinae), onde as suas espécies apresentam uma radiação adaptativa acompanhada por uma variação na quantidade de heterocromatina constitutiva (GALLARDO, 1991). Além disso, rearranjos cromossômicos, tais como translocações Robertsonianas e fusões em tandem estão relacionados com a ecologia das espécies desse gênero (FREITAS, 1994, 1997, 2006).

Na tribo Thomasomyini a variabilidade cariotípica observada em várias de suas espécies tem sua origem atribuída aos rearranjos cromossômicos. Assim, em *Rhipidomys mastacalis*, os diferentes citótipos com FNa de 74 a 80 (ZANCHIN *et al.*, 1992a; ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2002), e 52 em *Rhipidomys cf. mastacalis* (SILVA e YONENAGA-YASSUDA, 1999), todos associados ao  $2n = 44$ , e a variabilidade no número de braços dos autossomos é consequência de rearranjos cromossômicos múltiplos envolvendo, principalmente, inversões pericêntricas e braços heterocromáticos (SILVA e YONENAGA-YASSUDA, 1999). Já em *Aepeomys lugens* ( $2n = 28$ , FNa = 48) e *Aepeomys* sp. ( $2n = 44$ , FNa = 46), baseando-se em bandeamento G, a diversidade cariotípica foi atribuída a eventos de translocações Robertsonianas (AGUILERA *et al.*, 2000).

As alterações cromossômicas, em particular as estruturais, são consideradas importantes na história evolutiva de uma espécie, principalmente nos mamíferos, em especial nos roedores, pois ao provocar isolamento reprodutivo podem, potencialmente, originar novas espécies (WHITE, 1978; REIG, 1981; KING, 1993). Neste caso, o isolamento reprodutivo está relacionado à heterose negativa, provocada pela ação de diversos rearranjos, tais como, fusões em tandem, translocações e inversões (KING, 1993).

Alguns modelos de especiação, tais como: saltacional (LEWIS, 1966), estasipátrico (WHITE, 1978) e canalização (BICKHAN e BAKER, 1979), consideram as variações cromossômicas como primordiais no processo de especiação. Para MAYR (1970), no entanto, as modificações cromossômicas podem até ocorrer, mas somente após o processo de especiação, este resultado de isolamento geográfico.

Os rearranjos estruturais também têm sido utilizados nas inferências filogenéticas entre espécies. Desta forma, BAKER *et al.* (1983), baseando-se nos padrões de bandas G de cromossomos inteiros ou parte deles, propuseram uma árvore filogenética para roedores da tribo Oryzomyini. Enquanto que KOOP *et al.* (1984), fundamentado igualmente em bandas G, apresentaram uma análise cladística de seis espécies de roedores das famílias Cricetidae e Muridae. Ao passo

que MODI (1987), empregando um sistema binário aos dados obtidos de bandeamento G e de rearranjos cromossômicos, analisou a relação filogenética de 22 espécies de roedores da família Arvicolidae. Com os mesmos objetivos, SBALQUEIRO (1989), comparando os padrões de bandeamento G, analisou as relações fenéticas e filogenéticas entre espécies de roedores cricetídeos das tribos Akodontini e Oryzomyini do Sul do Brasil.

Inúmeros trabalhos, tendo em vista a potencialidade informativa gerada, utilizaram, além do bandeamento G, a citogenética molecular, através das técnicas de FISH, e adaptações decorrentes, na tentativa de contribuir a um melhor esclarecimento das relações filogenéticas em diferentes grupos de mamíferos, destacando-se, entre outros, em Platyrrhini (Primates) (OLIVEIRA *et al.*, 2002; PIECZARKA *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2005), em Chiroptera (PIECZARKA *et al.*, 2005; AO *et al.*, 2007; FARIA *et al.*, 2007). HASS *et al.* (2008) utilizaram sondas de *Mus musculus* (Muridae) na comparação filogenética das espécies da tribo Akodontini (Cricetidae: Sigmodontinae). As análises através de FISH apresentam confiabilidade maior em relação ao bandeamento G, no entanto, em vários grupos de mamíferos ainda não foram obtidas sondas específicas para a utilização da técnica, sendo o caso da família Cricetidae composta pelos roedores americanos.

### 3. OBJETIVOS

Tendo em vista os problemas relacionados com a posição filogenética em que se encontra o gênero, além da inexistência de quaisquer dados citogenéticos, este trabalho tem por objetivo caracterizar cariotípicamente a espécie *Rhagomys rufescens* e verificar as suas implicações filogenéticas.

Para tal, pretendemos:

- Descrever o cariótipo desta espécie através dos padrões de bandeamento C, G e RON;
- Determinar os padrões de coloração com CMA<sub>3</sub>/DAPI nos cromossomos;
- Comparar cariotípicamente, através do padrões de banda G, com espécies afins, conforme proposições fundamentadas em estudos com caracteres morfológicos e marcadores moleculares, descritos na literatura pertinente, no sentido de situá-la filogeneticamente.

#### **OBSERVAÇÕES:**

As descrições detalhadas do material e métodos, cariogramas em bandeamento G das espécies analisadas e suporte ao estudo filogenético estão contidas nos Apêndices (página 109).

#### 4. CAPITULO 1

**Descrição do cariótipo de *Rhagomys rufescens* Thomas, 1886 (Rodentia, Sigmodontinae) de Floresta Atlântica do Sul do Brasil**

Submetido para  
**Genetics and Molecular Biology**  
ISSN 1415-4757



**Descrição do cariótipo de *Rhagomys rufescens* Thomas, 1886 (Rodentia, Sigmodontinae) de Floresta Atlântica do Sul do Brasil**

**André Filipe Testoni <sup>1,5</sup>, Sérgio Luiz Althoff <sup>2</sup>, André Paulo Nascimento <sup>3</sup>,  
Francisco Steiner-Souza <sup>4</sup> e Ives José Sbalqueiro <sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Citogenética Animal, Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Biologia Animal, Departamento de Ciências Naturais, Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

<sup>3</sup> Laboratório de Genética, Departamento de Ciências Naturais, Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>5</sup> Programa de Pós-Graduação em Genética, Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Palavras-chave: *Rhagomys rufescens*, Floresta Atlântica, cariótipo.

Autor: André Filipe Testoni

Rua Maranguapi, 91, 89012-060, Blumenau, SC, Brasil.

Telefone: (47) 3322.3029 (47) 9969.5051

E-mail: [andtestoni@gmail.com](mailto:andtestoni@gmail.com)

## Resumo

A espécie *Rhagomys rufescens* (Rodentia: Sigmodontinae) é endêmica da Floresta Atlântica e tem distribuição no Sul e Sudeste do Brasil. Este trabalho apresenta os primeiros dados citogenéticos da espécie: em coloração com Giemsa, CMA<sub>3</sub>/DAPI e padrões de bandeamentos cromossômicos (G, C e Ag-NOR). Os oito exemplares analisados apresentaram  $2n = 36$  e  $FNa = 50$ , com seis pares de cromossomos metacêntricos, dois pares submetacêntricos, e oito pares acrocêntricos. O cromossomo X e o Y revelaram-se acrocêntricos. A maioria dos cromossomos autossomos apresentaram bandas C na região pericentromérica, o cromossomo X, além da marcação na região pericentromérica, também mostrou um bloco de HC intersticial proximal e o cromossomo Y apresentou marcação na região pericentromérica. As RON's foram observadas na região centromérica nos cromossomos autossomos dos pares 4 (SM médio), 6 (M médio) e 8 (M pequeno), e telomérica no braço curto dos pares 10, 12 e 17 (todos A). Os fluorocromos CMA<sub>3</sub>/DAPI marcaram vários cromossomos autossomos, principalmente as regiões pericentroméricas dos pares 4 (SM), 6 (M) e todo o 8 (M). Para alguns autores o gênero *Rhagomys* é incluído na tribo Thomasomyini, no entanto, suas relações filogenéticas ainda são incertas.

## Abreviações

<b>2n</b>	número diploide de cromossomos
<b>Ag-RON</b>	técnica para identificar RON
<b>CBG</b>	técnica de bandeamento C
<b>CMA<sub>3</sub></b>	cromomicina A <sub>3</sub>
<b>DAPI</b>	4',6' di-amidino-2-fenil-indol
<b>FNa</b>	número de braços dos cromossomos autossomos
<b>GC</b>	guanina - citosina
<b>GTG</b>	técnica de bandamento G
<b>HC</b>	heterocromatina constitutiva
<b>IRBP</b>	Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein
<b>RON</b>	regiões organizadoras de nucléolo
<b>PNMNG</b>	Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia
<b>PNSI</b>	Parque Nacional da Serra do Itajaí

## Introdução

A subfamília Sigmodontinae (Wagner, 1843) é composta por cerca de 74 gêneros e 377 espécies (Musser e Carleton, 2005), e inclui predominantemente as espécies de roedores murídeos da América do Sul, entre elas, *Rhagomys rufescens*. Sendo endêmica da Floresta Atlântica do Sul e Sudeste do Brasil, *R. rufescens* apresenta registros nos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Santa Catarina (Moojen, 1952; Emmons e Feer, 1997; Eisenberg e Redford, 1999; Nowak, 1999; Percequillo *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2004; Metzger *et al.*, 2006; Pardini e Umetzu, 2006; Steiner-Souza *et al.*, 2008). Esta espécie foi registrada em Santa Catarina, coletada no PNMNG por Steiner-Souza *et al.* (2008), sendo este trabalho referente ao primeiro registro de *Rhagomys rufescens* na Região Sul do Brasil.

Originalmente incluída no gênero *Hesperomys*, *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886) foi descrita a partir de uma fêmea coletada no estado do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil. No início do século XX, Thomas obteve outro espécime sem localidade conhecida, que serviu para a posterior descrição do gênero *Rhagomys* (Thomas, 1917) (Percequillo *et al.*, 2004). Recentemente, *Rhagomys longilingua*, a segunda espécie do gênero, foi descrita em um macho coletado nas Florestas Montanas do Sul do Peru (Luna e Patterson, 2003), sendo posteriormente ampliada sua distribuição até a Bolívia (Villalpando *et al.*, 2006).

O gênero *Rhagomys* é considerado *incertae sedis* (Reig, 1980, 1984; McKenna e Bell, 1997; Smith e Patton, 1999; Musser e Carleton, 2005), ou como um “plesiomorphic Neotropical muroid” por Voss (1993) e Steppan (1995), não havendo uma posição tribal consensual (Percequillo *et al.*, 2004). No entanto, alguns autores

consideram o gênero *Rhagomys* um Thomasomyini (Pacheco, 2003; D'Elia *et al.* 2006; D'Elia *et al.* 2007).

Neste trabalho é apresentada a descrição do cariótipo de *Rhagomys rufescens* incluindo coloração dos cromossomos com Giemsa, CMA<sub>3</sub>/DAPI e padrões de bandeamentos cromossômicos (G, C e Ag-RON) de espécimes do Sul do Brasil.

## **Material e Métodos**

Foram analisados oito espécimes (cinco machos e três fêmeas) coletados no Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia (PNMNG), localidade "Mono" (27°02'59"S, 49°08'57"W), Estado de Santa Catarina, região Sul do Brasil. Atualmente este parque está inserido no Parque Nacional da Serra do Itajaí (PNSI) (Figura 1). Os roedores foram capturados em armadilhas de passagem *Havahart*® e *Shermann*® suspensas entre 2,0 e 2,5m de altura do solo, conforme metodologia adaptada de Kierulff *et al.* (1991).

Os cromossomos foram obtidos através de preparação direta de medula óssea, após tratamento com colchicina, segundo a técnica de Ford e Hamerton (1956), modificada por Sbalqueiro e Nascimento (1996). A análise em coloração convencional (Giemsa 5%), em pelo menos 20 metáfases por espécime, foi utilizada para observar o número de cromossomos (2n), de braços de autossomos (FNa) e a morfologia dos cromossomos. A técnica GTG utilizada foi a descrita por Seabright (1971), a CBG conforme Sumner (1972) e a Ag-RON segundo Howell and Black (1980). A coloração com fluorocromos foi obtida segundo a técnica de Schweizer (1976), com os fluorocromos cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>) e 4',6' di-amidino-2-fenil-indol (DAPI). Os cromossomos foram classificados como metacêntrico (M), submetacêntrico (SM) e acrocêntrico (A).

Os crânios e peles dos indivíduos coletadas foram depositados na Coleção Científica do Laboratório de Biologia Animal da Universidade Regional de Blumenau (FURB), Brasil.

## Resultados

A análise do cariótipo dos oito exemplares em coloração convencional revelou  $2n = 36$  e  $FNa = 50$  (Figura 2a), constituído por seis pares de cromossomos metacêntricos: três de tamanho grande (1 a 3), dois medianos (6 e 7) e o menor par do complemento (8); dois pares de submetacêntricos médios (4 e 5); e nove pares de acrocêntricos: sendo um de tamanho médio (9) e os demais pequenos (pares 10 a 17). O cromossomo X é um acrocêntrico médio (tamanho similar ao 9) e o Y é um acrocêntrico pequeno de tamanho equivalente ao par 10. A análise do padrão de bandeamento G permitiu a identificação de todos os pares de cromossomos (Figura 2b), incluindo o X que apresentou duas bandas na porção mediana do braço longo.

A análise de bandeamento C revelou a presença de HC na região pericentromérica da maioria dos cromossomos autossomos; o X mostrou, além da marcação na região pericentromérica, um bloco de HC intersticial proximal, e o cromossomo Y, uma marcação na região pericentromérica (Figura 3a).

As RON's foram observadas nas regiões centroméricas dos cromossomos autossomos dos pares 4 (SM médio), 6 (M médio) e 8 (M pequeno), e telomérica no braço curto dos pares 10, 12 e 17 (A) (Figura 3b).

Nas metáfases coradas com os fluorocromos  $CMA_3/DAPI$  foi possível observar regiões ricas em bases GC (Figura 3c). Vários cromossomos autossomos apresentaram sinais fortes, principalmente as regiões pericentroméricas dos pares 4 (SM), 6 (M) e todo o 8 (M).

## Discussão

O par cromossômico 9 e o sexual X de *Rhagomys rufescens*, em coloração convencional, podem ser confundidos, pois apresentam tamanho e morfologia semelhantes, entretanto, os bandeamentos C e G revelam padrões com diferenças significativas. Assim, o cromossomo X, no bandeamento C, apresentou duas marcações, uma centromérica, como no 9, e uma segunda, proximal no braço longo, ao passo que a banda G, revelou duas fortes marcações na porção mediana do braço longo, que é uma característica de cromossomo X acrocêntrico dos mamíferos (Pathak e Stock, 1974). Muitas espécies de roedores apresentam o cromossomo Y quase que completamente heterocromático (Sbalqueiro, 1989; Andrades-Miranda *et al.*, 2002), diferente do que se observa em *Rhagomys rufescens*, onde o cromossomo Y apresentou um pequeno bloco de HC na região pericentromérica. Os sinais mais fortes fluorescentes de CMA<sub>3</sub> foram visualizados na região pericentromérica dos pares 4, 6 e 8, coincidentes com o padrão de bandas Ag-RON observadas para estes cromossomos, sugerindo que estas regiões sejam ricas em bases GC.

As espécies *R. longilingua* e *R. rufescens* são consideradas monofiléticas, pelas análises morfológicas comparativas (Luna e Patterson, 2003; Pacheco 2003), apesar de apresentarem distribuição descontínua: no Peru e Bolívia; Sul e Sudeste do Brasil, respectivamente. Pacheco (2003) comparou *R. rufescens* com várias espécies Sigmodontinae, sugerindo uma relação filogenética com a tribo Thomasomyini: *Abrawayaomys*, *Aepeomys*, *Chilomys*, *Delomys*, *Juliomys*, *Phaenomys*, *Rhipidomys*, *Thomasomys* (incluindo *Erioryzomys* and *Inomys*), *Wiedomys* e *Wilfredomys*. Percequillo *et al.* (2004) verificaram que a posição de *Rhagomys rufescens* dentro de Sigmodontinae varia, conforme a forma de análise,

mostrando que o gênero apresenta posição filogenética incerta, quando inferida através de análise da variação de sequências de DNA do citocromo b. Em D'Elia *et al.* (2006), através de análise sequências de DNA do gene nuclear IRBP, é mostrado um agrupamento filogenético de *Rhagomys longilingua* com espécies Thomasomyini, aparentemente como um grupo irmão de *Thomasomys*, relacionado a *Aepeomys*; ou relacionado a *Thomasomys*, num clado maior que inclui *Aepeomys* e *Rhipidomys*.

Os dados citogenéticos das espécies Thomasomyini demonstram uma ampla variação tanto no  $2n = 20-82$  como no  $FNa = 34-114$  (Tabela 1), com uma maior frequência de espécies com  $2n=44$  (49%) e predominância de cromossomos acrocêntricos, que é o padrão mais observado na maioria das espécies do gênero *Rhipidomys* e *Thomasomys*, principalmente neste último. Por outro lado, *Rhagomys rufescens* apresentou  $2n = 36$  e  $FNa = 50$  com nove pares de cromossomos de dois braços, e oito pares de autossomos acrocêntricos

O grupo “Andino” Thomasomyini é representado por *Aepeomys*, *Chilomys*, *Rhipidomys* e *Thomasomys* e apresenta cariótipos variando entre 28 e 54 cromossomos, com predominância da forma acrocêntrica. Segundo Pacheco (2003), o gênero *Rhagomys* estaria relacionado à *Abrawayaomys* ( $2n = 58$ ), ou seria como um grupo basal dos Thomasomyini Andinos.

As espécies “thomasomyines” endêmicas de Floresta Atlântica: *Phaenomys ferrugineus* e as três de *Delomys* estariam relacionadas filogeneticamente, segundo Bonvicino *et al.* (2001). No entanto, as espécies do gênero *Juliomys*, que apresentam um número menor de cromossomos ( $2n = 20$  e  $36$ ) e braços autossomos ( $FNa = 30$  e  $36$ ), não estão estreitamente relacionadas ao grupo anterior (*Delomys* e *Phaenomys*). Segundo Bonvicino e Otazu (1999), *Juliomys*

*pictipes* compartilha, baseado no padrão de bandas G, pelo menos uma homeologia com os cariótipos de *Rhipidomys mastacalis* ( $2n = 44$ ,  $FNa = 74$ ) e *Rhipidomys* sp. ( $2n = 44$ ,  $FNa = 50$ ) descritos por Zanchin *et al.* (1992a).

O gênero *Rhagomys* ainda apresenta incerteza em sua relação filogenética com as outras espécies Sigmodontinae. Desta forma, segundo Luna-Wong (2002), *Rhagomys longilingua* poderia ser um grupo-irmão de *Scolomys* (gênero Oryzomyini), enquanto que Luna e Patterson (2003) consideraram os caracteres morfológicos que identificam o gênero *Rhagomys* como sendo oryzomyines e thomasomyines. A combinação das evidências morfológicas e moleculares sugere, segundo Percequillo *et al.* (2004), que *Rhagomys* poderia constituir uma linhagem divergente interposta entre mais de um grupo supragenérico e ser considerado representante de um taxon antepassado, provavelmente, habitante das florestas da América do Sul, acumulando mudanças genéticas que dificultam esclarecer suas relações filogenéticas com os Sigmodontinae atuais.

### Agradecimentos

Agradecimento à Dra. Iris Hass (UFPR) e Dr. Geraldo Moretto (FURB) pela leitura crítica do manuscrito, à Rafael Pasold e Esmeralda Davida Ferreira da Silva pelo auxílio em campo, à Guilherme Pereira Rabelo e Rafael Noletto pela ajuda em laboratório, ao IPAN (Instituto Parque das Nascentes) e IBAMA pelo suporte logístico nas coletas no Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia (PNMNG).



## Referências

- Aguilera M, Pérez-Zapata A, Achoa J and Soriano P (2000) Karyology of *Aepeomys* and *Thomasomys* (Rodentia: Muridae) from the Venezuelan Andes. *J Mamm* 8:52-58.
- Aguilera M, Pérez-Zapata M, Martino A, Barros MA and Patton J (1994) Karyosystematics of *Aepeomys* and *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae). *Acta Científica Venezolana* 48:247-248.
- Andrades-Miranda J, Oliveira LFB, Lima-Rosa CAV, Sana DA, Nunes AP and Mattevi MS (2002) Genetic studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. *Acta Theriologica* 47:125-135.
- Bonvicino CR and Geise L (1995) Taxonomic status of *Delomys dorsalis collinus* Thomas, 1917 (Rodentia, Cricetidae) and description of a new karyotype. *Mamm Biol* 60:124-127.
- Bonvicino CR and Otazu I (1999) The *Wilfredomys pictipes* (Rodentia: Sigmodontinae) karyotype with comments on the karyosystematics of Brazilian Thomasomyini. *Acta Theriologica* 44:329-332.
- Bonvicino CR, Oliveira JA, D'Andrea OS and Carvalho RW (2001) The endemic Atlantic Forest rodent *Phaenomys ferrugineus* (Thomas, 1894) (Sigmodontinae): new data on its morphology and karyology. *Boletim do Museu Nacional* 467:1-12.
- Corrêa MMO and Pessoa LM (1996) O cariótipo de *Rhipidomys* sp. (Rodentia: Cricetidae) do norte de Minas Gerais. *Anais do XXI Congresso Brasileiro de Zoologia*, Porto Alegre, p. 226.

- Costa LP, Pavan SE, Leite YLR and Fagundes V (2007) A new species of *Juliomys* (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) from the Atlantic forest of southeastern Brazil. *Zootaxa* 1463:21-37.
- D'Elia G, Luna L, Gonzalez EM and Patterson BD (2006) On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): An appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*. *Mol Phylogenet Evol* 38:558-564.
- D'Elia G, Pardiñas UFJ, Teta P e Patton JL (2007) Defination and diagnosis of new tribe os Sigmodontinae rodents (Cricetidae: Sigmodontinae), and a revised classification of the subfamily. *Gayana* 71:187-194.
- Eisenberg JF and Redford KH (1999) Mammals of the neotropics: The Central Neotropcs. Vol 3. University of Chicago Press, Chicago, 609 pp.
- Emmons LH and Feer F (1997) Neotropical rainforest mammals: A field guide. 2nd edition. University of Chicago Press, Chicago, 307 pp.
- Ford CE and Hamerton JL (1956) A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosome. *Stain Tech* 31:247-251.
- Gardner AL and Patton JL (1976) Karyotypic variation in oryzomyine rodents (Cricetidae) with comments on chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. *Occ Pap Mus Zool* 49:1-48.
- Gómez-Laverde M, Montenegro-Diaz O, Lopez-Arevalo H, Cadena A and Bueno ML (1997) Karyology, Morphology, and Ecology of *Thomasomys laniger* and *T. niveipes* (Rodentia) in Colombia. *J Mamm* 78:1282-1289.
- Gonçalves PR, Almeida FC and Bonvicino CR (2005) A new species of *Wiedomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazilian Cerrado. *Mamm Biol* 70:46-60.
- González EM and González S (1998) El cariótipo de *Wilfredomys oenax* (Thomas, 1928) (Rodentia, Sigmodontinae) con comentários sobre la evolución y la

posición taxonômica de Wilfredomys Avila Pires, 1960. Resúmenes Jornadas Argentinas de Mastozoología, p. 34.

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

Kierulff MC, Stalling JR and Sabato EL (1991) A method to capture the bamboo rat (*Kannabateomys amblyonyx*) in bamboo forests. *Mammalia* 55:633-635.

Luna L and Patterson B (2003) A remarkable new mouse (Muridae: Sigmodontinae) from southeastern Peru: with comments on the affinities of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886). *Fieldiana Zoology* 101:1- 24.

Luna-Wong LA (2002) A new genus and species of rodent from Peru (Muridae: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationships. MSc. Thesis. University of Illinois at Chicago.

Maia V and Langguth A (1987) Chromosomes of the brazilian cricetid rodent *Wiedomys pyrrhorinos* (Wied, 1821). *Braz J Gen* 10: 229-233.

McKenna MC and Bell SK (1997) Classification of mammals above the species level. Columbia University Press, New York, 640 pp.

Metzger JP, Alves LF, Pardini R, Dixo M, Nogueira AA, Negrão MFF, Montesen AC and Catharino ELM (2006) Características ecológicas e implicações para a conservação da Reserva Florestal do Morro Grande. *Biota Neotrop* 6.

Moojen J (1952) Os roedores do Brasil. Instituto Nacional do Livro e Biblioteca Científica Brasileira, Rio de Janeiro, 214 pp.

Musser GG and Carleton MD (2005) Family Cricetidae. In: Wilson DE e Reeder DM (eds) *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*.

2nd edition. Smithsonian Institution Press, Washington and London, pp 501-755.

Nowak RM (1999) Walker's Mammals of the World. Vol 2. 6nd edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1936 pp.

Ojeda AA, Ríos CA and Gallardo MH (2004) Chromosomal characterization of *Irenomys tarsalis* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae) J Neotrop Mammal 11:95-98.

Pacheco V (2003) Phylogenetic analyses of the Thomasomyini (Muroidea: Sigmodontinae) based on morphological data. Ph.D. dissertation, The City University of New York.

Pardini R and Umetsu F (2006) Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. Biota Neotrop. 6.

Pathack S and Stock AD (1974). The X chromosome of mammals: karyological homology as revealed by banding techniques. Genetics 78:703-714.

Percequillo AR, Gonçalves PR and Oliveira JA (2004) The rediscovery of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886), with a morphological redescription and comments on its systematic relationships based on morphological and molecular (cytochrome b) characters. Mamm Biol 69:238-257.

Pereira LG, Geise L, Cunha AA and Cerqueira R (2008) *Abrawayaomys ruschii* Cunha & Cruz, 1979 (Rodentia, Cricetidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Pap Avulsos Zool 48:33-40.

Pinheiro PS, Hartmann PA and Geise L (2004) New records of *Rhagomys rufescens* (Thomas 1886) (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) in Atlantic forest of southeastern Brazil. Zootaxa 431:1-11.

- Reig OA (1980) A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. *J Zoo* 192:257-281.
- Reig OA (1984) Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos Sulamericanos (Cricetidae, Sigmodontinae). *Braz J Gen* 8:333-365.
- Salazar-Bravo J and Yates TL (2007) A new species of *Thomasomys* (Cricetidae: Sigmodontinae) from central Bolivia. In: Kelt DA, Lessa EP, Salazar-Bravo J and Patton JL (eds.) *The Quintessential Naturalist: Honoring the Life and Legacy of Oliver P. Pearson*. University of California Publications in Zoology, pp 747-774.
- Sbalqueiro IJ and Nascimento AP (1996) Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Braz J Gen* 19:565-569.
- Sbalqueiro IJ (1989) Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da região Sul do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Schweizer D (1976) Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. *Chromosoma* 58:307-324.
- Seabright M (1971) A rapid technique for human chromosomes. *Lancet* 2:971-972.
- Silva MJJ and Yonenaga-Yassuda Y (1999) Autosomal and sex chromosomal polymorphisms with multiple rearrangements and a new karyotype in the genus *Rhipidomys* (Sigmodontinae, Rodentia). *Hereditas* 131:211-220.
- Smith MF and Patton JL (1999) Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: Evidence from Cytochrome b. *J Mamm* 6:89-128.

- Spotorno AE, Walker LI, Flores SV, Yevenes M, Marín JC and Zuleta C (2001) Evolución de los filotinos (Rodentia, Muridae) en los Andes del Sur. *Rev Chil Hist Nat* 74(1):151-166.
- Steiner-Souza F, Cordeiro-Estrela P, Percequillo AR, Testoni AF and Althoff SL (2008) New records of *Rhagomys rufescens* (Rodentia: Sigmodontinae) in the Atlantic forest of Brazil. *Zootaxa* 1824:28-34.
- Steppan SJ (1995) Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana Zoology* 80:1-112.
- Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl Cell Res* 75:304-306.
- Svartman M and Almeida EJC (1993) Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Brazil. *Caryologia* 46:219-225.
- Thomas O (1917) On small mammals from the Delta of the Parana. *Ann Mag Nat Hist* 8:96-97.
- Thomas O (1986) Description of a new brazilian species of *Hesperomys*. *Ann Mag Nat Hist* 5:250-251.
- Villalpando G, Vargas J and Salazar-Bravo J (2006) First record of *Rhagomys* (Mammalia: Sigmodontinae) in Bolivia. *Mastozool Neotrop* 13:43-149.
- Volobouev VT and Catzefflis FM (2000) Chromosome banding analysis (G-, R- and C bands) of *Rhipidomys nitela* and a review of the cytogenetics of *Rhipidomys* (Rodentia: Sigmodontinae) *Mammalia* 64:355-360.
- Voss RS (1993) A revision of the Brazilian muroid rodent genus *Delomys* with remarks on "Thomasomyine" characters. *Am Mus Novit* 3073:1-44.

Wagner JA (1843) Diagnosen neuer Arten brasilischer Handflugler. Arch Naturgesch 9:365-368.

Zanchin NIT, Langguth A and Mattevi MS (1992a) Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). J Mamm 73:120-122.

Zanchin NIT, Sbalqueiro IJ, Langguth A, Bossle RC, Castro EC, Oliveira LFB, Mattevi MS (1992b) Karyotype and species diversity of genus *Delomys* (Rodentia, Cricetidae) in Brazil. Acta Theriologica 37:163-169.

## Tabelas

**Tabela 1.** Descrição dos 2n e FNa das espécies de roedores da tribo Thomasomyini.

<b>Espécies</b>	<b>2n</b>	<b>FNa</b>	<b>Autores</b>
<b>Espécies Thomasomyini “Andinas”</b>			
<i>Aepeomys fuscatus</i>	54	62	Gardner e Patton (1976)
<i>Aepeomys lugens</i>	28	48	Aguilera <i>et al.</i> (2000)
<i>Aepeomys lugens</i>	44	46	Gómez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Aepeomys</i> sp.	44	46	Aguilera <i>et al.</i> (1994)
<i>Rhipidomys cearanus</i>	44	-	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys latimanus</i>	44	48	Gardner e Patton (1976)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	44	48	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	44	48	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys leucodactylus</i> cytotype 1	44	52	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys macrurus</i>	44	48	Svartman e Almeida (1993)
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	44	74	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys mastacalis</i> cytotype 1	44	80	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys mastacalis</i> cytotype 2	44	76	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys</i> cf. <i>mastacalis</i>	44	52	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Rhipidomys nitela</i>	48	68	Andrades-Miranda <i>et al.</i> (2002)
<i>Rhipidomys nitela</i>		67	Volobouev e Catzeflis (2000)
<i>Rhipidomys sclateri</i>	44	48	Aguilera <i>et al.</i> (1994)
<i>Rhipidomys cearanus</i>	44	-	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	49	Svartman e Almeida (1993)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	48	Corrêa e Pessôa (1996)
<i>Rhipidomys</i> sp.	44	50	Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Rhipidomys</i> sp. A	44	61	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Rhipidomys</i> sp. B	44	71,72	Silva e Yonenaga-Yassuda (1999)
<i>Thomasomys andersoni</i>	44	42	Salazar-Bravo e Yates (2007)
<i>Thomasomys aureus</i>	44	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys kalinowskii</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys laniger</i>	42	40	Aguilera <i>et al.</i> (2000)
	40	40	Gómez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Thomasomys monochromos</i>	42	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys niveipes</i>	24	42	Gomez-Laverde <i>et al.</i> (1997)
<i>Thomasomys notatus</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys</i> sp.	44	42	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys taczanowskii</i>	44	44	Gardner e Patton (1976)
<i>Thomasomys vestitus</i>	44	42	Aguilera <i>et al.</i> (2000)



---

**Espécies Thomasomyini endêmicas de Floresta Atlântica**


---

<i>Delomys collinus</i>	82	86	Bonvicino e Geise (1995)
<i>Delomys dorsalis</i>	82	80	Zanchin <i>et al.</i> (1992b)
<i>Delomys sublineatus</i>	72	90	Zanchin <i>et al.</i> (1992b)
<i>Phaenomys ferrugineus</i>	78	114	Bonvicino <i>et al.</i> (2001)
<i>Juliomys ossitenuis</i>	20	36	Costa <i>et al.</i> (2007)
<i>Juliomys pictipes</i>	36	34	Bonvicino e Otazu (1999)
<i>Juliomys rimofrons</i>	20	34	Oliveira e Bonvicino (2002)
<i>Wilfedomys oenax</i>	64	72	González e González (1998)

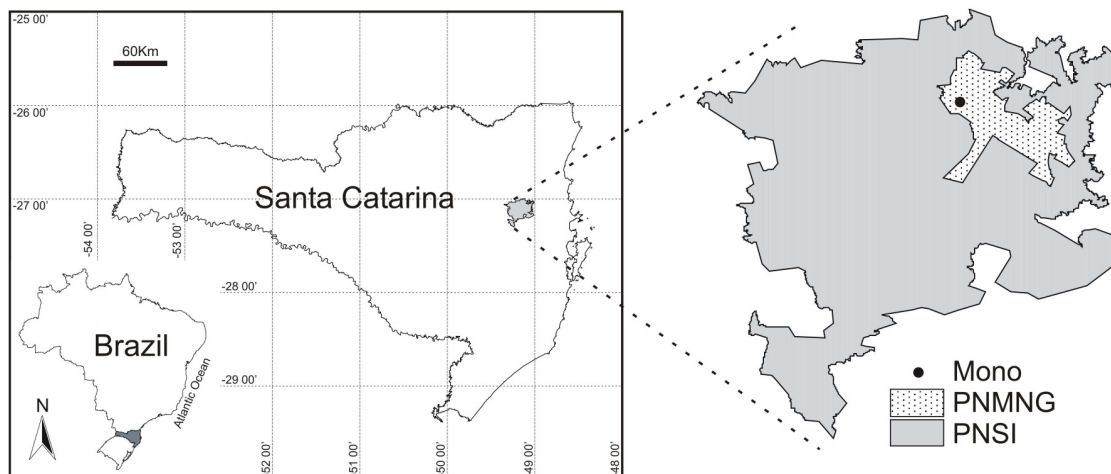
**Outras Espécies Thomasomyini**


---

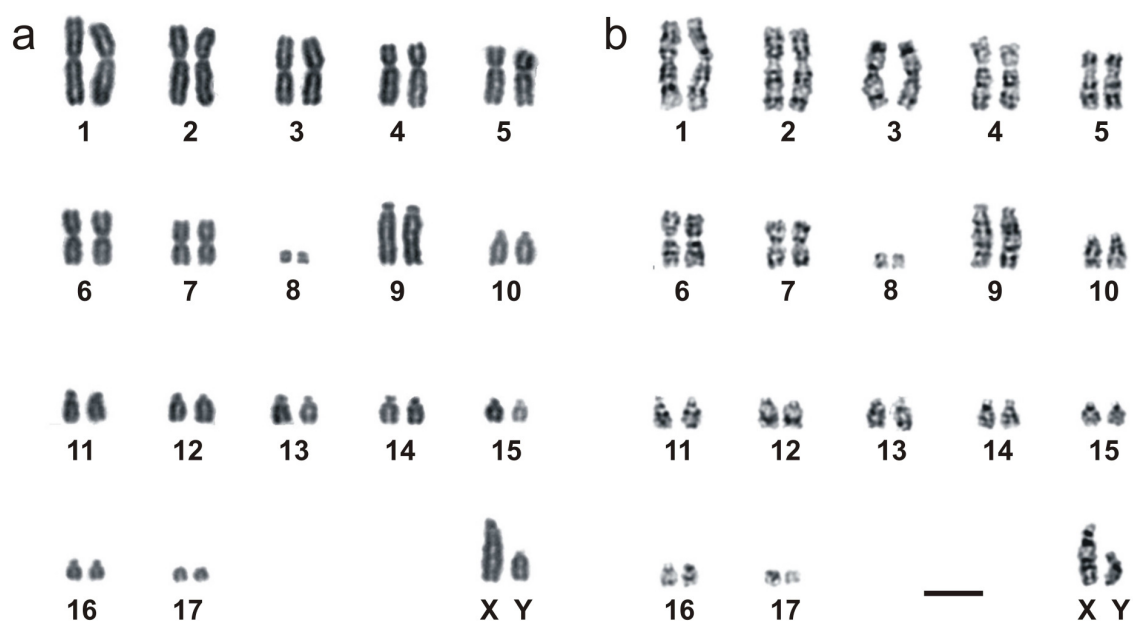
<i>Abrawayaomys ruschii</i>	58	-	Pereira <i>et al.</i> (2008)
<i>Andinomy edax</i>	56	56	Spotorno <i>et al.</i> (2001)
<i>Irenomys tarsalis</i>	64	98	Oneja <i>et al.</i> (2004)
<i>Rhagomys rufescens</i>	36	50	Este trabalho
<i>Wiedomys cerradensis</i>	60	88	Gonçalves <i>et al.</i> (2005)
<i>Wiedomys pyrrhorhinos</i>	62	86	Maia e Langguth (1987)

---

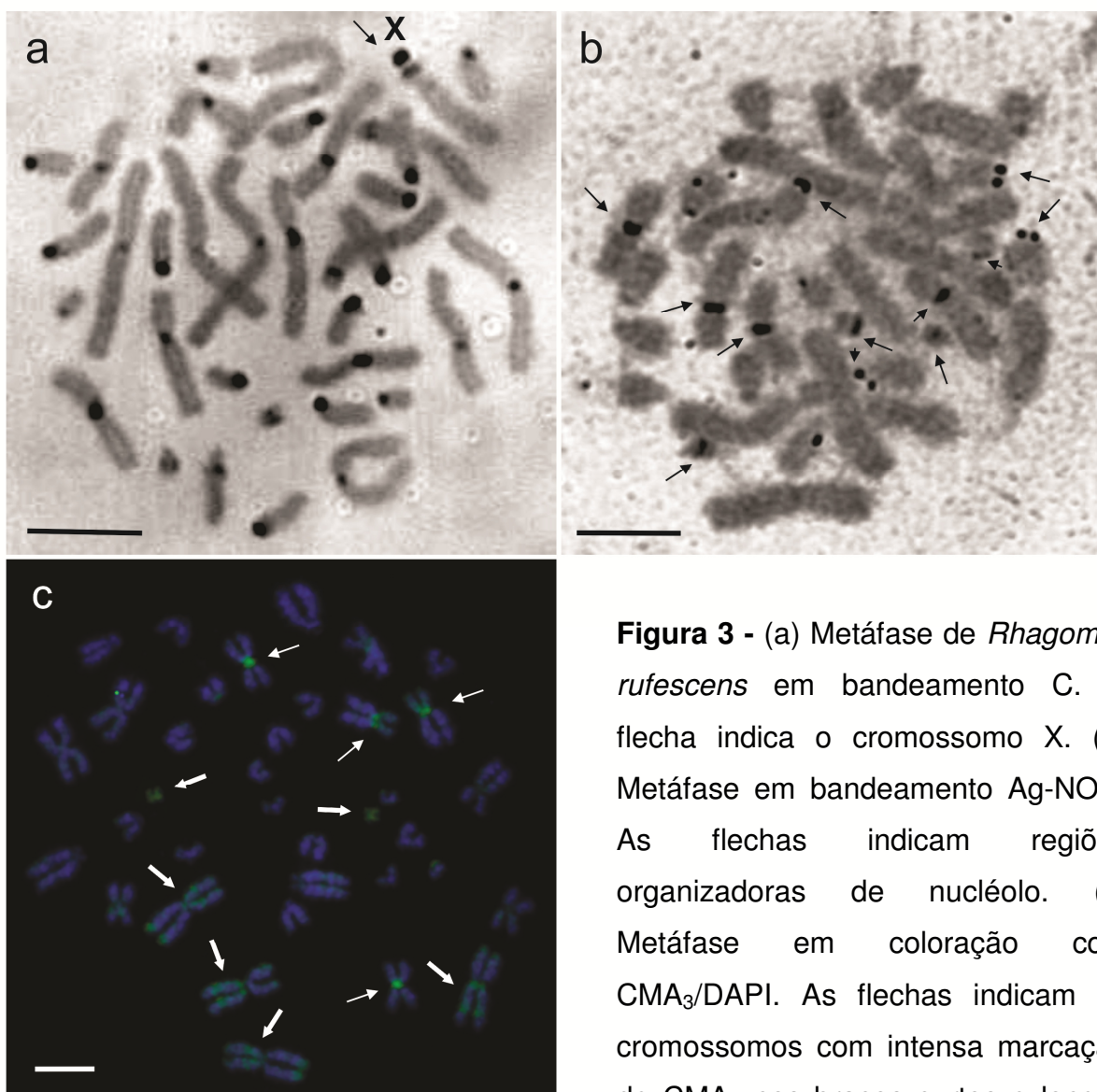
## Figuras



**Figura 1** - Localização do “Mono”, local de coleta dos espécimes no Parque Natural Nascentes do Garcia (PNMNG), inserido no Parque Nacional da Serra do Itajaí (PNSI), Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil.



**Figura 2** - (a) Cariograma de *Rhagomys rufescens* (macho) em coloração convencional com Giemsa. (b) Bandeamento G. Barra = 2,5μm.



**Figura 3** - (a) Metáfase de *Rhagomys rufescens* em bandeamento C. A flecha indica o cromossomo X. (b) Metáfase em bandeamento Ag-NOR. As flechas indicam regiões organizadoras de nucléolo. (c) Metáfase em coloração com CMA<sub>3</sub>/DAPI. As flechas indicam os cromossomos com intensa marcação de CMA<sub>3</sub> nos braços curtos e longos (flecha grossa) e região pericentromérica (flecha estreita). Barra = 2,5  $\mu$ m.

## 5. CAPITULO 2

**Filogenia cromossômica de *Rhagomys rufescens* (Rodentia, Sigmodontinae),  
por banda G, em relação a espécies das tribos Thomasomyini e Oryromyini**

Será submetido para

**Zootaxa**

ISSN 1175-5326 (Edição Impressa) e ISSN 1175-5334 (Edição Online)

FILOGENIA CROMOSSÔMICA DE *RHAGOMYS RUFESCENS*  
(RODENTIA, SIGMODONTINAE), POR BANDA G, EM RELAÇÃO A  
ESPÉCIES DAS TRIBOS THOMASOMYINI E ORYZOMYINI

André Filipe Testoni<sup>1,3</sup>

Iris Hass<sup>1</sup>

Guilherme Pereira Rabelo<sup>1,3</sup>

Sérgio Luiz Althoff<sup>2</sup>

Ives José Sbalqueiro<sup>1</sup>

1 – Laboratório de Citogenética Animal, Departamento de Genética, UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil.

2 – Laboratório de Biologia Animal, Departamento de Ciências Naturais, FURB, Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

3 – Programa de Pós-Graduação em Genética, Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

### Resumo

Este trabalho pretende, através da comparação dos cromossomos em bandamento G, situar filogeneticamente *Rhagomys rufescens* (RRU) ( $2n = 36$ ) entre duas espécies da tribo Thomasomyini: *Rhipidomys mastacalis* (RMA) ( $2n = 44$ ) e *Juliomys pictipes* (JPI) ( $2n = 36$ ), e duas de Oryzomyini: *Oecomys* sp. (OSP) ( $2n = 60$ ) e *Oligoryzomys flavescens* (OFL) ( $2n = 64$ ). A árvore mais parcimoniosa revelou uma forte consistência do agrupamento entre *R. rufescens* e *R. mastacalis* (*bootstrap* = 100%), espécie considerada do grupo dos Thomasomyini “Andinos”, que compreende também os gêneros *Thomasomys*, *Aepeomys* e *Chilomys*. A espécie *J. pictipes*, considerada Thomasomyini endêmica de Floresta Atlântica, que inclui ainda *Delomys*, *Phaenomys* e *Wilfredomys*, se associa com pouca consistência ao grupo *Rhagomys* – *Rhipidomys* (*bootstrap* inferior a 50%). O mesmo foi verificado entre as duas espécies da tribo Oryzomyini. O ramo *Oecomys* sp. e *O. flavescens* apresentou dez simpliomorfias, enquanto o grupo formado por RRU e RMA tem cinco sinapomorfias. Foram encontradas dez, seis e três apomorfias em RRU, RMA e JPI, respectivamente.

**Palavras-chave:** *Rhagomys rufescens*, homeologia cromossômica, banda G, Thomasomyini.

## Abreviações

2n	número diplóide de cromossomos	PAUP	Phylogenetic Analysis Using Parsimony
FNa	número de braços dos cromossomos autossomos	PNMNG	Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia
IRBP	Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein	PNSI	Parque Nacional da Serra do Itajaí
JPI	<i>Juliomys pictipes</i>	RMA	<i>Rhipidomys mastacalis</i>
OFL	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	RRU	<i>Rhagomys rufescens</i>
OSP	<i>Oecomys</i> sp.		

## Introdução

A espécie *Rhagomys rufescens* (Thomas 1886) é endêmica da Floresta Atlântica do Sul e Sudeste do Brasil, apresentando distribuição nos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Santa Catarina (Moojen 1952; Emmons & Feer 1997; Eisenberg & Redford 1999; Nowak 1999; Percequillo *et al.* 2004; Pinheiro *et al.* 2004; Metzger *et al.* 2006; Pardini & Umetzu 2006; Steiner-Souza *et al.* 2008).

As relações filogenéticas do gênero *Rhagomys* dentro de Sigmodontinae foram obtidas por Pacheco (2003), utilizando caracteres morfológicos, onde *Rhagomys* aparece como um grupo irmão de *Abrawayaomys* ou dos thomasomyine “Andinos” (*Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*). Na análise de Percequillo *et al.* (2004), através de sequências de DNA do gene citocromo b, *Rhagomys* apresenta posição filogenética incerta. E D’Elía *et al.* (2006), analisando sequências de DNA do primeiro exon do gene nuclear IRBP (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein), verificaram que o gênero *Rhagomys* seria um grupo-irmão de *Thomasomys* próximo de *Aepeomys* e *Rhipidomys*. Assim, nos estudos de Pacheco (2003) e D’Elía *et al.* (2006), *Rhagomys* é considerado um gênero Thomasomyini. Para Pacheco (2003) a tribo Thomasomyini é considerada monofilética e seria composta pelos gêneros *Delomys*, *Phaenomys*, *Juliomys*, *Wilfredomys*, *Wiedomys*, *Rhagomys*, *Abrawayaomys*, *Chilomys*, *Rhipidomys*, *Thomasomys* (incluindo *Erioryzomys* e *Inomys*) e *Aepeomys*.

Estudos cariotípicos comparativos, através dos padrões de bandamentos, principalmente bandas G, resultando em propostas filogenéticas foram realizados considerando diferentes grupos de roedores, destacando-se, os Arvicolidae (Modi 1987; Mazurok *et al.* 2001) e Cricetidae (Sigmodontinae) (Baker *et al.* 1983; Koop *et al.* 1984; Sbalqueiro 1989; Hass 1997; Geise *et al.* 1998; Volobouev & Aniskin 2000), no entanto, em nenhuma dessas análises foram consideradas espécies da tribo Thomasomyini. No presente trabalho, foi realizada uma comparação cromossômica, em banda G, da espécie *Rhagomys rufescens* com espécies Thomasomyini e Oryzomyini, submetidos os dados a uma análise parcimoniosa e heurística. O objetivo foi determinar uma posição filogenética, baseada em análise cromossômica, de *R. rufescens* em relação à espécies possivelmente correlatas mencionadas na literatura, tendo como grupo externo *Oligoryzomys flavescens*, considerada espécie basal dentre os roedores sul-americanos.

## **Material e Métodos**

### **Caracterização da amostra**

Foram utilizadas três espécies da tribo Thomasomyini: *Rhagomys rufescens* (RRU)  $2n = 36$  e  $NA = 50$ , *Rhipidomys mastacalis* (RMA)  $2n = 44$  e  $NA = 74$ , *Juliomys pictipes* (JPI)  $2n = 36$  e  $NA = 34$ ; e duas espécies da tribo Oryzomyini: *Oecomys* sp. (OSP)  $2n = 60$  e  $NA = 64$ , *Oligoryzomys flavescens* (OFL)  $2n = 64$  e  $NA = 66$ . Os indivíduos foram coletados nos estados do Paraná, Santa Catarina e Bahia (Tabela 1), sendo o cariógrama de *Rhipidomys mastacalis* obtido em Zanchin *et al.* (1992). Os cromossomos foram obtidos através de preparação direta de medula óssea, após tratamento com colchicina, segundo a técnica de Ford & Hamerton (1956), modificada por Sbalqueiro & Nascimento (1996). A técnica de bandeamento G utilizada foi descrita por Seabright (1971). As metáfases de RRU foram



digitalizadas em um fotomicroscópio Zeiss-Axiophot (Carl Zeiss) acoplado a um sistema de captura digital de imagens.

(TABELA 1)

### **Análise de Máxima Parcimônia (PAUP)**

Como caracteres, foram considerados os cromossomos de *Oligoryzomys flavescens* (OFL – grupo externo), sendo as homeologias cromossômicas das outras quatro espécies OSP, RRU, RMA e JPI identificadas a partir de OFL. A presença, ausência, mudança dos estados e não possibilidade de comparação dos caracteres formaram uma matriz de dados (Tabela 2). Considerou-se a mudança de estado 1 para um evento ou rearranjo, 2 para dois eventos ou rearranjos e 3 para três eventos ou rearranjos. Essa matriz foi submetida a análise de máxima parcimônia (PAUP\* v.4.0b10 software; Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford 2001), usando a opção de pesquisa exaustiva. Os caracteres foram avaliados desordenadamente e com o mesmo peso. Para a obtenção da estabilidade relativa dos nós utilizamos a estimativa de *bootstrap* com 1000 repetições.

(TABELA 2)

### **Resultados**

A comparação dos cromossomos com bandeamento G das cinco espécies analisadas forneceram 29 caracteres, sendo os 29 cromossomos de *Oligoryzomys flavescens*. Estes cromossomos foram comparados com os cromossomos das espécies OSP, RRU, RMA e JPI. As homeologias ocorreram em cromossomos por inteiro ou rearranjados, sendo possível a identificação de rearranjos, tais como fusões em tandem, fissões cêntricas, inversões

pericêntricas e deleções (Tabela 3). Verificou-se a existência de um único caráter compartilhado pelas cinco espécies, considerado plesiomórfico, sem a ocorrência de nenhum evento de alteração cromossômica: cromossomo OFL 11 correspondeu a OSP 11, RRU 12, RMA 19 e JPI 14 (Figura 1). Os cromossomos OFL 19 e OFL 21 não apresentaram homeologias nas quatro espécies comparadas, sendo desconsiderados na elaboração da matriz de dados.

(TABELA 3)

(FIGURA 1)

#### ***Oecomys* sp. (OSP)**

As espécies *Oligoryzomys flavescens* e *Oecomys* sp. compartilharam 27 homeologias cromossômicas inteiras (Figura 1), sendo elas: os cromossomos OFL 2–OSP 5, 3–6, 4–4, 5–1, 6–7, 7–8, 8–10, 9–9, 10–12, 11–11, 12–14, 13–18, 14–13, 15–15, 16–16, 17–19, 18–21, 20–22, 21–17, 23–25, 24–24, 25–20, 26–23, 27–26, 29–27, 30–28, 31–29. O cromossomo OFL 1 está representado pela fusão em tandem dos cromossomos OSP 2 e 3 e o cromossomo OFL 28 não foi identificado no kariograma de *Oecomys* sp..

#### ***Rhagomys rufescens* (RRU)**

Entre *Oligoryzomys flavescens* e *Rhagomys rufescens* foram encontrados 6 cromossomos inteiros homeólogos (Figura 1), sendo eles OFL 11–RRU 12, 12–11, 15–13, 16–15, 28–17 e 30–8. As demais homeologias apontaram a ocorrência de rearranjos cromossômicos. Assim, o cromossomo OFL 1 é representado pela fusão em tandem de RRU 14, 10 e 16. Vários eventos de fissão cêntrica foram observados: OFL 2–RRU 1q, 3–2q, 6–3p,

7–6q, 8–1p, 9–3q, 10–4q distal, 13–7p, 14–5q, 17–5p, 18–6p, 20–4p e 24–4q proximal. Identificamos uma deleção da parte proximal de RRU 9 homeóloga a OFL 5. Uma fissão cêntrica seguida de fusão em tandem foi observada em OFL 4–RRU 2p + 7q. Os cromossomos OFL 20, 23, 25, 26, 27, 29 e 31 não apresentaram homeologia no cariógrama de *Rhagomys rufescens*.

### ***Rhipidomys mastacalis* (RMA)**

As espécies *Oligoryzomys flavescens* e *Rhipidomys mastacalis* compartilharam 3 homeologias de cromossomos inteiros (Figura 1): OFL 10–RMA 18, 11–19 e 31–16. Os demais caracteres compartilhados envolveram fissões, inversões e deleções. As fissões cêntricas foram observadas nas homeologias OFL 3–RMA 17 distal, 15–1p e 17–9q. Também foi encontrada a fissão cêntrica seguida de fusão em tandem em OFL 1–1q + 17 proximal. As inversões pericêntricas ocorreram nos braços curtos de RMA, sendo: OFL 2–RMA 3, 4–2, 5–5 e 9–8. As deleções foram encontradas nas homeologias OFL 6–RMA 4q, 7–6q, 8–7q. Os cromossomos OFL 12, 13, 14, 16, 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30 não apresentaram homeologia no cariógrama de *Rhipidomys mastacalis*, e os cromossomos RMA 4p, 6p, 7p, 10, 9p, 12, 13, 14, 15, 20 e 21 não foram encontrados no cariógrama de *Oligoryzomys flavescens*.

### ***Juliomys pictipes* (JPI)**

Entre *Oligoryzomys flavescens* e *Juliomys pictipes* foram identificados 9 cromossomos inteiramente homeólogos (Figura 1): OFL 4–JPI 3, 6–4, 7–5, 8–9, 9–13, 10–15, 11–14, 13–16 e 15–17. As fusões em tandem foram observadas em: OFL 1–JPI 1 + 6, 2–2 + 12, 3–7 + 11 e 5–8 + 10. Os cromossomos OFL 12, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 e 31 não foram observados no cariógrama de *Juliomys pictipes*.

### **Análise filogenética das espécies**

Entre os 29 caracteres que compõem a matriz, 12 foram considerados constantes, 12 variáveis e não informativos na parcimônia e 5 informativos para obtenção da parcimônia. A árvore mais parcimoniosa com 25 passos apresentou Índice de Consistência (IC) = 1.000 e Índice de Retenção (RI) = 1.000 (Figura 2). A árvore revelou a espécie *Oecomys* sp. agrupada com *Oligoryzomys flavescens* (grupo externo), sendo espécies da tribo Orizomyini. As espécies Thomasomyini: RRU, RMA e JPI foram agrupadas em um clado, sendo um subgrupo formado por RRU e RMA com *bootstrap* de 100%. A espécie *Juliomys pictipes* foi relacionada com o grupo *Rhagomys* – *Rhipidomys*, no entanto, apresentou baixa consistência no ramo (*bootstrap* < 50%).

(FIGURA 2)

Os estados de vários caracteres foram compartilhados por um clado, ou ainda, foram particulares de uma espécie, sendo verificadas apomorfias, sinapomorfias e simplesiomorfias (Figura 3). Os estados dos caracteres 5<sup>0</sup>, 14<sup>0</sup>, 17<sup>0</sup>, 19<sup>0</sup>, 20<sup>0</sup>, 21<sup>0</sup>, 22<sup>0</sup>, 23<sup>0</sup>, 24<sup>0</sup>, 25<sup>0</sup>, 27<sup>0</sup> foram compartilhados por OFL e OSP, considerados simplesiomorfias. A única simplesiomorfia compartilhada pelas cinco espécies é o caráter 11, onde OFL 11 corresponde a OSP 11, RRU 12, RMA 19 e JPI 14.

As espécies RRU e RMA compartilham os estados dos caracteres 6<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo RRU 3 e deleção do braço RMA 4p), 7<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo RRU 6 e deleção do braço RMA 6p), 8<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo RRU 1 e deleção do braço RMA 7p), 9<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo RRU 3 e inversão pericêntrica do braço

RMA 8p) e 17<sup>1</sup> (fissão cêntrica dos cromossomo RRU 5 e RMA 9), considerados portanto sinapomorfias.

Apomorfias foram observadas em RRU: 1<sup>3</sup> (fusão em tandem dos cromossomos 10, 14 e 16), 2<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 1), 3<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 2), 4<sup>1</sup> (fissão cêntrica dos cromossomos 7 e 2 seguido de fusão em tandem de 2p e 7q), 5<sup>1</sup> (deleção da parte proximal do 9), 10<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 4), 13<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 7), 14<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 5), 18<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 6), 20<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 4) e 22<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 4).

Em RMA as apomorfias identificadas foram: 1<sup>2</sup> (fissão cêntrica dos cromossomos 1 e 17 seguido da fusão em tandem de 1q e 17 proximal), 2<sup>2</sup> (inversão pericêntricas de 3p), 3<sup>1</sup> (fissão do cromossomo 17), 4<sup>2</sup> (inversão pericêntrica de 3p), 5<sup>2</sup> (inversão pericêntrica de 5p) e 15<sup>1</sup> (fissão cêntrica do cromossomo 1).

Já em JPI as apomorfias foram: 2<sup>3</sup> (fusão em tandem dos cromossomos 2 e 12), 3<sup>2</sup> (fusão em tandem dos cromossomos 7 e 11) e 5<sup>3</sup> (fusão em tandem dos cromossomos 8 e 10). Esses rearranjos estão representados na Tabela 3.

(FIGURA 3)

## Discussão

O gênero *Rhagomys* apresenta, além de *Rhagomys rufescens*, uma segunda espécie *Rhagomys longilingua*, com distribuição no Peru (Luna & Patterson 2003) e Bolívia (Villalpando *et al.* 2006). Segundo Luna & Patterson (2003) e Pacheco (2003) *Rhagomys* compõe um grupo monofilético. Entretanto, o gênero é considerado Sigmodontinae *incertae sedis*, quando considerada a classificação tribal (Reig 1984; McKenna & Bell 1997; Smith &

Patton 1999; Musser & Carleton 2005), onde Voss (1993) e Steppan (1995) classificam *Rhagomys* com sendo um *plesiomorphic Neotropical murid*.

Alguns trabalhos investigaram a relação filogenética do gênero *Rhagomys* dentro de Sigmodontinae. Assim, Pacheco (2003) através de dois tipos de análise sobre caracteres morfológicos, verificou por um deles (com caracteres não-ordenados e com o mesmo peso), que *Rhagomys rufescens* aparece como um grupo irmão de *Abrawayamys ruschii*, porém com baixa consistência do ramo (*bootstrap* = 49%), enquanto que na outra (com caracteres ordenados e pesos diferentes), o grupo *Abrawayamys* – *Rhagomys* aparece como grupo-irmão dos thomasomyine “Andinos” (*Thomasomys*, *Aepeomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*), também com baixa consistência no ramo (*bootstrap* = 10%). Percequillo *et al.* (2004) compararam sequências de DNA do gene citocromo b de *Rhagomys rufescens* com várias espécies Sigmodontinae, sendo essa espécie, a partir da análise de máxima parcimônia, agrupada com *Andinomys*, seguida do grupo *Thomasomys* – *Rhipidomys*, em ambos os agrupamentos o *bootstrap* foi inferior a 50%. Na análise de máxima-probabilidade (*maximum-likelihood*), *Rhagomys* agrupou com *Juliomys*, seguido por *Andinomys*, também como um ramo pouco sustentado (*bootstrap* menor que 50%). D’Elía *et al.* (2006), trabalhando com a outra espécie do gênero, onde foram comparadas sequências de DNA do primeiro *exon* do gene nuclear IRBP (Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein), constatou que *Rhagomys longilingua*, a partir da análise de máxima parcimônia, formava um grupo-irmão com *Thomasomys* (*jackknife* = 76%) e próximo de *Aepeomys* e *Rhipidomys*, formando um clado maior (*jackknife* = 65%). Em outra análise, a de máxima-probabilidade (*maximum-likelihood*), *Rhagomys* apareceu novamente como um grupo-irmão com *Thomasomys* (*jackknife* = 70%), formando um clado maior com *Aepeomys* e *Rhipidomys* (*jackknife* = 72%), com alto grau de confiabilidade devido aos valores observados do *jackknife*. O agrupamento

dos gêneros *Thomasomys*, *Chilomys* e *Rhipidomys*, formando um clado, foi demonstrado por Smith & Patton (1999), comparando sequências de DNA do gene citocromo b.

Nos trabalhos de Pacheco (2003) e Percequillo *et al.* (2004) foi utilizado material de *Rhagomys rufescens* e a posição filogenética do gênero mostrou-se variável, onde o grau de confiabilidade (*bootstrap*) dos nós das árvores foram baixos, inferiores a 50%. Ao passo que no de D'Elía *et al.* (2006), onde a espécie considerada foi *Rhagomys longilingua*, a formação dos clados foram mais confiáveis, pois os valores de jackknife foram superiores a 50%.

Os trabalhos de Pacheco (2003), Percequillo *et al.* (2004) e D'Elía *et al.* (2006) mostraram pouca afinidade entre *Rhagomys* e espécies Thomasomyini consideradas endêmicas de Floresta Atlântica: *Delomys*, *Juliomys*, *Phaenomys*, *Wilfredomys*. Já Smith & Patton (1999) observaram pouca relação entre os gêneros *Rhipidomys*, *Delomys* e *Wilfredomys* (= *Juliomys*), o mesmo observado entre *Delomys* e *Juliomys* por Oliveira e Bonvicino (2002), D'Elía (2003) e D'Elía *et al.* (2006). Os resultados das nossas comparações cariotípicas foram também indicativos de um agrupamento não consistente entre *Rhagomys rufescens* e *Juliomys pictipes* (*bootstrap* < 50%).

Nossos resultados mostraram um agrupamento de *Rhagomys rufescens* com *Rhipidomys mastacalis* com alto grau de confiabilidade (*bootstrap* de 100%), sustentando que o gênero *Rhagomys* apresenta relação com espécies consideradas Thomasomyini “Andinos” conforme Pacheco (2003). Entretanto, um alto grau de confiabilidade não se verificou entre as demais espécies analisadas. Provavelmente, isso se deve a possíveis rearranjos cromossômicos que possam ter ocorridos na história evolutiva dos cariótipos dessas espécies, como inversões, envolvendo pequenos segmentos, translocações, fusões em tandem, ou a soma desses, e que são mais difíceis de identificação por metodologia GTG. Estes possíveis rearranjos poderiam ser inferidos, com maior segurança, através, p.ex., da metodologia de ZOO-FISH, como ocorreu com a proposta filogenética para espécies da tribo Akodontini

(Sbalqueiro, 1989), baseada nos padrões cromossômicos em banda G, onde alguns padrões cariotípicos só foram confirmados e/ou sugeridos por Hass *et al.* (2008).

As comparações cromossômicas, através do bandeamento G, revelaram a ocorrência, principalmente, de fusões em tandem, fissões cêntricas e inversões na diferenciação cariotípica das quatro espécies estudadas no presente trabalho: *Oecomys* sp., *Rhipidomys mastacalis*, *Rhagomys rufescens* e *Juliomys pictipes*. Tais rearranjos, se provocaram heterose negativa, possivelmente estiveram ligados a processos de isolamento reprodutivo, conseqüentemente, especiação (King, 1993), assim, estiveram implicados na história evolutiva dessas quatro espécies. No gênero *Rhipidomys* ( $2n = 44$  na maioria das espécies e com variação no número de braços autossômicos), postula-se eventos de inversões pericêntricas como responsáveis pela variabilidade cariotípica observada (Zanchin *et al.* 1992; Svartman & Almeida 1993; Volobouev & Catzefflis 2000; Andrades-Miranda *et al.* 2002). Por fim, a reconstrução filogenética da tribo Thomasomyini pode ser melhor caracterizada através da ZOO-FISH, inclusive, com a análise de mais espécies do grupo.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Dr. Nilson Ivo Tonin Zanchin e Dra. Margarete Suñe Mattevi pela disponibilidade do material de *Rhipidomys mastacalis* e ao MSc. João Marcelo D. Miranda (UFPR) e sua equipe que coletaram o *Oecomys* sp. utilizado na amostra. Este trabalho teve suporte da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e Laboratório de Biologia Animal da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB).



## Bibliografia

- Andrades-Miranda, J., Oliveira, L.F.B., Lima-Rosa, C.A.V., Sana, D.A., Nunes, A.P., Matevvi, M.S. (2002) Genetic studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. *Acta Theriologica*, 47, 125-135.
- Baker, R.J., Koop, B.F. & Haiduk, M.W. (1983) Resolving systematic relationships with G bands: A study of five genera of South American cricetine rodents. *Systematic Zoology*, 32, 403-416.
- D'Elia, G. (2003) Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with assitional coments on historical biogeography. *Cladistics*, 19, 307-323.
- D'Elia, G., Luna, L., Gonzalez, E.M. & Patterson, B.D. (2006) On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): An appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 558-564.
- Eisenberg, J.F. & Redford, K.H. (1999) Mammals of the neotropics: The Central Neotropcs. Vol 3. University of Chicago Press, Chicago, 609 pp.
- Emmons, L.H. & Feer, F. (1997) Neotropical rainforest mammals: A field guide. 2nd edition. University of Chicago Press, Chicago, 307 pp.
- Ford, C.E. & Hamerton, J.L. (1956) A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosome. *Stain Technology*, 31, 247-251.
- Geise, L., Canavez, F.C. & Seuánez, H.N. (1998) Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from Southeastern Brazil. *Heredity*, 89, 158-163.
- Hass, I. (1997) *Estudos citogenéticos e evolutivos de roedores do gênero Akodon (Rodentia, Cricetidae), ocorrentes no Estado do Paraná*. Curitiba, Monografia Bacharelado em Ciências Biológicas, UFPR, Paraná.
- Hass, I., Sbalqueiro, I.J. & Müller, S. (2008) Chromosomal phylogeny of four Akodontini species (Rodentia, Cricetidae) from Southern Brazil established by Zoo-FISH using *Mus musculus* (Muridae) painting probes. *Chromosome Research*, 16, 75-88.
- King, M. (1993) *Species Evolution. The Role of Chromosome Change*. Cambridge University Press, Cambridge and New York, 336 pp.
- Koop, B.F., Baker, R.J., Haiduik, M.W. & Engstrom, M.D. (1984) Cladistical analysis of primitive G-band sequences for the karyotype of the ancestor of the Cricetidae complex of rodents. *Genetica*, 64, 199-208.
- Luna, L. & Patterson, B.D. (2003) A remarkable new mouse (Muridae: Sigmodontinae) from southeastern Peru: with comments on the affinities of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886). *Fieldiana, Zoology*, 101, 1-24.

- Mazurok, N.A., Rubtsova, N.V., Isaenko, A.A., Pavlova, M.E., Slobodyanyuk, S.Y., Nesterova, J.B. & Zakian, S.M. (2001) Comparative chromosome and mitochondrial DNA analyses and phylogenetic relationships within common voles (*Microtus*, Arvicolidae). *Chromosome Research*, 9, 107–120.
- McKenna, M.C. & Bell, S.K. (1997) Classification of mammals above the species level. Columbia University Press, New York, 640 pp.
- Metzger, J.P., Alves, L.F., Pardini, R., Dixo, M., Nogueira, A.A., Martensen, A.C. & Catharino, E.L.M. (2006) Características ecológicas e implicações para a conservação da Reserva Florestal do Morro Grande. *Biota Neotropica*, 6.
- Modi, W.S. (1987) Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia: Rodentia). *Systematic Zoology*, 36, 109–136.
- Moojen, J. (1952) Os roedores do Brasil. Instituto Nacional do Livro e Biblioteca Científica Brasileira, Rio de Janeiro, 214 pp.
- Musser, G.G. & Carleton, M.D. (2005) Family Cricetidae. In: Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (eds) Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. 2nd edition. Smithsonian Institution Press, Washington and London, pp 501-755.
- Nowak, R.M. (1999) Walker's Mammals of the World. Vol 2. 6nd edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1936 pp.
- Oliveira, J.A. & Bonvicino C.R. (2002) A new species of sigmodontine rodent from the Atlantic forest os eastern Brazil. *Acta Theriologica*, 47, 307–322.
- Pacheco, V. (2003) *Phylogenetic analyses of the Thomasomyini (Muroidea: Sigmodontinae) based on morphological data*. Ph.D. dissertation, New York.
- Pardini, R. & Umetsu, F. (2006) Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. *Biota Neotrop*, 6.
- Percequillo, A., Gonçalves, P. & Oliveira, J. (2004) The re-discovery of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886), with a morphological re-description and comments on its systematic relationships based on morphological and molecular (cytochrome b) characters. *Mammalian Biology*, 69, 238–257.
- Pinheiro, P.S., Hartmann, P.A. & Geise, L. (2004) New records of *Rhagomys rufescens* (Thomas 1886) (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) in Atlantic forest of southeastern Brazil. *Zootaxa*, 431, 1–11.
- Reig, O.A. (1984) Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos Sulamericanos (Cricetidae, Sigmodontinae). *Brazilian Journal of Genetics*, 8, 333–365.
- Sbalqueiro, I.J. & Nascimento, A.P. (1996) Ocorrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) whith 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*, 19, 565–569.

Sbalqueiro, I.J. (1989) *Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da região Sul do Brasil*. Tese de doutorado, UFPR, Rio Grande do Sul.

Seabright, M. (1971) A rapid technique for human chromosomes. *The Lancet*, 2, 971–972.

Smith, M.F. & Patton, J.L. (1999) Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: Evidence from Cytochrome b. *Journal of Mammalogy*, 6, 89–128.

Steiner-Souza, F., Cordeiro-Estrela, P., Percequillo, A.R., Testoni, A.F. & Althoff, S.L. (2008) New records of *Rhagomys rufescens* (Rodentia: Sigmodontinae) in the Atlantic forest of Brazil. *Zootaxa*, 1824, 28–34.

Steppan, S.J. (1995) Revision of the tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hypothesis for the Sigmodontinae. *Fieldiana, Zoology*, 80, 1–112.

Svartman, M. & Almeida, E.J.C. (1993) Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Brazil. *Caryologia*. 46, 219-225.

Swofford, D.L. (2001) *PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods)*. Version 4.0b10. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Thomas, O. (1986) Description of a new brazilian species of *Hesperomys*. *Annals and Magazine of Natural History*, 5, 250-251.

Villalpando, G., Vargas, J. & Salazar-Bravo, P. (2006) First record of *Rhagomys* (Mammalia: Sigmodontinae) in Bolivia. *Mastozoologia Neotropical*, 13(1), 143–149.

Volobouev, V. & Aniskin, V. (2000) Comparative chromosome banding analysis of three South American species of rice rats of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Chromosome Research*, 8(4), 295-304.

Voss, R.S. (1993) A revision of the Brazilian muroid rodent genus *Delomys* with remarks on "Thomasomyine" characters. *American Museum Novitates*, 3073, 1–44.

Zanchin, N.I.T., Langguth, A. & Mattevi, M.S. (1992) Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). *J Mamm* 73:120-122.

André Filipe Testoni

Departamento de Genética - Universidade Federal do Paraná

Setor de Ciências Biológicas - Campus III

Centro Politécnico – Jardim das Américas

PR 81531-990

Curitiba / Brasil.

TEL: +55 (41) 9956.6038

## Tabelas

**TABELA 1.** Dados dos exemplares das espécies Oryzomyini e Thomasomyini analisadas.

\* - DZUP / CCMZ: Coleção de Mastozoologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. FURB: Coleção Científica do Laboratório de Biologia Animal da Universidade Regional de Blumenau. M: Coleção de Mastozoologia do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. P: Coleção do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná. UFPB: Coleção de Mamíferos do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba.

Espécies	2n	FNa	Localidade e coordenadas	Número original *
<b>Tribo Oryzomyini</b>				
<i>Oligoryzomys flavescens</i> (OFL)	64	66	Esmeralda, Rio Grande do Sul (27°02'59"S, 49°08'57"W)	M 334 (macho)
<i>Oecomys</i> sp. (OSP)	60	64	Fazenda Santa Rita, Palmeira, Paraná (25°25'46"S, 50°00'23"W)	DZUP / CCMZ 102 (P 1010) (macho)
<b>Tribo Thomasomyini</b>				
<i>Rhagomys rufescens</i> (RRU)	36	50	PNMNG, Santa Catarina (27°02'59"S, 49°08'57"W)	FURB 12602 (macho)
<i>Rhipidomys mastacalis</i> (RMA)	44	74	Fazenda Unacau, Una, Bahia (15°08'42"S, 39°22'37"W)	UFPB 425 (fêmea)
<i>Juliomys pictipes</i> (JPI)	36	34	Marumbi III, Mãe Catira, Morretes, Paraná (25°20'S, 48°50'W)	P 201 (macho)

**TABELA 2.** Matriz de dados baseada na presença e ausência dos 29 caracteres.

Estado dos caracteres: (0) = compartilhado; (1, 2 ou 3) = com mudança de estado; (9) = não comparável.



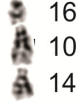
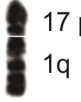




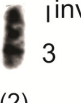
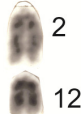



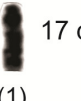



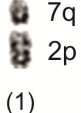

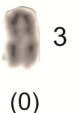



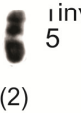
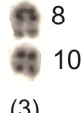

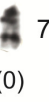
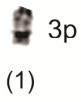
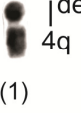


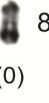
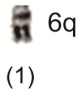
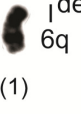
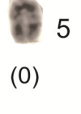

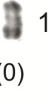
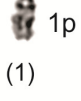
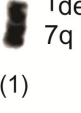
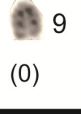
Caracteres	Espécies				
	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
1	0	1	3	2	1
2	0	0	1	2	3
3	0	0	1	1	2
4	0	0	1	2	0
5	0	0	1	2	3
6	0	0	1	1	0
7	0	0	1	1	0
8	0	0	1	1	0
9	0	0	1	1	0
10	0	0	1	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	9	9
13	0	0	1	9	0
14	0	0	1	9	9
15	0	0	0	1	0
16	0	0	0	9	9
17	0	0	1	1	9
18	0	0	1	9	9
19	0	0	9	9	9
20	0	0	1	9	9
21	0	0	9	9	9
22	0	0	1	9	9
23	0	0	9	9	9
24	0	0	9	9	9
25	0	0	9	9	9
26	0	9	0	9	9
27	0	0	9	9	9
28	0	0	0	9	9
29	0	0	9	0	9

**TABELA 3.** Homeologias de cromossomos inteiros, parciais ou rearranjos cromossômicos compartilhados entre as espécies.



















































Estado dos caracteres: (0) = compartilhado; (1, 2 ou 3) = com mudança de estado; (9) = não comparável.

Caráter	Espécies				
	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
1	OFL 1 0	fusão OSP 3 + 2 1	fusão RRU 10 +14 + 16 3	fissão RMA 1 e 17 seguido de fusão RRU 1q + 17 proximal 2	fusão JPI 1 + 6 1
2	OFL 2 0	OSP 5 0	fissão RRU 1q 1	inversão RMA 3p 2	fusão JPI 2 + 12 3
3	OFL 3 0	OSP 6 0	fissão RRU 2q 1	fissão RMA 17 distal 1	fusão JPI 7 + 11 2
4	OFL 4 0	OSP 4 0	fissão RRU 2 e 7 seguido de fusão RRU 2p + 7q 1	inversão RMA 2p 2	JPI 3 0
5	OFL 5 0	OSP 1 0	deleção RRU 9 prox 1	inversão RMA 5p 2	fusão JPI 8 + 10 3
6	OFL 6 0	OSP 7 0	fissão RRU 3p 1	deleção RMA 4p 1	JPI 4 0
7	OFL 7 0	OSP 8 0	fissão RRU 6q 1	deleção RMA 6p 1	JPI 5 0
8	OFL 8 0	OSP 10 0	fissão RRU 1p 1	deleção RMA 7p 1	JPI 9 0
9	OFL 9 0	OSP 9 0	fissão RRU 3q 1	inversão RMA 8p 1	JPI 13 0
10	OFL 10 0	OSP 12 0	fissão RRU 4q distal 1	RMA 18 0	JPI 15 0
11	OFL 11 0	OSP 11 0	RRU 12 0	RMA 19 0	JPI 14 0
12	OFL 12 0	OSP 14 0	RRU 11 0	não comparável 9	não comparável 9
13	OFL 13 0	OSP 18 0	fissão RRU 7p 1	não comparável 9	JPI 16 0
14	OFL 14 0	OSP 13 0	fissão RRU 5q 1	não comparável 9	não comparável 9
15	OFL 15 0	OSP 15 0	RRU 13 0	fissão RMA 1p 1	JPI 17 0
16	OFL 16 0	OSP 16 0	RRU 15 0	não comparável 9	não comparável 9
17	OFL 17 0	OSP 19 0	fissão RRU 5p 1	fissão RMA 9q 1	não comparável 9
18	OFL 18 0	OSP 21 0	fissão RRU 6p 1	não comparável 9	não comparável 9
19	OFL 20 0	OSP 22 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
20	OFL 21 0	OSP 17 0	fissão RRU 4p 1	não comparável 9	não comparável 9
21	OFL 23 0	OSP 25 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
22	OFL 24 0	OSP 24 0	fissão RRU 4q proximal 1	não comparável 9	não comparável 9
23	OFL 25 0	OSP 20 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
24	OFL 26 0	OSP 23 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
25	OFL 27 0	OSP 26 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
26	OFL 28 0	não comparável 9	RRU 17 0	não comparável 9	não comparável 9
27	OFL 29 0	OSP 27 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
28	OFL 30 0	OSP 28 0	RRU 8 0	não comparável 9	não comparável 9
29	OFL 31 0	OSP 29 0	não comparável 9	RMA 16 0	não comparável 9

## Figuras



























Carácter	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
<b>1</b>	 1 (0)	 3 2 (1)	 16 10 14 (3)	 17 prox 1q (2)	 1 6 (1)
<b>2</b>	 2 (0)	 5 (0)	 1q (1)	 17 prox 3 (2)	 2 12 (3)
<b>3</b>	 3 (0)	 6 (0)	 2q (1)	 17 dist (1)	 11 7 (2)
<b>4</b>	 4 (0)	 4 (0)	 7q 2p (1)	 17 prox 2 (2)	 3 (0)
<b>5</b>	 5 (0)	 1 (0)	 16 9 <sup>del</sup> (1)	 17 prox 5 <sup>inv</sup> (2)	 8 10 (3)
<b>6</b>	 6 (0)	 7 (0)	 3p (1)	 17 prox 4q <sup>del</sup> (1)	 4 (0)
<b>7</b>	 7 (0)	 8 (0)	 6q (1)	 17 prox 6q <sup>del</sup> (1)	 5 (0)
<b>8</b>	 8 (0)	 10 (0)	 1p (1)	 17 prox 7q <sup>del</sup> (1)	 9 (0)

continua ...

Carácter	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
<b>9</b>	 9 (0)	 9 (0)	 3q (1)	 8 <sup>inv</sup> (1)	 13 (0)
<b>10</b>	 10 (0)	 12 (0)	 4q dist (1)	 18 (0)	 15 (0)
<b>11</b>	 11 (0)	 11 (0)	 12 (0)	 19 (0)	 14 (0)
<b>12</b>	 12 (0)	 14 (0)	 11 (0)	 9 (9)	 9 (9)
<b>13</b>	 13 (0)	 18 (0)	 7p (1)	 9 (9)	 16 (0)
<b>14</b>	 14 (0)	 13 (0)	 5q (1)	 9 (9)	 9 (9)
<b>15</b>	 15 (0)	 15 (0)	 13 (0)	 1p (1)	 17 (0)
<b>16</b>	 16 (0)	 16 (0)	 15 (0)	 9 (9)	 9 (9)
<b>17</b>	 17 (0)	 19 (0)	 5p (1)	 9q (1)	 9 (9)
<b>18</b>	 18 (0)	 21 (0)	 6p (1)	 9 (9)	 9 (9)

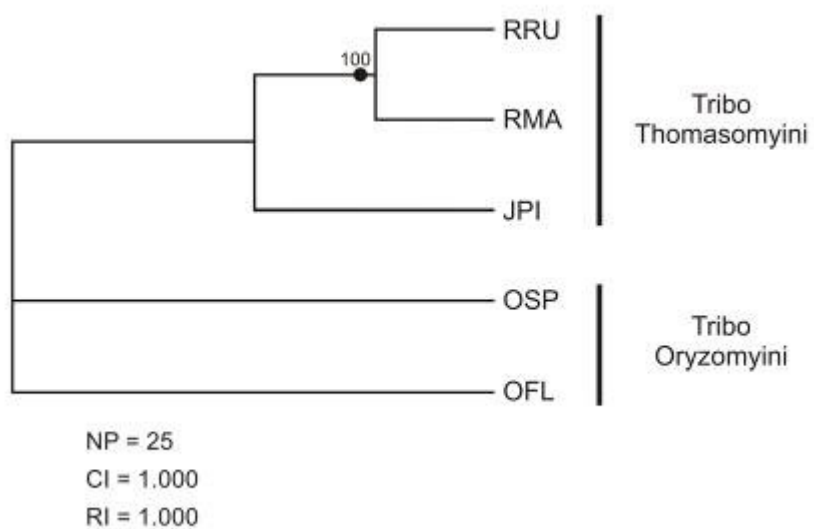
continua ...



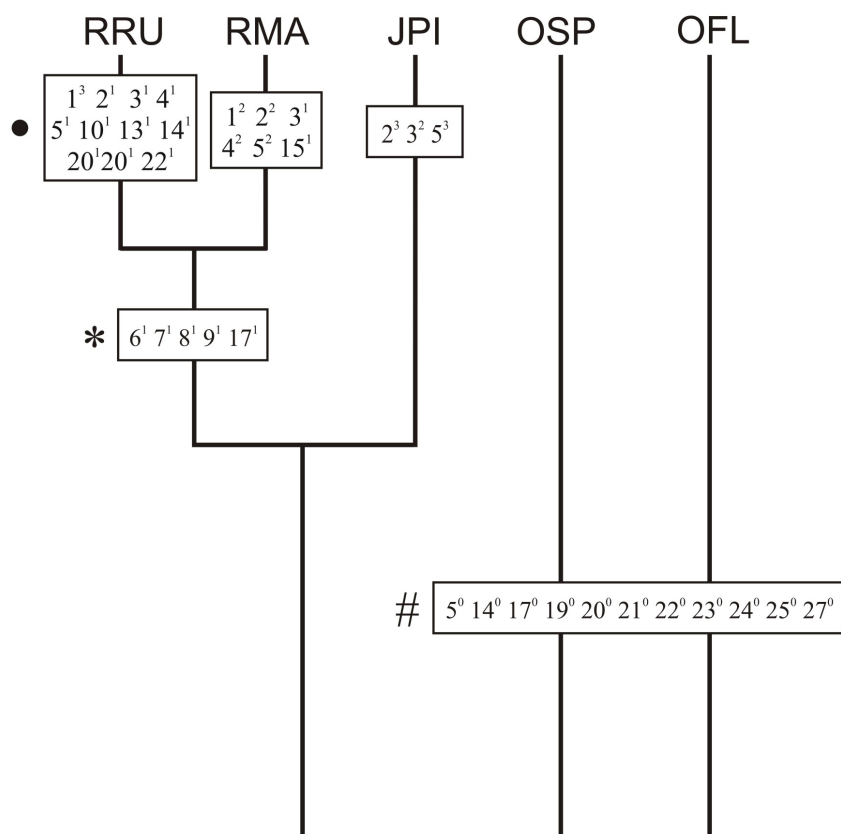
Caráter	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
<b>19</b>	 20 (0)	 22 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>20</b>	 21 (0)	 17 (0)	 4p (1)	(9)	(9)
<b>21</b>	 23 (0)	 25 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>22</b>	 24 (0)	 24 (0)	 4q prox (1)	(9)	(9)
<b>23</b>	 25 (0)	 20 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>24</b>	 26 (0)	 23 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>25</b>	 27 (0)	 26 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>26</b>	 28 (0)	(9)	 17 (0)	(9)	(9)
<b>27</b>	 29 (0)	 27 (0)	(9)	(9)	(9)
<b>28</b>	 30 (0)	 28 (0)	 8 (0)	(9)	(9)
<b>29</b>	 31 (0)	 29 (0)	(9)	 16 (0)	(9)

**FIGURA 1.** Caracteres compartilhados pelas espécies OFL, OSP, RRU, RMA e JPI. São mostradas as homeologias entre os cromossomos das cinco espécies.

Estado dos caracteres: **(0)** = compartilhado; **(1, 2 ou 3)** = com mudança de estado; **(9)** = não comparável.



**FIGURA 2.** Árvore mais parcimoniosa utilizando caracteres desordenados e com o mesmo peso. NP = Número de Passos; IC = Índice de Consistência; IR = Índice de Retenção. Valor de *Bootstrap* de 100% é mostrado no nó que une RRU e RMA.



**FIGURA 3.** Reconstrução filogenética das cinco espécies analisadas. Os números correspondem aos caracteres e sobrescritos estão os números das mudanças de estado.

• Apomorfias; \* Sinapomorfias ; # Simplesiomorfias.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 ANÁLISE DO CARIÓTIPO DE *Rhagomys rufescens*

O presente trabalho mostra os primeiros dados citogenéticos do gênero *Rhagomys*, sendo que o cariótipo de *Rhagomys rufescens* apresenta  $2n = 36$  e  $FNa = 50$ , com a distribuição da heterocromatina constitutiva restrita à região pericentromérica de todos os cromossomos, incluindo os sexuais. Este padrão é uma característica observada na maioria das espécies de roedores, podendo, a mesma marcação, variar desde pequenos blocos até conspícuos, ou mesmo estar ausentes ou restrita a poucos cromossomos. No gênero *Akodon*, p. ex., enquanto em algumas espécies, como *A. montensis* e *A. cursor*, a heterocromatina constitutiva corresponde a pequenos blocos, em outras, como *A. paranaensis*, é conspícua (SBALQUEIRO, 1989; SBALQUEIRO e NASCIMENTO, 1996), ao passo que em *Scapteromys tumidus* (FREITAS *et al.*, 1984) está restrita aos cromossomos sexuais. O cromossomo X, pode ser confundido com o par 9 em coloração convencional por apresentarem tamanhos e morfologia semelhantes. No entanto, quando são considerados os padrões de bandeamentos C e G, diferenças significativas são detectadas. Na tribo Thomasomyini algumas espécies também apresentam o cromossomo X similar a um dos pares de autossomos, diferenciados apenas através de bandeamentos C ou G, como no gênero *Aepeomys* (AGUILERA *et al.*, 2000), *Juliomys* (BONVICINO e OTAZU, 1999), *Rhipidomys* (ZANCHIN *et al.*, 1992a; VOLOBOUEV e CATZEFLIS, 2000; ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2002). Em *Abrawayomys ruschii* (PEREIRA *et al.*, 2008), a identificação dos cromossomos sexuais não são confiáveis pois não há dados com qualquer tipo de bandeamento. No entanto, o X é distinguível facilmente em espécies de *Thomasomys* (AGUILERA *et al.*, 2000) e *Delomys* (ZANCHIN *et al.*, 1992b).

Quanto às duas bandas G na porção mediana do braço longo, uma característica de cromossomo X acrocêntrico em mamíferos (PATHAK e STOCK, 1974), estas também têm sido observadas em outras espécies Sigmodontinae, como p. ex., em espécies akodontines e orizomines do Sul do Brasil (SBALQUEIRO *et al.*, 1984; SBALQUEIRO, 1989; SBALQUEIRO e NASCIMENTO, 1996) e Muridae:

*Dasymys* (GORDON, 1991) e *Mastomys* (LYONS *et al.*, 1980). O cromossomo Y de *Rhagomys rufescens* apresentou um bloco pequeno de HC na região pericentromérica, similar ao de *Akodon* sp. (SILVA e YONENAGA-YASSUDA, 1998), contrariamente ao observado em diversas outras espécies de roedores que apresentam o Y completamente heterocromático ou com blocos grandes de HC, como p. ex., nas espécies dos gêneros *Akodon* (SBALQUEIRO 1989); *Delomys* (ZANCHIN *et al.*, 1992b); *Deltamys* (SBALQUEIRO *et al.*, 1984), *Nectomys* (ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2001a); *Oligoryzomys* (SILVA e YONENAGA-YASSUDA, 1997; SBALQUEIRO *et al.*, 1991; ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2001b), *Oryzomys* (SBALQUEIRO, 1989; SILVA *et al.*, 2000), e *Rhipidomys* (ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2002).

As regiões organizadoras de nucléolos (RON) são fitas de DNA presentes no núcleo da célula onde encontram-se os loci dos genes para RNA ribossômico, sendo que estas regiões apresentam afinidade pela prata quando transcricionalmente ativas. Em *Rhagomys rufescens* até seis pares de autossomos foram marcadas pela coloração com nitrato de prata, três pares em suas regiões teloméricas e os demais nas centroméricas. Na Tribo Thomasomyini, as espécies de *Rhipidomys* e *Delomys* apresentam marcações em regiões teloméricas de cromossomos acrocêntricos (SBALQUEIRO, 1989; ANDRADES-MIRANDA *et al.*, 2002). No entanto, de forma geral, poucos trabalhos informam a localização de RON's em espécies do grupo.

Os sinais mais fortes fluorescentes de CMA<sub>3</sub> foram observados na região pericentromérica dos pares 4, 6 e 8, revelando, a constituição química da cromatina dessa região, ricas em bases GC. Infelizmente é reduzido o número de trabalhos com fluorocromos base-específicos no detalhamento de cariótipos de roedores (MELES *et al.*, 2008). No entanto, várias famílias de morcegos já foram estudadas utilizando essa metodologia (BICKHAM, 1987; RUENDAS *et al.*, 1990; SANTOS e SOUZA 1998a; SANTOS e SOUZA 1998b; SANTOS *et al.*, 2001; LEITE-SILVA *et al.*, 2003).

## 6.2 ANÁLISE DA FILOGENIA DE *Rhagomys rufescens*

O gênero *Rhagomys* compreende duas espécies: *R. rufescens* e *R. longilingua* que compõem um grupo monofilético (LUNA e PATTERSON, 2003; PACHECO, 2003). No entanto, o gênero é considerado Sigmodontinae *incertae sedis*, sem classificação tribal (REIG, 1984; MCKENNA e BELL, 1997; SMITH e PATTON, 1999; MUSSER e CARLETON, 2005), enquanto VOSS (1993) e STEPPAN (1995) avaliam *Rhagomys* com sendo um *plesiomorphic Neotropical muroid*.

As relações do gênero *Rhagomys* mostram posição filogenética variável, conforme a análise realizada (PERCEQUILLO *et al.* 2004). Sendo que LUNA-WONG (2002) relata que *Rhagomys longilingua* pode ser um grupo-irmão de um gênero Oryzomyini *Scolomys* e LUNA e PATTERSON (2003) atribuíram caracteres morfológicos oryzomyines e thomasomyines encontrados no gênero *Rhagomys*.

No sentido de contribuir para o esclarecimento dessa polêmica, PACHECO (2003) e D'ELÍA *et al.* (2006), baseados em dados morfológicos e moleculares, respectivamente, propõem que o gênero *Rhagomys* seja incluído na filogenia da tribo Thomasomyini. Considerando esta proposta, os dados cariotípicos de *Rhagomys rufescens*, apresentados no presente trabalho ( $2n = 36$  e  $FNa = 50$ ), não coincidem com a descrição da maioria das espécies dessa tribo, cuja morfologia cromossômica acrocêntrica predomina dentro da ampla variabilidade cariotípica, tanto no número de cromossomos ( $2n = 20-82$ ) como no número de braços autossomos ( $FNa = 34-114$ ). Em destaque as espécies do gênero *Rhipidomys* e *Thomasomys*, ambos da tribo Thomasomyini, que mostram o  $2n = 44$  na grande maioria delas. Por outro lado, fundamentados em nossa análise comparativa dos padrões cromossômicos de bandas G com quatro espécies, sendo duas Thomasomyini: *Rhipidomys mastacalis* ( $2n = 44$  e  $FNa = 74$ ) e *Juliomys pictipes* ( $2n = 36$  e  $FNa = 34$ ); e duas Oryzomyini: *Oecomys* sp. ( $2n = 60$  e  $FNa = 64$ ) e *Oligoryzomys flavescens* ( $2n = 64$  e  $FNa = 66$ ), verificamos um forte agrupamento de *Rhagomys rufescens* com *Rhipidomys*, revelado pelo valor do *bootstrap* = 100%, o que fortalece as inferências de Pacheco (2003) e D'ELIA *et al.* (2006), ou seja, as evidências cromossômicas são igualmente indicativas de uma proximidade filogenética com a tribo Thomasomyini. Além disso, estes dados também reforçam

as proposições de PACHECO (2003) de que *Rhagomys* poderia ser incluído entre os gêneros considerados Thomasomyini “Andinos”. Por outro lado, as espécies “thomasomyines” endêmicas de Floresta Atlântica apresentam dois grupos conforme sejam seus  $2n$ : um deles compreenderia as espécies *Juliomys*, com número baixo de cromossomos (20 e 36) e de braços de autossomos (34 e 36) e, no outro grupo, as espécies de *Delomys*, *Phaenomys* e *Wilfredomys*, com os  $2n$  e FNa maiores (64 a 82 e 72 a 114, respectivamente). Segundo BONVICINO e OTAZU (1999), *Juliomys pictipes* (JPI) compartilha pelo menos uma homeologia, na análise de bandas G, com os cromossomos do cariótipo de *Rhipidomys mastacalis* (RMA) ( $2n = 44$ , FNa = 74) e *Rhipidomys* sp. ( $2n = 44$ , FNa = 50) descritos por ZANCHIN *et al.* (1992a), sugerindo similaridade entre os dois gêneros. Em nossas comparações de *Rhagomys rufescens* (RRU) com *Juliomys pictipes* (JPI), verificamos apenas homeologias após eventos de rearranjos como fusões em tandem, sendo apenas dois cromossomos homeólogos por inteiro, o que indicou um grau de parentesco pouco confiável, conforme o valor do *bootstrap* inferior a 50%, apesar de ser agrupada em um clado maior com RRU e RMA. Segundo PACHECO (2003), *Rhagomys rufescens* estaria relacionada filogeneticamente com *Abrawayaomys ruschii*, ( $2n = 58$ ), no entanto, não há dados cromossômicos em bandas G disponíveis no trabalho de descrição do cariótipo da espécie (PEREIRA *et al.*, 2008) para comparação e definição dessa proposição.

Para PERCEQUILLO *et al.*, (2004), a combinação das evidências morfológicas e moleculares sugere que *Rhagomys* poderia constituir uma linhagem divergente interposta entre mais de um grupo supragenérico, e ser considerado representante de um grupo antigo que provavelmente habitou as florestas da América do Sul, acumulando mudanças genéticas que dificultam esclarecer suas relações filogenéticas com os Sigmodontinae atuais.

Outra constatação interessante em nossos dados foi a de que *Oecomys* sp. formou um grupo a parte com *Oligoryzomys flavescens*, esta indicada como *outgroup*, o que era de se esperar tendo em vista que ambas pertencem a tribo Oryzomyini. No entanto, tanto SMITH e PATTON (1999) como PERCEQUILLO *et al.* (2004), baseados em dados moleculares, consideram que não há uma relação filogenética próxima entre as mesmas.

A análise comparativa entre os cariótipos das cinco espécies consideradas no presente trabalho, indicou que vários rearranjos cromossômicos estão

contribuindo para a variabilidade tanto nos 2n como nos FNa, bem como, a importância desses no estudo filogenético desenvolvido. Entre esses rearranjos, destacam-se as fusões em tandem, fissões cêntricas, inversões e “deleções” (provavelmente, translocações), que devem ter tido um papel importante na especiação e, como consequência, na história evolutiva dessas espécies. Evidentemente que o potencial da metodologia empregada – padrões cromossômicos de bandeamento G - implica em limitações inerentes a ela, o que poderá ser esclarecido, futuramente, com a utilização de metodologias com um maior poder de resolução, como é o caso da ZOO-FISH. Em roedores há muitas publicações mostrando a importância dos vários tipos de bandeamentos (G, Q e R, entre outros) em análises filogenéticas em Arvicolidae (MODI, 1987; MAZUROK *et al.*, 2001) e Cricetidae (Sigmodontinae) (BAKER *et al.*, 1983; KOOP *et al.*, 1984; SBALQUEIRO, 1989; HASS, 1997; GEISE *et al.*, 1998; VOLOBOUEV e ANISKIN, 2000). Mais recentemente, o uso da ZOO-FISH, com os mesmos propósitos, veio não só confirmar a ocorrência de determinados tipos de rearranjos, como elucidar uma série de outros de difícil detecção, seja pelo tamanho dos segmentos envolvidos ou de rearranjos complexos, originando árvores filogenéticas mais confiáveis. Neste sentido, HASS *et al.* (2008) verificou as relações entre as espécies da tribo Akodontini.



## 7. CONCLUSÕES

A análise do cariótipo de *Rhagomys rufescens* através de técnicas de coloração convencional, bandeamento cromossômico (C, G e RON) e coloração com CMA<sub>3</sub>/DAPI, assim como a análise filogenética, através da análise comparativa dos cromossomos em bandeamento G, das espécies *Oligoryzomys flavescens*, *Oecomys* sp., *Rhipidomys mastacalis* e *Juliomys pictipes* em comparação com *Rhagomys rufescens*, permitiram os seguintes conclusões:

1. O cariótipo de  $2n = 36$  e  $FNa = 50$ , incluindo os padrões de bandeamentos C, G, Ag-NOR mais coloração com fluorocromos CMA<sub>3</sub>/DAPI, na identificação de regiões de HC ricas em bases GC, constitui-se no primeiro relato para a espécie *Rhagomys rufescens*;

2. Os cromossomos 9 e X, idênticos em tamanho e morfologia, são perfeitamente identificáveis pelos padrões de bandeamentos C e G;

3. Na tentativa de situar filogeneticamente *Rhagomys rufescens*, entre quatro espécies de *Sigmodontinae*, verificou-se a formação de um grupo com *Rhipidomys mastacalis*, com alto grau de consistência (*bootstrap* = 100%), mostrando uma possível afinidade com espécies consideradas Thomasomyini “Andinos”;

5. A espécie *Juliomys pictipes* foi relacionada ao grupo formado por *Rhagomys* – *Rhipidomys*, com baixa sustentação (*bootstrap* < 50%);

6. A espécie *Oecomys* sp. compartilhou dez simplesiomorfias com *Oligoryzomys flavescens*, ficando relacionada com o grupo externo;

7. Os rearranjos cromossômicos mais frequentes na árvore filogenética obtida foram: fusões em tandem e inversões, e respondem pela formação dos clados resultantes: (*Rhagomys* - *Rhipidomys*) - *Juliomys* e (*Oecomys* - *Oligoryzomys*);

8. As sinapormofias observadas entre *Rhagomys rufescens* e *Rhipidomys mastacalis* envolveram fissões, o que formou o clado *Rhagomys* – *Rhipidomys*.

## REFERÊNCIAS

- AGUILERA, M.; PÉREZ-ZAPATA A.; ACHOA, J.; SORIANO, P. Karyology of *Aepeomys* and *Thomasomys* (Rodentia: Muridae) from the Venezuelan Andes. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 81, n. 1, p. 52-58, 2000.
- AGUILERA, M. *et al.* Karyosystematics of *Aepeomys* and *Rhipidomys* (Rodentia: Cricetidae). **Acta Científica Venezolana**, Caracas, v. 48, p. 247-248, February 1994.
- ANDERSON, S. Introduction to the rodents. In: ANDERSON, S.; JONES-JR., J.K. (Ed.). **Recent mammals of the world: a synopsis of families**. New York: The Ronald Press Company, 1967. p. 3-11.
- ANDRADES-MIRANDA, J. *et al.* Genetic studies in representatives of genus *Rhipidomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Brazil. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 47, n. 2, p. 125-135, 2002.
- ANDRADES-MIRANDA, J. *et al.* Chromosomal description of the rodent genera *Oecomys* and *Nectomys* from Brazil. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 46, n. 3, p. 269-278, 2001a.
- ANDRADES-MIRANDA, J. *et al.* Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 82, n. 4, p. 1080-1091, 2001b
- AO, L. *et al.* Karyotypic evolution and phylogenetic relationships in the order Chiroptera as revealed by G-banding comparison and chromosome painting. **Chromosome Research**, v. 15, n. 3, p. 257-267, 2007.
- BACCA, L.E. (1988) **Parque Ecológico Artex - Uma proposta**. Anais do 6º Congresso Florestal Estadual, Nova Prata, 1: 275-289.
- BAKER, R.J.; KOOP, B.F.; HADUK, M.W. Resolving systematic relationships with G-bands: a study of five genera of South American Cricetine rodents. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 32, n. 4, p. 403-416, 1983.
- BICKHAM, J.W. Chromosomal variation and evolutionary relationships of vespertilionid bats. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 60: 350-363, 1979.
- BICKHAM, J.W.; BAKER, R.J. Canalization model of chromosome evolution. In: SCHWARTZ, J.H; ROLLINS, H.G. Models and methodologies in evolutionary theory. **Bulletin of Carnegie Museum of Natural History**, Pittsburgh, v. 13, p. 70-84, 1979.
- BONVICINO, C.R.; GEISE, L. Taxonomic status of *Delomys dorsalis collinus* Thomas, 1917 (Rodentia, Cricetidae) and description of a new karyotype. **Mammalian Biology**, Kiel, v. 60, p. 124-127, 1995.

BONVICINO, C.R. *et al.* The endemic Atlantic Forest rodent *Phaenomys ferrugineus* (Thomas, 1894) (Sigmodontinae): new data on its morphology and karyology. **Boletim do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 467, p. 1-12, 2001.

BONVICINO, C.R.; OTAZU, I. The *Wilfredomys pictipes* (Rodentia: Sigmodontinae) karyotype with comments on the karyosystematics of Brazilian Thomasomyini. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 44, n. 3, p. 329-332, 1999.

BOROWIK, O.A. (1995) Coding chromosomal data for phylogenetic analysis: Phylogenetic resolution of the Pan-Homo-Gorilla trichotomy. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 44, p. 563-570, 1995.

CARLETON, M.D. Introduction to rodents. In: ANDERSON, S.; JONES-JR., J.K. (Ed.). **Orders and Families of Recent Mammals of the World**. New York: John Wiley and Sons, 1984. 686p.

CORRÊA, M.M.O.; PESSÔA, L.M. (1996) **O cariótipo de *Rhipidomys* sp. (Rodentia: Cricetidae) do norte de Minas Gerais**. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Zoologia, Porto Alegre, p. 226.

COSTA, L.P. *et al.* A new species of *Juliomys* (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) from the Atlantic forest of southeastern Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 1463, p. 21–37, 2007.

D'ELIA, G. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with assitional coments on historical biogeography. **Cladistics**, London, v. 19, p. 307-323, 2003.

D'ELÍA, G. *et al.* On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): An appraisal of the phylogenetic position of Rhagomys. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 38, p. 558-564, 2006.

D'ELÍA, G. *et al.* Defination and diagnosis of new tribe os Sigmodontinae rodents (Cricetidae: Sigmodontinae), and a revised classification of the subfamily. **Gayana**, Concepción, v. 71, p. 187-194, 2007.

EISENBERG, J.F.; REDFORD, K.H. **Mammals of the neotropics: The Central Neotropcs**. 3. vol. Chicago: The University of Chicago Press, 1999.

EMMONS, L.H.; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals: a field guide**. Chicago: University of Chicago Press, 1997.

FARIA, K.C. **Análise citogenética molecular em espécies de morcegos das famílias Molossidae e Phyllostomidae (Chiroptera, Mammalia)**. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.

FONSECA, G.A.B.; KIERULFF, M.C.M. Biology and natural history of brazilian Atlantic forest small mammals. **Bulletin of the Florida State Museum**, Gainesville, v. 34, n. 3, p. 99-152, 1989.

FORD, C.E.; HAMERTON, J.L. A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosome. **Stain Technology**, Baltimore, v. 31, p. 247-251, 1956.

FREITAS, T.R.O. Geographical variation of heterochromatin in *Ctenomys flamarioni* (Rodentia-Octodontidae) and its cytogenetic relationships with other species of the genus. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 67, p. 193-198, 1994.

FREITAS, T.R.O. Chromosome polymorphism in *Ctenomys minutus* (Rodentia-Octodontidae). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 20, p. 1-7, 1997.

FREITAS, T.R.O. O gênero *Ctenomys* no sul do Brasil. In: FREITAS, T.R.O. *et al.* (Ed.). **Mamíferos do Brasil: genética, sistemática, ecologia e conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2006. 176p.

FREITAS, T.R.O.; MATTEVI, M.S.; OLIVERIA, L.F.B. Unusual C-band patterns in three karyotypically rearranged forms of *Scapteromys* (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 38, n. 1, p. 39-44, 1984.

GALLARDO, M.H. Karyotypic Evolution in *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae). **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 72, n. 1, p. 11-21, 1991.

GARDNER, A.L.; PATTON, J.L. Karyotypic variation in oryzomyine rodents (Cricetidae) with comments on chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. **Occasional Papers of the Museum of Zoology**, Ann Arbor, v. 49, p. 1-48, 1976.

GEISE, L.; CANAVEZ, F.C.; SEUÁNEZ, H.N. Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from Southeastern Brazil. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 89, p. 158-163, 1998.

GEISE, L.; PERCEQUILLO, A.; BERGALLO, H. (2008) *Rhagomys rufescens*. In: IUCN 2008. **IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org> (acessado em Janeiro de 2009).

GOMEZ-LAVERDE, M. *et al.* Karyology, Morphology, and Ecology of *Thomasomys laniger* and *T. niveipes* (Rodentia) in Colombia. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 78, n. 4, p. 1282-1289, 1997.

GONÇALVES, P.R.; ALMEIDA, F.C.; BONVICINO, C.R. A new species of *Wiedomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazilian Cerrado. **Mammalian Biology**, Kiel, v. 70, p. 46-60, 2005.

GONZÁLEZ, E.M.; GONZÁLEZ, S. (1998) **El cariótipo de *Wilfredomys oenax* (Thomas, 1928) (Rodentia, Sigmodontinae) con comentarios sobre la evolución y la posición taxonômica de *Wilfredomys* Avila Pires, 1960**. Resúmenes Jornadas Argentinas de Mastozoología, p. 34.

GORDON, D.H. Chromosomal Variation in the Water Rat *Dasymys incomtus* (Rodentia: Muridae). **Journal of Mammalogy**, v. 72, n. 2, p. 411-414, 1991.

HARTENBERGER, J.L. The order Rodentia: major questions on their evolutionary origin, relationships and suprafamilial systematics. In: LUCKETT, W.P.; HARTENBERGER, J.L. (Ed.). **Evolutionary relationships among rodents: a multidisciplinary analysis**. New York: Plenum, 1985. 736p.

HASS, I. **Estudos citogenéticos e evolutivos de roedores do gênero *Akodon* (Rodentia, Cricetidae), ocorrentes no Estado do Paraná**. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

HASS, I.; SBALQUEIRO, I.J.; MÜLLER, S. Chromosomal phylogeny of four Akodontini species (Rodentia, Cricetidae) from Southern Brazil established by Zoo-FISH using *Mus musculus* (Muridae) painting probes. **Chromosome Research**, v. 16, p. 75-88, 2008.

HENNIG, W. Phylogenetic systematics. **Annual Review of Entomology**, v. 10, p. 97-116, 1965.

HERSHKOVITZ, P. The recent mammals of the Neotropical Region: a zoogeographic and ecological review. In: KEAST, A.; ERK, F.C.; GLASS, B. (Eds.). **Evolution, mammals and Southern continents**. Chicago: University of Chicago Press, 1972. 543p.

HOWELL, W.M.; BLACK, A.D. Controlled silver-staining of nuclear organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, Basel, v. 36, p. 1014, 1980.

IBGE (2004) **Mapas dos biomas do Brasil**. Brasília: IBGE, 2004.

JACKSON, R.C. The karyotype in systematics. **Annual Review of Ecology and System**, v. 1, p. 327-368, 1970.

KIERULFF, M.C.; STALLING, J.R.; SABATO, E.L. A method to capture the bamboo rat (*Kannabateomys amblyonyx*) in bamboo forests. **Mammalia**, v. 55, p. 633-635, 1991.

KING, M. **Species Evolution**. The Role of Chromosome Change. Cambridge and New York: Cambridge University Press, 1993.

KLUGE, A.G.; FARRIS, J.S. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 18, p. 1-32, 1969.

KOOP, B.F. *et al.* Cladistical analysis of primitive G-band sequences for karyotype of the ancestor of the Cricetidae complex of rodents. **Genetica**, v. 64, p. 199-208, 1984.

LANDRY-JUNIOR, S.A. The rodentia as omnivores. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 45, p. 351-372, 1970.

LANGE, R.R.; MARGARIDO, T.C.C. Métodos para caracterização da mastofauna em estudos de impactos ambientais. In: **Manual de avaliação de impactos ambientais**. Curitiba: Secretaria do Estado do Meio Ambiente / Instituto Ambiental do Paraná, 1993. p. 150-159.

LEITE-SILVA, C. *et al.* Karyotypic characterization of the bat species *Molossus ater*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) using FISH and banding techniques. **Hereditas**, Lund, v. 138, n. 2, p. 94-100, 2003.

LEWIS, H. Speciation in flowering plants. **Science**, Washington, v. 152, n. 3719, p. 167-172, 1966.

LUNA, L.; PATTERSON, B. A remarkable new mouse (Muridae: Sigmodontinae) from southeastern Peru: with comments on the affinities of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886). **Fieldiana Zoology**, Chicago, v. 101, p. 1- 24, 2003.

LUNA-WONH, L.A. **A new genus and species of rodent from Peru (Muridae: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationships**. Thesis - Biological Sciences, University of Illinois, Chicago, 2002.

LYONS, N.F.; GORDON, D.H.; GREEN, C.A. G-banding chromosome analysis of species a of the *Mastomys natalensis* complex (Smith, 1834) (Rodentia, Muridae). **Genetica**, X, v. 54, n. 2, p. 209-212, 1980.

MADDISON, W.P. Outgroups analysis and parsimony. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 33, p. 83-103, 1984.

MAIA, V.; LANGGUTH, A. (1987) Chromosomes of the brazilian cricetid rodent *Wiedomys pyrrhorinos* (Wied, 1821). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 2, p. 229-233, 1987.

MAYR, E. **Populações, espécies e evolução**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1970.

MCKENNA, M.C.; BELL, S.K. **Classification of mammals above the species level**. New York: Columbia University Press, 1997.

MELES, S. *et al.* The karyotype and sex chromosomes of *Praomys tullbergi* (Muridae, Rodentia): A detailed characterization. **Micron**, v. 39, n. 5, p. 559-568, 2008.

METZGER, J.P. *et al.* Características ecológicas e implicações para a conservação da Reserva Florestal do Morro Grande. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 6, n. 2, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bn/v6n2/v6n2a10.pdf>>. Acesso em: 10/02/2008.

MMA **Lista das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção**. Ministério do Meio Ambiente, IBAMA, Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 10/1/2009.

MODI, W.S. Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammali: Rodentia). **Systematic Zoology**, Levittown, v. 36, p. 109-136, 1987.

MOOJEN, J. **Os roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Livro, 1952.

MUSSER, G.G.; CARLETON, M.D. Family Cricetidae. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (Ed.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3. ed. 2. vol. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 2005.

NAPP, D.S. **Relações filogenéticas entre as famílias de Cerambycidae (Coleóptera)**. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1990.

NELSON, G.J. Systematics as na expression of philogenetic relationships. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 22, p. 344-359, 1973.

NELSON, G.J.; PLATINICK, N.I. **Systematics and Biogeography: Cladistics and Vicaryancy**. New York: Columbia University Press, 1981.

NOWAK, R.M. **Walker's Mammals of the World**. 6. ed. 2. vol. London: Johns Hopkins University Press, 1999.

OJEDA, A.A.; RÍOS, C.A.; GALLARDO, M.H. Chromosomal characterization of *Irenomys tarsalis* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). **Mastozoología Neotropical**, Mendoza, v. 11, p. 95-98, 2004.

OLIVEIRA, E.H.C. **Estudos citogenéticos e evolutivos nas espécies brasileiras e argentinas do gênero *Alouatta* Lacépède 1799 (Primates, Atelidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1996.

OLIVEIRA, E.H.C. *et al.* The phylogeny of howler monkeys (*Alouatta*, Platyrrhini): Reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting. **Chromosome Research**, Basel, v. 10, : 669-683, 2002

OLIVEIRA, E.H.C. *et al.* Phylogenetic inferences of Atelinae (Platyrrhini) based on multi-directional chromosome painting in *Brachyteles arachnoides*, *Ateles paniscus paniscus* and *Ateles b. marginatus*. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v. 108, p. 183-190, 2005.

OLIVEIRA, J.A.; BONVICINO, C.R. A new species of sigmodontine rodent from the Atlantic forest os eastern Brazil. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 47, n. 3, p. 307-322, 2002.

PACHECO, V. (2003) **Phylogenetic analyses of the Thomasomyini (Muroidea: Sigmodontinae) based on morphological data**. Ph.D. dissertation, University of New York, New York.



PARDINI, R.; UMETSU, F. Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 6, n. 2, 2006. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/fullpaper?bn00606022006+pt>>. Acesso em: 11/02/2008.

PATHACK, S.; STOCK, A.D. The X chromosome of mammals: karyological homology as revealed by banding techniques. **Genetics**, Pittsburgh, v. 78, p. 703-714, 1974.

PATTON, J.L.; SHERWOOD, S.W. Chromosome evolution and speciation in rodents. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 14, p. 139-158, 1983.

PERCIQUILLO, A.R.; GONÇALVES, P.R.; OLIVEIRA, J.A. The rediscovery of *Rhagomys rufescens* (Thomas, 1886), with a morphological redescription and comments on its systematic relationships based on morphological and molecular (cytochrome b) characters. **Mammalian Biology**, Kiel, v. 69, p. 238-257, 2004.

PEREIRA, L.G. *et al.* *Abrawayaomys ruschii* Cunha & Cruz, 1979 (Rodentia, Cricetidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, v. 48, n. 5, p. 33-40, 2008.

PIECZARKA, J.C.; NAGAMACHI, C.Y. Pintura cromossômica como instrumento para estudos filogenéticos em Primatas. In: GUERRA, M. (Ed.). **FISH - Conceitos e Aplicações na Citogenética**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2004, p. 115-132. 184p.

PIECZARKA, J.C. *et al.* Reciprocal chromosome painting between two South American bats: *Carollia brevicauda* and *Phyllostomus hastatus* (Phyllostomidae, Chiroptera). **Chromosome Research**, v. 13, p. 339-347, 2005.

PINE, R.H. **Mammalia**. San Diego: San Diego State University, 1981.

PINHEIRO, P.S.; HARTMANN P.A.; GEISE L. (2004) New record of *Rhagomys rufescens* (Thomas 1886) (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) in Atlantic forest of southeastern Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 431, p. 1-11, 2004.

POUGH, F.H.; HEISER, J.B.; MCFARLAND, W.N. **A vida dos vertebrados**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 1999.

REIG, O.A. A proposed unified nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). **Journal of Zoology**, London, v. 181, p. 227-241, 1977.

REIG, O.A. A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae. **Journal of Zoology**, London, v. 192, p. 257-281, 1980.

REIG, O.A. Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. **Museo Municipal de Ciencias Naturales "Lorenzo Scaglia"**, Buenos Aires, v. 1, p. 1-161, 1981.

REIG, O.A. Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 7, p. 333-365, 1984.

REIG, O.A. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: VUILLEUMIER, F.; MONASTERIO, M. (Ed.). **High altitude tropical biogeography**. Oxford: Oxford University Press, 1986. p. 404-449. 671p.

RUENDAS, L.A. *et al.* Chromosomes of five species of vespertilionid bats from Africa. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 71, p. 94-100, 1990.

SALAZAR-BRAVO, J.; YATES, T.L. A new species of *Thomasomys* (Cricetidae: Sigmodontinae) from central Bolivia. In: KELT, D.A. *et al.* (Ed.). **The Quintessential Naturalist: Honoring the Life and Legacy of Oliver P. Pearson**. California: University of California Publications in Zoology, 2007. p. 747-774. 988p.

SANTOS, N.; SOUZA, M.J. Characterization of the Constitutive Heterochromatin of *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae- Chiroptera) Using The Base-Specific Fluorochromes CMA3 (GC) e DAPI (AT). **Caryologia**, Firenze, v. 51, p. 51-60, 1998a.

SANTOS, N.; SOUZA, M.J. (1998b) Use of Fluorochromes Chromomycin A3 and DAPI to Study Constitutive Heterochromatin and NORs In Four Species of Bats (Phyllostomidae). **Caryologia**, Firenze, v. 51, 265-278, 1998b.

SBALQUEIRO, I.J. **Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da região Sul do Brasil**. Tese (Doutorado em Genética) – Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

SBALQUEIRO, I.J.; MATTEVI, M.; OLIVEIRA, L.F.B. An  $X_1X_1 X_2X_2/X_1X_2Y$  mechanism of sex determination in a South American rodent, *Deltamys kempi* (Rodentia, Cricetidae). **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 38, n. 1, p. 50–55, 1994.

SBALQUEIRO, I.J.; MATTEVI, M.S.; OLIVEIRA, L.F. (1984) An  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  mechanism of sex determination in a South American rodent, *Deltamys kempi* (Rodentia, Cricetidae). **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 38, n. 1, p. 50-55.

SBALQUEIRO, I.J. *et al.* B chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 36, p. 193-199, 1999.

SBALQUEIRO, I.J.; NASCIMENTO, A.P. Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area

in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 4, p. 565-569, 1996.

SCHNEIDER, H. **Métodos de Análise Filogenética**. 2. ed. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2003.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin an DAPI. **Chromosoma**, Berlin, v. 58, p. 307-324, 1976.

SEABRIGHT, M. A rapid banding technique for human chromosome. **Lancet**, London, v. 2, p. 971-972, 1971.

SILVA, M.J.J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. New karyotypes of two related species of *Oligoryzomys* genus (Cricetidae, Rodentia) involving centric fusion with loss of NORs and distribution of telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences. **Hereditas**, Lund, v. 127, p. 217-229, 1997.

SILVA, M.J.J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Karyotype and chromosomal polymorphism of an undescribed *Akodon* from Central Brazil, a species with the lowest known diploid chromosome number in rodents. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 81, p. 46-50, 1998.

SILVA, M.J.J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Autosomal and sex chromosomal polymorphisms with multiple rearrangements and a new karyotype in the genus *Rhipidomys* (Sigmodontinae, Rodentia). **Hereditas**, Lund, v. 131, p. 211-220, 1999.

SILVA, M.J.J.; PERCEQUILLO, A.R.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Cytogenetics with systematic approach on a new *Oryzomys* species, of *nitidus* group (Sigmodontinae, Rodentia) from Northeastern Brazil. **Caryologia**, Firenze, v. 53, p. 219-226, 2000.

SIMPSON, G.G. The principles of classification and a classification of mammals. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 85, p. 1-350, 1945.

SMITH, M.F.; PATTON, J.L. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: Evidence from Cytochrome b. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 6, p. 89-128, 1999.

SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1973.

SPOTORNO, A.E.; WALKER, L.I.; FLORES, S.V.; YEVENES, M.; MARÍN, J.C.; ZULETA, C. Evolución de los filotinos (Rodentia, Muridae) en los Andes del Sur. **Revista Chilena de Historia Natural**, Santiago, v. 74, n. 1, p. 151-166, 2001.

STEINER-SOUZA, F. New records of *Rhagomys rufescens* (Rodentia: Sigmodontinae) in the Atlantic forest of Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 1824: 28-34, 2008.

STEPHAN, S.J. Revision of the Tribe Phyllotini (Rodentia: Sigmodontinae), with a phylogenetic hipótesis for the Sigmodontinae. **Fieldiana Zoology**, Chicago, v. 80, p. 1-112, 1995.

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

SVARTMAN, M.; ALMEIDA, E.J.C. Pericentric inversion and X chromosome polymorphism in *Rhipidomys* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Brazil. **Caryologia**, Firenze, v. 46, p. 219-225, 1993.

SWOFFORD, D.L. (2001) PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods), Version 4.0b10. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

THOMAS, O. Description of a new brazilian species of *Hesperomys*. **Annals and Magazine of Natural History**, London, v. 5, p. 250-251, 1886.

THOMAS, O. On the arrangement of the South American rats allied to *Oryzomys* and *Rhipidomys*. **Annals and Magazine of Natural History**, London, v. 8, p. 198-200, 1917.

VAUGHAN, T.A. **Mammalogy**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1978.

VILLALPANDO, G.; VARGAS, J.; SALAZAR-BRAVO, J. First record of *Rhagomys* (Mammalia: Sigmodontinae) in Bolivia. **Mastozoología Neotropical**, San Miguel de Tucumán, v. 13, n. 1, p. 43-149, 2006.

VIVO, M.; GREGORIN, R.; IACK-XIMENES, G.E. Conservação biológica e sistemática dos mamíferos. **Revista Holos**, Natal, v. Ago: 86-91, 1999.

VOLOBOUEV, V.; ANISKIN, V. (2000) Comparative chromosome banding analysis of three South American species of rice rats of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). **Chromosome Research**. 8(4): 295-304.

VOSS, R.S. A revision of the Brazilian muroid rodent genus *Delomys* with remarks on "Thomasomyine" characters. **American Museum Novites**, New York, v. 3073, p. 1-44, 1993.

VOSS, R.S.; EMMONS, L.H. Mammalian diversity in Neotropical lowland rainforest: a preliminary assessment. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 230, p. 1-115, 1996.

WAGNER, W.H. Problems in the classification of ferns. In: **Recent Advances in Botany**. Montreal: University of Toronto Press, 1961.

WATHROUS, L.E.; WHEELER, Q.W. The out-group comparison method of character analysis. **Systematic Zoology**, Levittown, v. 30, p. 1-11, 1984.

WHITE, M.J.D. **Modes of speciation**. San Francisco: Freeman, 1978.

WILLSON, M.F. Avian community organization and habitat structure. **Ecology**. 55: 1017-1029, 1974.

ZANCHIN, N.I.T.; LANGGUTH, A.; MATTEVI, M.S. Karyotypes of Brazilian species of *Rhipidomys* (Rodentia, Cricetidae). **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 73, p. 120-122, 1992a.

ZANCHIN, N.I.T. Karyotype and species diversity of genus *Delomys* (Rodentia, Cricetidae) in Brazil. **Acta Theriologica**, Białowieża, v. 37, n. 1-2, p. 163-169, 1992b.

ZIMA, J. Chromosomal Evolution in small mammals (Insectivora, Chiroptera, Rodentia). **Hystrix**, Pavia,, v. 11, n. 2, p. 5-15, 2000.

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1 – MATERIAL E MÉTODOS

#### CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Os oito indivíduos da espécie *Rhagomys rufescens* foram coletados no Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia (PNMNG), localizado no estado de Santa Catarina, região Sul do Brasil. Esta espécie já foi registrada em Santa Catarina, coletada no PNMNG por STEINER-SOUZA *et al.* (2008), e apresenta hábitos arborícolas e terrestre (PERCEQUILLO *et al.*, 2004), assim, foram utilizadas armadilhas de passagem *Havahart* (®) e *Shermann* (®) suspensas entre 2,0 e 2,5m de altura do solo (Figura 11), esta metodologia é uma modificação de KIERULFF *et al.* (1991).

Além dos indivíduos que foram coletados no presente trabalho, também foram analisados cinco espécimens citados por STEINER-SOUZA *et al.* (2008) obtidos em Santa Catarina no PNMNG.

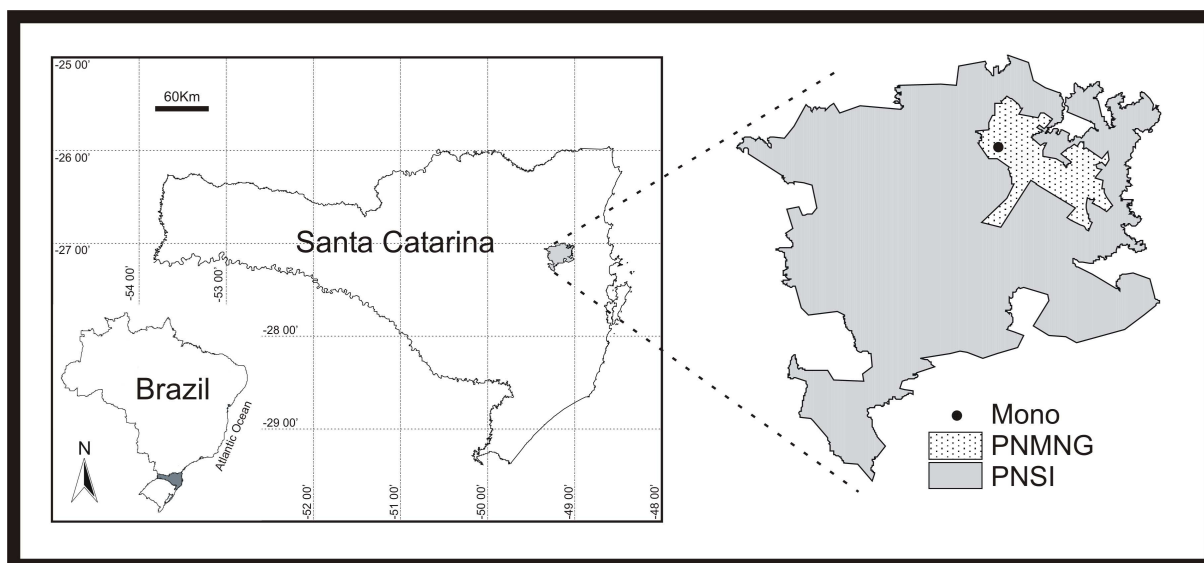
O PNMNG se localiza nos municípios de Blumenau e Indaial, e está inserido no Parque Nacional da Serra do Itajaí (PNSI), que abrange cerca de 57.374ha. A região apresenta relevo movimentado, onde as altitudes variam entre 290 a 910m. Os 5.326ha do PNMNG abrigam um significativo fragmento da Floresta Ombrófila Densa do tipo tropical (IBGE, 2004). A cobertura vegetal consiste em 600ha de mata primária não alterada, e o restante ou sofreu corte raso ou se encontra na forma de floresta primária alterada por corte seletivo (BACCA, 1988). As coletas foram realizadas no Mono (27°02'59,74006"S; 49°08'56,94765"W) (Mapa 3), onde se encontra mata secundária em estado de regeneração avançado e localiza-se a uma altitude de 700m.

FIGURA 11 – Armadilhas de passagem *Havahart* (®) suspensas entre 1,5 e 2,5m de altura do solo para captura de *Rhagomys rufescens*.



FONTE: Fotos de R. Pasold e A. F. Testoni.

MAPA 3 – Localização do Mono, no Parque Natural Nascentes do Garcia, inserido no Parque Nacional da Serra do Itajaí, Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil.



**Legenda:** Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil: • Local das coletas Mono.

As peles e crânios dos animais coletados foram depositados na Coleção Científica do Laboratório de Biologia Animal da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB).

O padrão de bandas G de *Rhagomys rufescens* foi comparado com as espécies *Rhipidomys mascatalis*, *Juliomys pictipes* e *Oecomys* sp., *Oligoryzomys flavescens* está utilizada como grupo externo (*outgroup*) na análise filogenética.

Os padrões de bandeamento G dos cromossomos das espécies citadas acima foram obtidos na literatura, ou cedidas gentilmente por pesquisadores nacionais, conforme mostrado na Tabela 4. Nesta tabela são mostradas as siglas correspondente a cada uma das espécies, o 2n, o FNa e os autores que cederam o material para a realização da análise filogenética.



TABELA 4 – Espécies dos roedores utilizadas na análise filogenética.

<b>Espécie</b>	<b>2n</b>	<b>FNa</b>	<b>Autor / Pesquisador</b>
<i>Oligoryzomys flavescens</i> (OFL)	64	66	I. J. Sbalqueiro Sbalqueiro (1989) (UFPR)
<i>Oecomys</i> sp. (OSP)	60	64	I. J. Sbalqueiro e G. P. Rabelo (UFPR)
<i>Rhipidomys mastacalis</i> (RMA)	44	74	N. J. C. Zanchin (UFRGS) e M. S. Mattevi (UFRGS) Zanchin <i>et al.</i> (1992a)
<i>Juliomys pictipes</i> (JPI)	36	34	I. J. Sbalqueiro (UFPR)

## MÉTODOS CITOGENÉTICOS

### **Obtenção de cromossomos mitóticos**

A obtenção de cromossomos metafásicos foi através da preparação direta da medula óssea, adaptada de FORD e HAMERTON (1956) por SBALQUEIRO (1989) e SBALQUEIRO e NASCIMENTO (1996):

- 1 – injetar intraperitonealmente solução de colchicina a 0,1% (1ml para cada 100g de peso do animal);
- 2 – sacrificar o animal após uma hora;
- 3 – retirar os fêmures, seccionar as epífises e injetar solução hipotônica de KCl 0,075M para retirada do material da medula;
- 4 – ressuspender gentilmente e esperar por dez minutos com o material em banho-maria a 37°C;
- 5 – centrifugar a 1000 RPM por cinco minutos;
- 6 – retirar o sobrenadante e fixar o precipitado com 5ml da solução de álcool-acético (3 metanol : 1 ácido acético), ressuspender;
- 7 – trocar o fixador por três vezes;
- 8 – após a última centrifugação, deixar 1,5ml do fixador para montagem das lâminas.

### **Técnicas de coloração das lâminas**

#### **Coloração Convencional**

O material fixado foi pingado em lâminas limpas, e após secagem, corado com Giemsa a 5% em solução tampão fosfato pH 6,8, por 8 minutos.

#### **Coloração com CMA<sub>3</sub>/DAPI**

A coloração com cromomicina (CMA<sub>3</sub>) e 4´6-Diamidino-2-fenil-indol (DAPI) localiza os segmentos de DNA ricos em bases repetidas do tipo GC. A técnica utilizada foi adaptada de SCHWEIZER (1976):

- 1 – colocar 80 µl de solução de cromomicina (0,5 mg/ml) sobre cada lâmina, cobrir com uma lamínula e deixar por no mínimo 1 hora no escuro;
- 2 – escorrer a lamínula e lavar a lâmina com água H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>, secar levemente;
- 3 – colocar cerca de 80 µl de solução DAPI (0,2 µg/ml + *Antifade*) sobre cada lâmina, cobrir com uma lamínula retirar o excesso em papel filtro.

### **Bandeamento Cromossômico**

#### Bandeamento CBG

O bandeamento CBG proporciona a visualização de bandas C, através da aplicação de bário (desnaturação) e corante Giemsa. A técnica utilizada foi adaptada de SUMNER (1972), conforme SBALQUEIRO (1989):

- 1 – envelhecer o material fixado em lâminas por três dias em estufa a 40°C (opcional);
- 2 – incubar as lâminas em solução de HCl 0,2N a 43-45°C, por dois minutos e lavar em H<sub>2</sub>O destilada;
- 3 – incubar em solução de hidróxido de bário 0,2N (5%) a 43-45°C, por trinta segundos (filtrar Bário);
- 4 – incubar em solução de HCl 0,2N a 65°C, por trinta segundos, e lavar em H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>;
- 5 – incubar em solução salina 2SSC (NaCl 0,3M + Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> 0,03M) a 60-65°C, por quinze minutos;
- 6 – lavar em H<sub>2</sub>O destilada e incubar em tampão fosfato pH 7,2 a 37°C, por dois minutos (opcional);
- 7 – corar com Giemsa 5% (diluído em solução de tampão fosfato pH 7,2), por cinco a dez minutos.

#### Bandeamento GTG

O bandeamento GTG evidencia faixas claras e escuras ao longo dos cromossomos, através da tripsina e corante Giemsa. A técnica utilizada foi adaptada de SEABRIGHT (1971), conforme SBALQUEIRO (1989):

- 1 – preparar as lâminas e envelhecer por quatro dias em estufa a 40°C;

2 – incubar as lâminas em tampão fosfato pH 6,8, por dois minutos a temperatura ambiente;

3 – incubar em solução tampão fosfato pH 6,8 (ou solução de Hank's) com tripsina a 0,03% por trinta segundos ou menos a 37°C;

4 – lavar rapidamente em H<sub>2</sub>O destilada, álcool etílico PA e H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>;

5 – incubar em tampão fosfato pH 6,8, por um minuto;

6 – corar com Giemsa 2,5% (diluído em solução de tampão fosfato pH 7,2) por cinco minutos.

### Bandeamento RON

O bandeamento RON é utilizado para observação de regiões organizadoras de nucléolo. A técnica utilizada foi adaptada de HOWELL e BLACK (1980), conforme SBALQUEIRO (1989):

1 – preparar as lâminas e envelhecer por cinco dias a 40°C;

2 – incubar as lâminas em tampão borato pH 9,2 por cinco a dez minutos em temperatura ambiente;

3 – lavar em H<sub>2</sub>O destilada;

4 – colocar sobre a lâmina duas gotas de solução coloidal (0,25g de gelatina + 5ml de água bidestilada aquecida + 0,2 ml de ácido fórmico), mais quatro gotas de solução de prata a 50% (1g de prata + 2ml de água bidestilada + duas gotas de formalina);

5 – homogeneizar as soluções com pipeta Pasteur;

6 – cobrir com lamínula, colocar a lâmina em uma câmara úmida (placa de Petri com papel filtro umedecido), manter em estufa a 70°C até atingir coloração castanho-dourada (12 minutos);

7 – lavar em H<sub>2</sub>O<sub>d</sub> e tirar a lamínula;

8 – corar com Giemsa 2% (diluído em solução de tampão fosfato pH 7,2) por um minuto.

## ANÁLISE CROMOSSÔMICA

### **Análise das metáfases em coloração convencional, CMA<sub>3</sub>/DAPI e bandeamentos**

A coloração convencional foi utilizada para estabelecer o número diplóide de cromossomos ( $2n$ ), número de braços de cromossomos autossômicos (FNa) e a morfologia dos cromossomos. Em média, foram analisadas 20 metáfases por exemplar coletado, e digitalizadas as dez melhores metáfases para montagem dos kariogramas.

As cinco melhores metáfases de cada indivíduo, em bandeamentos CBG e GTG, foram digitalizadas para a montagem dos kariogramas.

Em relação às RON's, foi determinado o número, tipo e posição das bandas em dez células analisadas de cada indivíduo, conforme SBALQUEIRO (1989).

As lâminas submetidas a técnica de coloração com CMA<sub>3</sub>/DAPI foram analisadas e as metáfases melhores foram digitalizadas.

### **Digitalização das metáfases**

As metáfases selecionadas nos diferentes tipos de colorações: convencional, bandeamentos (G, C e RON) e CMA<sub>3</sub>/DAPI, foram digitalizadas em um fotomicroscópio Zeiss-Axiophot (Carl Zeiss) acoplado a um sistema de captura digital de imagens.

### **Montagem dos kariogramas**

A montagem dos kariogramas das espécies analisadas foram efetuadas levando-se em conta o tipo de coloração: só com Giemsa ou bandamento C (de acordo com o tamanho e morfologia dos cromossomos) e bandamento G (tamanho e padrão de bandas). A caracterização morfológica foi baseada na posição do centrômero, e os cromossomos foram classificados em metacêntricos (M), submetacêntricos (SM) e acrocêntricos (A). Os kariogramas foram montados com a auxílio do programa BandView® (Spectral Imaging).

## ESTUDO CLADÍSTICO

As análises dos caracteres – braços cromossômicos, segmentos ou cromossomos inteiros em bandeamento G – e interpretação dos resultados foram realizadas através dos princípios conceituais e metodológicos da sistemática filogenética proposta por HENNIG (1965) aplicada a estudos filogenéticos com dados citogenéticos, segundo SBALQUEIRO (1989) e OLIVEIRA (1996).

### **Métodos cladísticos numéricos**

As análises foram feitas através da utilização de métodos cladísticos numéricos baseados no critério de parcimônia, proposto por KLUGE e FARRIS (1969) com base em WAGNER (1961).

O método de parcimônia foi utilizado para inferir as relações de parentesco entre *Rhagomys* e as espécies de diferentes gêneros de roedores Sigmodontinae. Neste sentido, foi utilizado o programa PAUP v.4.0b10 software (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, SWOFFORD, 2001) que emprega o método algoritmo para maximizar o critério de otimização da árvore resultante, usando a opção de pesquisa exaustiva.

As unidades taxonômicas denominadas de OTU – “Operational Taxonomic Unit” (SNEATH e SOKAL, 1973) compreendem as espécies dos gêneros que foram comparados, sendo agrupadas de acordo com a sua maior similaridade.

Os caracteres escolhidos foram braços cromossômicos ou cromossomos inteiros diferenciados pelo bandeamento G. As comparações cromossômicas entre as cinco espécies foram realizadas da seguinte forma: a) primeiramente entre cromossomos inteiros, sejam acrocêntricos, submetacêntricos e metacêntricos; b) no caso dos cromossomos SM e M, não havendo homeologias, mesmo que parciais, foram transformados em telocêntricos (fissão cêntrica). Assim, permite-se uma análise mais adequada das homeologias dos diferentes segmentos cromossômicos. As mudanças dos estados dos caracteres foram consideradas levando-se em consideração possíveis eventos de rearranjos cromossômicos: fusões, fissões, inversões e deleções (BOROVIK, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2002).

## Polarização

A sistemática filogenética busca o reconhecimento de grupos monofiléticos através dos padrões de parentesco (NAPP, 1990). Assim, a metodologia cladística reconhece as sinapomorfias (caracteres compartilhados ou estados de caracteres derivados), sendo estas evidências válidas para justificar grupos monofiléticos. A comparação com o grupo externo (WATHROUS e WHEELER, 1984) está entre um dos mais utilizados para o reconhecimento de homeologias, justificado com base metodológica da parcimônia (NELSON, 1973; NELSON e PLATINICK, 1981; MADDISON, 1984). Esta metodologia foi adaptada para formulação de uma hipótese filogenética para as espécies deste trabalho, levando em consideração os dados citogenéticos (bandas G) (SBALQUEIRO, 1989; OLIVEIRA, 1996; HASS, 1997).

Este trabalho utilizou como *outgroup* a espécie *Oligoryzomys flavescens* (OFL), por ser considerada de um grupo primitivo dentro de Cricetidae e por possuir a maioria dos cromossomos autossomos acrocêntricos (SBALQUEIRO, 1989).

## INDIVÍDUOS ANALISADOS

Para a descrição cariotípica de *Rhagomys rufescens* e análise filogenética foram utilizadas várias espécies de várias localidades, sendo depositados em várias coleções:

***Oligoryzomys flavescens***: Brasil, Rio Grande do Sul, Esmeralda (27°02'59"S, 49°08'57"W), Fêmea: M 334.

Coleção de Mastozoologia do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Material publicado em SBALQUEIRO *et al.* (1991) e utilizado com autorização dos autores.

***Oecomys sp.***: Brasil, Paraná, Palmeira, Fazenda Santa Rita (25°25'46"S, 50°00'23"W) Macho: DZUP / CCMZ 102 (P 1010).

Coleção de Mastozoologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Indivíduo coletado por: J. M. D. Miranda, R. F. Moro-Rios e J. E. Silva-Pereira.

Material cedido por: I. J. Sbalqueiro e G. P. Rabelo (ambos da UFPR).

***Rhagomys rufescens***: Brasil, Santa Catarina, Indaial, Parque Natural Nascentes do Garcia (27°02'59"S, 49°08'57"W), Macho: FURB 9861, FURB 9921, FURB 12593, FURB 12597, FURB 12602. Fêmea: FURB 9908, FURB 12005, FURB 12596.

Coleção Científica do Laboratório de Biologia Animal da Universidade Regional de Blumenau (FURB).

Material obtido do presente estudo e cedido por: Steiner-Souza *et al.* (2008).

***Rhipidomys mastacalis***: Brasil, Bahia, Una, Fazenda Unacau (28°03'22"S, 51°11'20"W). Fêmea: UFPB 425.

Coleção de Mamíferos do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Material publicado em ZANCHIN *et al.* (1992a) e utilizado com autorização dos autores.



***Juliomys pictipes***: Brasil, Paraná, Morretes, Mãe Catira, Marumbi III (25°20'S, 48°50'W) Macho: P 201.

Coleção de Mastozoologia do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Material cedido por: I. J. Sbalqueiro

## APÊNDICE 2 – CARIOGRAMAS EM BANDEAMENTO G DAS ESPÉCIES ANALISADAS

FIGURA 12 – Cariograma em bandeamento G de *Oligoryzomys flavescens*,  $2n = 64$  e  $FNa = 66$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por SBALQUEIRO (1989).

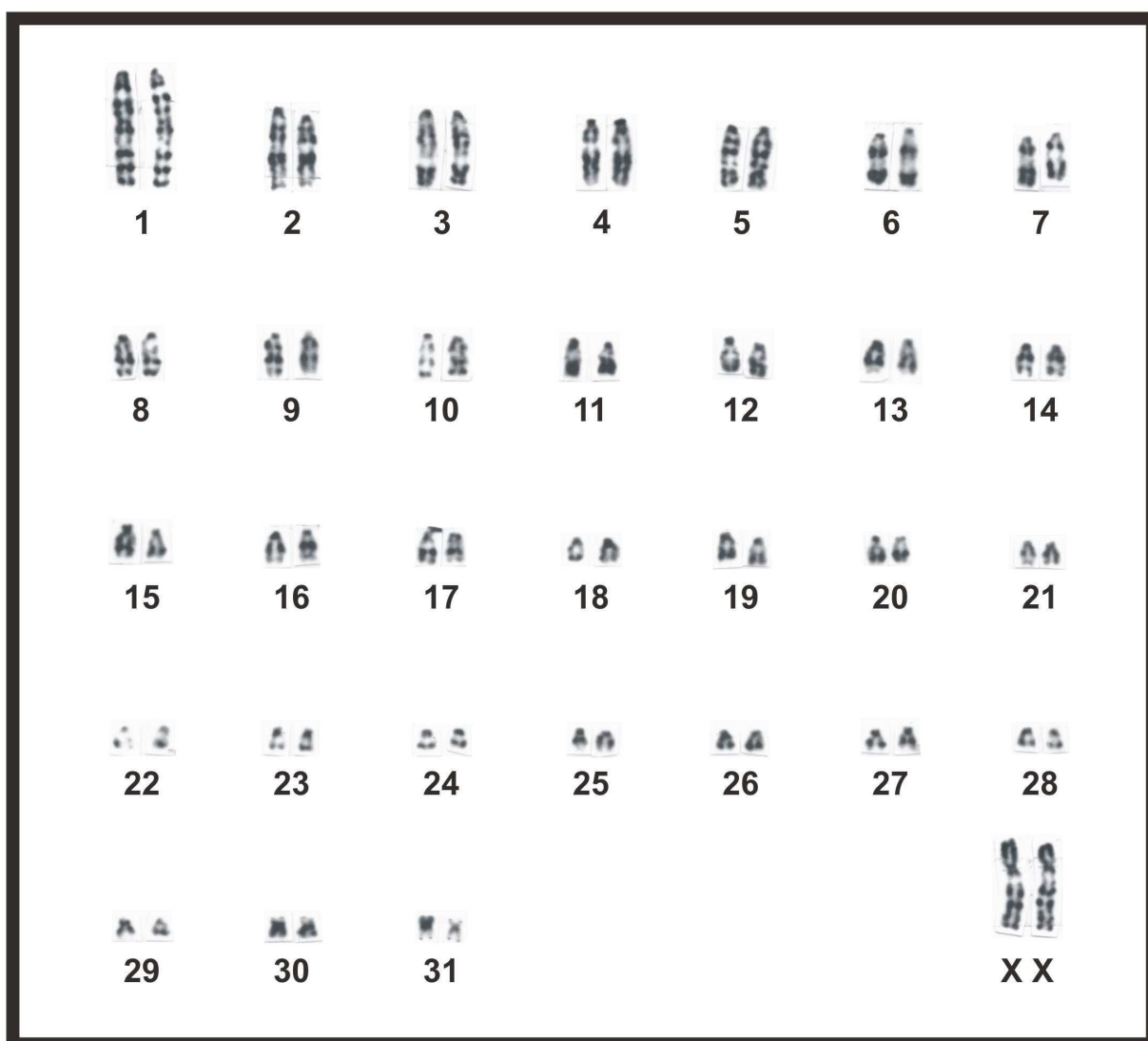
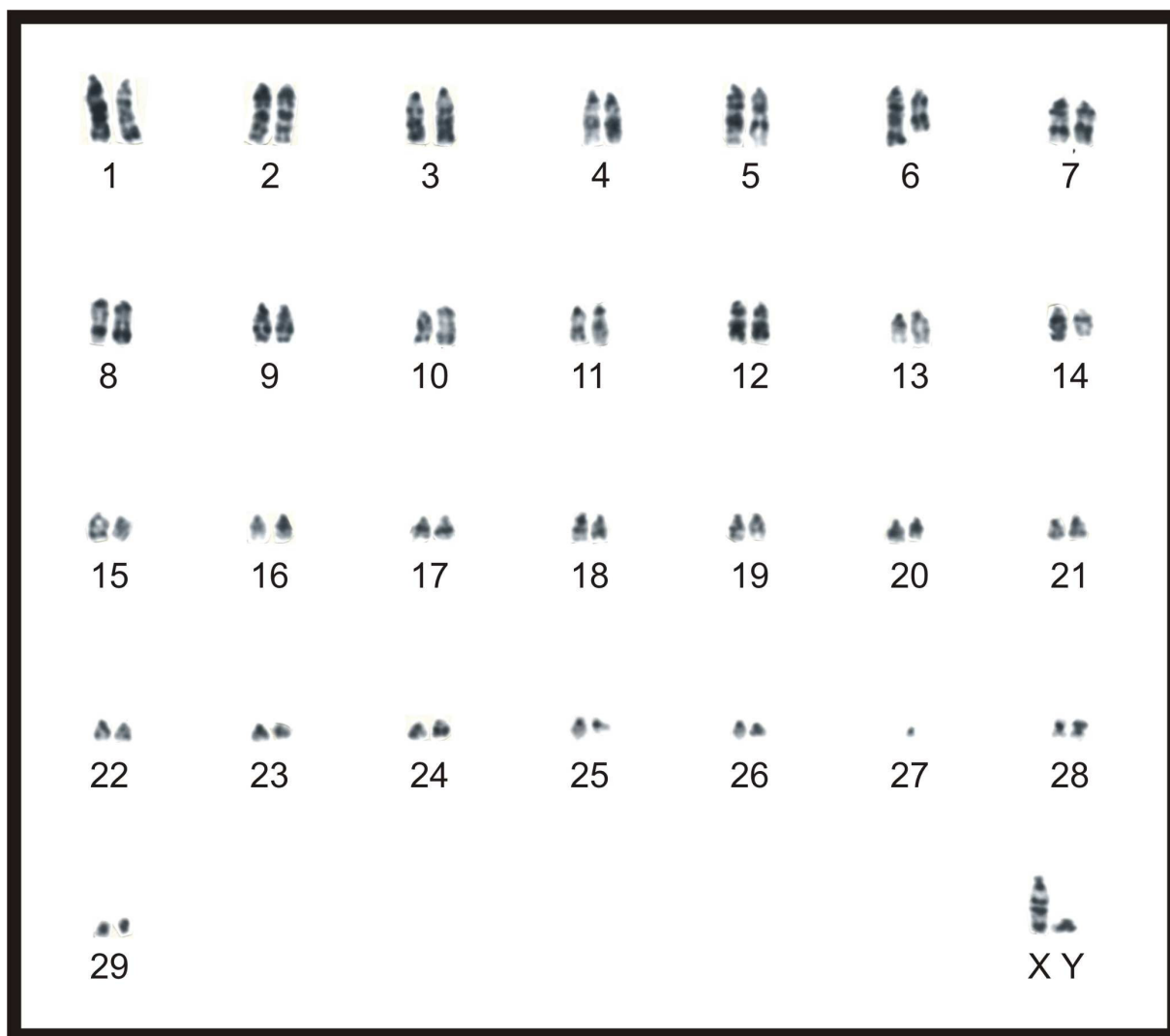


FIGURA 13 – Cariograma em bandeamento G de *Oecomys* sp.,  $2n = 60$  e  $FNa = 64$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta de I. J. Sbalqueiro e G. P. Rabelo (comunicação pessoal).



Obs.: o par do cromossomo 27 não é mostrado.

FIGURA 14 – Cariograma em bandeamento G de *Rhagomys rufescens*,  $2n = 36$  e  $FNa = 50$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por A. F. Testoni (presente trabalho, Capítulo 1).

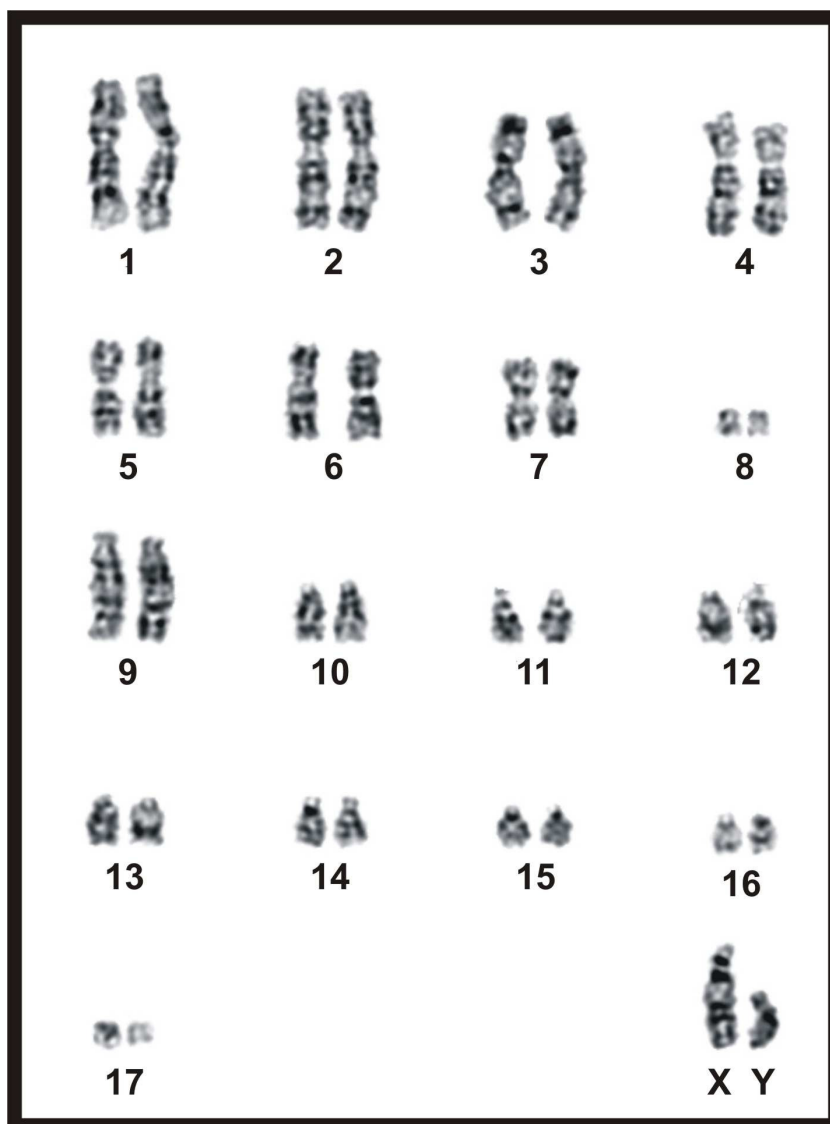


FIGURA 15 – Cariograma em bandeamento G de *Rhipidomys mastacalis*,  $2n = 44$  e  $FNa = 74$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por ZANCHIN *et al.* (1992a).

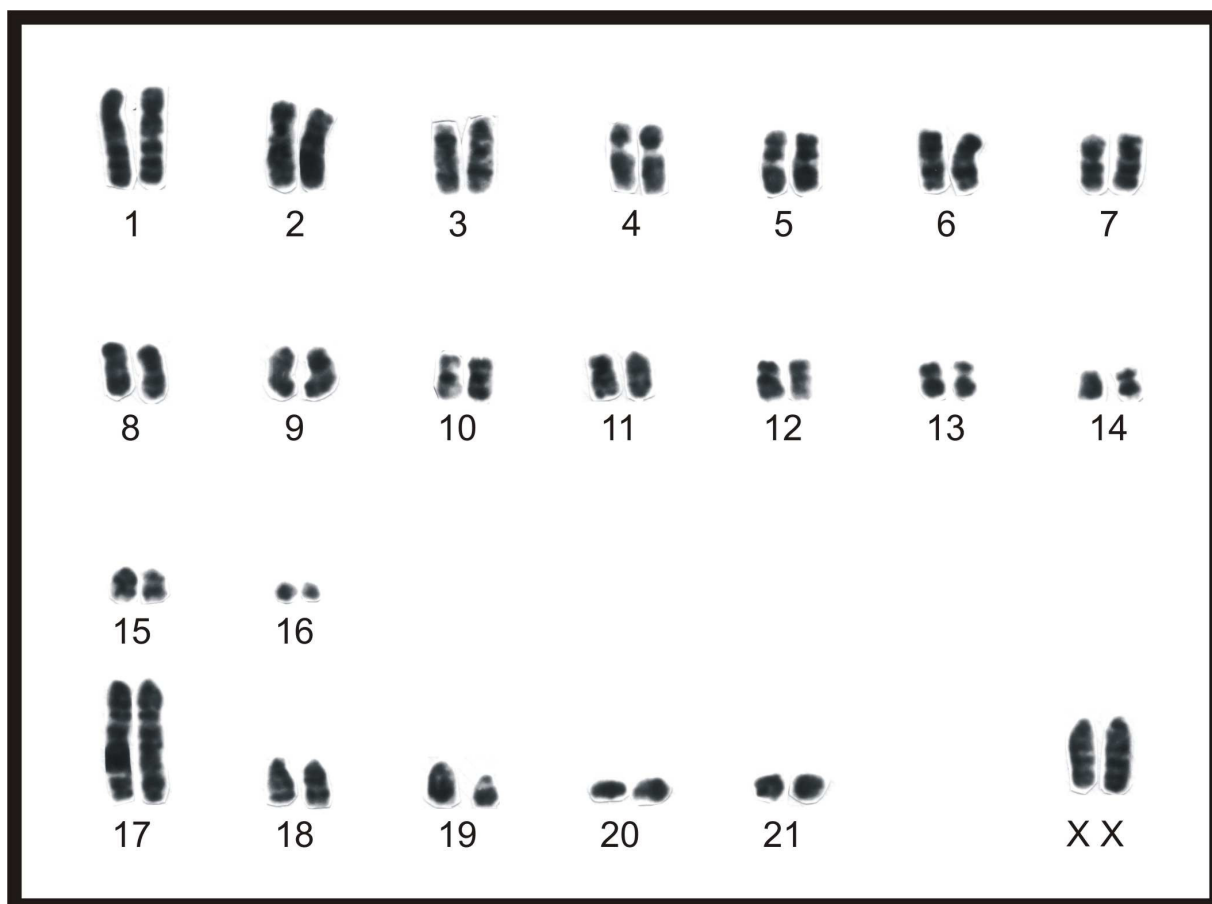
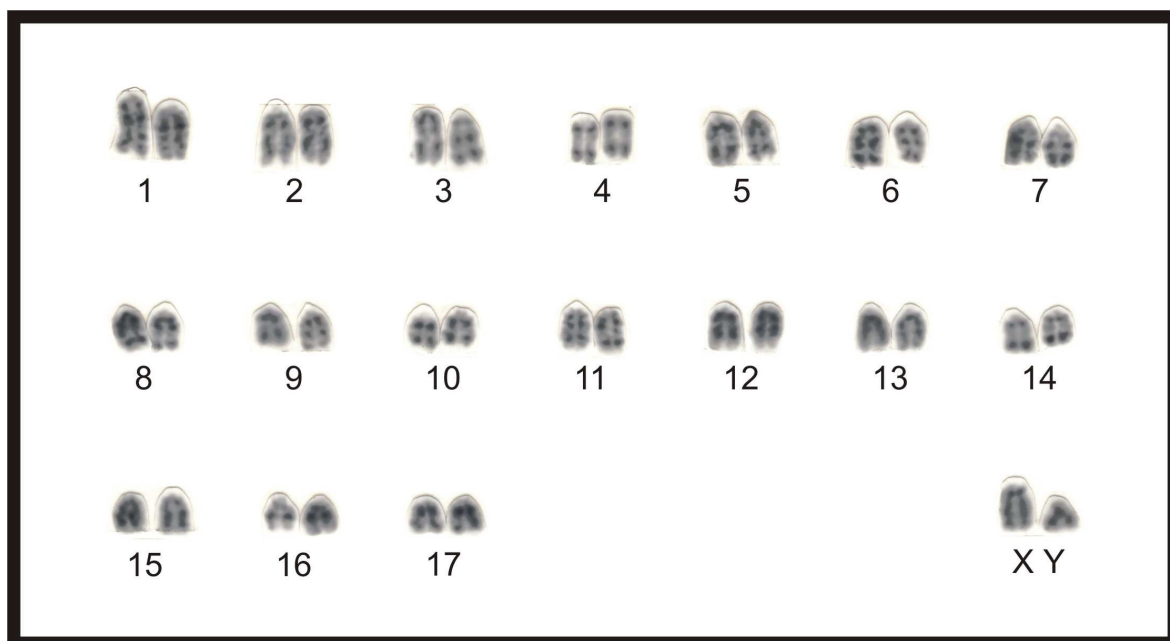


FIGURA 16 – Cariograma de *Juliomys pictipes*,  $2n = 36$  e  $FNa = 34$ , onde os cromossomos estão numerados conforme nomenclatura proposta por I. J. Sbalqueiro (comunicação pessoal).



### APÊNDICE 3 – SUPORTE AO ESTUDO FILOGENÉTICO

#### TABELA DE CARACTERES

TABELA 5 – Tabela de caracteres utilizados na análise filogenética, sendo que os caracteres considerados foram os cromossomos de *Oligoryzomys flavescens* (OFL).

<b>Caracter</b>	<b>Cromossomo</b>	<b>Caracter</b>	<b>Cromossomo</b>	<b>Caracter</b>	<b>Cromossomo</b>
<b>1</b>	OFL 1	<b>13</b>	OFL 13	<b>25</b>	OFL 27
<b>2</b>	OFL 2	<b>14</b>	OFL 14	<b>26</b>	OFL 28
<b>3</b>	OFL 3	<b>15</b>	OFL 15	<b>27</b>	OFL 29
<b>4</b>	OFL 4	<b>16</b>	OFL 16	<b>28</b>	OFL 30
<b>5</b>	OFL 5	<b>17</b>	OFL 17	<b>29</b>	OFL 31
<b>6</b>	OFL 6	<b>18</b>	OFL 18		
<b>7</b>	OFL 7	<b>19</b>	OFL 20		
<b>8</b>	OFL 8	<b>20</b>	OFL 21		
<b>9</b>	OFL 9	<b>21</b>	OFL 23		
<b>10</b>	OFL 10	<b>22</b>	OFL 24		
<b>11</b>	OFL 11	<b>23</b>	OFL 25		
<b>12</b>	OFL 12	<b>24</b>	OFL 26		

## MATRIZ TOTAL

TABELA 6 – Matriz de dados baseada na presença e ausência dos 29 caracteres.

Caracteres	Espécies				
	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
<b>1</b>	0	1	3	2	1
<b>2</b>	0	0	1	2	3
<b>3</b>	0	0	1	1	2
<b>4</b>	0	0	1	2	0
<b>5</b>	0	0	1	2	3
<b>6</b>	0	0	1	1	0
<b>7</b>	0	0	1	1	0
<b>8</b>	0	0	1	1	0
<b>9</b>	0	0	1	1	0
<b>10</b>	0	0	1	0	0
<b>11</b>	0	0	0	0	0
<b>12</b>	0	0	0	9	9
<b>13</b>	0	0	1	9	0
<b>14</b>	0	0	1	9	9
<b>15</b>	0	0	0	1	0
<b>16</b>	0	0	0	9	9
<b>17</b>	0	0	1	1	9
<b>18</b>	0	0	1	9	9
<b>19</b>	0	0	9	9	9
<b>20</b>	0	0	1	9	9
<b>21</b>	0	0	9	9	9
<b>22</b>	0	0	1	9	9
<b>23</b>	0	0	9	9	9
<b>24</b>	0	0	9	9	9
<b>25</b>	0	0	9	9	9
<b>26</b>	0	9	0	9	9
<b>27</b>	0	0	9	9	9
<b>28</b>	0	0	0	9	9
<b>29</b>	0	0	9	0	9

Estado dos caracteres: **(0)** = compartilhado; **(1, 2 ou 3)** = com mudança de estado; **(9)** = não comparável.



## HOMEOLOGIAS E REARRANJOS CROMOSSÔMICOS

TABELA 7 – Homeologias de cromossomos inteiros, parciais ou rearranjos cromossômicos compartilhados entre as espécies.

Caráter	Espécies				
	OFL	OSP	RRU	RMA	JPI
1	OFL 1 0	fusão OSP 3 + 2 1	fusão RRU 10 +14 + 16 3	fissão RMA 1 e 17 seguido de fusão RRU 1q + 17 prox 2	fusão JPI 1 + 6 1
2	OFL 2 0	OSP 5 0	fissão RRU 1q 1	inversão RMA 3p 2	fusão JPI 2 + 12 3
3	OFL 3 0	OSP 6 0	fissão RRU 2q 1	fissão RMA 17 prox 1	fusão JPI 7 + 11 2
4	OFL 4 0	OSP 4 0	fissão RRU 2 e 7 seguido de fusão RRU 2p + 7q 1	inversão RMA 2p 2	JPI 3 0
5	OFL 5 0	OSP 1 0	deleção RRU 9 prox 1	inversão RMA 5p 2	fusão JPI 8 + 10 3
6	OFL 6 0	OSP 7 0	fissão RRU 3p 1	deleção RMA 4p 1	JPI 4 0
7	OFL 7 0	OSP 8 0	fissão RRU 6q 1	deleção RMA 6p 1	JPI 5 0
8	OFL 8 0	OSP 10 0	fissão RRU 1p 1	deleção RMA 7p 1	JPI 9 0
9	OFL 9 0	OSP 9 0	fissão RRU 3q 1	inversão RMA 8p 1	JPI 13 0
10	OFL 10 0	OSP 12 0	fissão RRU 4q dist 1	RMA 18 0	JPI15 0
11	OFL 11 0	OSP 11 0	RRU 12 0	RMA 19 0	JPI 14 0
12	OFL 12 0	OSP 14 0	RRU 11 0	não comparável 9	não comparável 9
13	OFL 13 0	OSP 18 0	fissão RRU 7p 1	não comparável 9	JPI 16 0
14	OFL 14 0	OSP 13 0	fissão RRU 5q 1	não comparável 9	não comparável 9
15	OFL 15 0	OSP 15 0	RRU 13 0	fissão RMA 1p 1	JPI 17 0
16	OFL 16 0	OSP 16 0	RRU 15 0	não comparável 9	não comparável 9
17	OFL 17 0	OSP 19 0	fissão RRU 5p 1	fissão RMA 9q 1	não comparável 9
18	OFL 18 0	OSP 21 0	fissão RRU 6p 1	não comparável 9	não comparável 9
19	OFL 20 0	OSP 22 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
20	OFL 21 0	OSP 17 0	fissão RRU 4p 1	não comparável 9	não comparável 9
21	OFL 23 0	OSP 25 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
22	OFL 24 0	OSP 24 0	fissão RRU 4q prox 1	não comparável 9	não comparável 9
23	OFL 25 0	OSP 20 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
24	OFL 26 0	OSP 23 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
25	OFL 27 0	OSP 26 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
26	OFL 28 0	não comparável 9	RRU 17 0	não comparável 9	não comparável 9
27	OFL 29 0	OSP 27 0	não comparável 9	não comparável 9	não comparável 9
28	OFL 30 0	OSP 28 0	RRU 8 0	não comparável 9	não comparável 9
29	OFL 31 0	OSP 29 0	não comparável 9	RMA 16 0	não comparável 9

Estado dos caracteres: (0) = compartilhado; (1, 2 ou 3) = com mudança de estado; (9) = não comparável.