

**BIANCA DE SOUZA ARAÚJO ADÃO**

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA E CRANIANA INTRAPOPOPULACIONAL DE  
*Blarinomys breviceps* (RODENTIA: SIGMODONTINAE) DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Gisele Mendes Lessa del Giúdice

Coorientadores: Jorge Abdala Dergam dos Santos  
Natália Martins Travenzoli

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

A221c  
2019 Adão, Bianca de Souza Araújo, 1994-  
Caracterização cariotípica e craniana intrapopulacional de  
*Blarinomys breviceps* (Rodentia: Sigmodontinae) de Minas  
Gerais / Bianca de Souza Araújo Adão. – Viçosa, MG, 2019.  
46 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Gisele Mendes Lessa del Giudice.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Blarinomys*. 2. Cariótipos. 3. Crânio - Morfometria.  
4. Zoologia - Variação. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação  
em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 599.35

BIANCA DE SOUZA ARAÚJO ADÃO


**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA E CRANIANA INTRAPOPULACIONAL DE  
*Blarinomys breviceps* (RODENTIA: SIGMODONTINAE) DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 09 de agosto de 2019.

Assentimento:

  
Bianca de Souza Araújo Adão  
Autora

  
Gisele Mendes Lessa de Giúdice  
Orientadora

*Dedico este trabalho aos meus amados pais, Rosa e Arenil,  
que não mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por minha vida, família e amigos.

A minha família, meus pais, Arenil e Rosa, minha irmã, Bruna, e meu irmão de coração Téo que sempre caminharam ao meu lado me dando coragem e todo o suporte de que preciso.

Ao meu namorado, Jessé, por ser meu parceiro na vida, sempre me incentivando e apoiando.

A Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de fazer graduação e pós-graduação.

Aos amigos que me fortaleceram e me ajudaram a crescer pessoalmente e profissionalmente ao longo destes sete anos de UFV, compartilhando perrengues, alegrias, desafios e conquistas.

Em especial, as minhas queridas amigas Bárbara, Karina e Thércia.

A minha orientadora, professora Gisele, por me receber de braços abertos em seu laboratório e por ter me confiado a realização deste trabalho.

Aos amigos maravilhosos do LabMasto pelo suporte, incentivo e aprendizados imensuráveis que recebi ao longo desses anos. Em especial, a minha grande parceira Adrielli por seu companheirismo e por toda a sua surpreendente habilidade de se coletar tantos *Blarinomys*. E a Polly, pela paciência e prontidão em nos ajudar.

A Fê, amiga mais que especial, que compartilhou comigo muitos momentos de angústia e também de alegria durante o projeto, sendo minha parceira na citogenética.

Ao professor Jorge Dergam por me receber sempre muito bem em seu laboratório (Beagle) e me fornecer todo suporte que precisei durante as análises. E aos parceiros do Beagle, em especial a Késsia, Natália e Simoni, pela grande contribuição e apoio durante a minha passagem pelo laboratório.

A professora Marta Svartman por se prontificar em nos ajudar, abrindo as portas do seu laboratório; e aos seus orientados, em especial a Mirela, pela paciência e enorme contribuição no projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

ADÃO, Bianca de Souza Araújo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2019. **Caracterização cariotípica e craniana intrapopulacional de *Blarinomys breviceps* (Rodentia: Sigmodontinae) de Minas Gerais**. Orientadora: Gisele Mendes Lessa del Giúdice. Coorientadores: Jorge Abdala Dergam dos Santos e Natália Martins Travenzoli.

O roedor fossorial do gênero *Blarinomys* é representado pela única espécie *B. breviceps*. Sua distribuição se estende do sul da Bahia ao sul do estado de São Paulo e no nordeste da Argentina. Embora tenha uma ampla distribuição e especialização de hábito, é uma espécie rara em coleções científicas e com poucos estudos que avaliaram suas variações intrapopulacionais. O presente estudo teve como objetivo realizar uma análise cariotípica (Capítulo I) e morfométrica craniana (Capítulo II) intrapopulacional de *B. breviceps* provenientes do município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Todas as amostras foram cedidas pela coleção mastozoológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa. Foram analisadas preparações cromossômicas de dez exemplares, sendo realizados bandeamentos CBG, GTG e Ag-RON, e FISH com sondas de DNA telomérico (TTAGGG)<sub>n</sub>. Na morfometria craniana foram examinados 22 caracteres quantitativos crânio-dentários, tomados com um paquímetro digital com precisão de 0,01mm, de 23 espécimes. Testes estatísticos investigaram a existência de dimorfismo sexual como uma possível fonte de variação intrapopulacional. Foi descrito um novo cariótipo com  $2n = 40$  e  $NF = 50$ , formado por um par de cromossomos metacêntricos, cinco pares submetacêntricos, 13 pares acrocêntricos, X e Y acrocêntricos. Com exceção de um par sexual XX heteromórfico, com um cromossomo submetacêntrico e outro acrocêntrico. Foi observada uma variação cariotípica entre os indivíduos devido a presença de cromossomos Bs metacêntricos. O bandeamento CBG identificou heterocromatina constitutiva na região pericentromérica. Os cromossomos Bs não apresentaram essa marcação. O bandeamento GTG mostrou um padrão de bandas correspondente entre os espécimes e a RONS foram observadas nos braços curtos de autossomos acrocêntricos. A sonda telomérica resultou na marcação dos telômeros e em ITSs na região pericentromérica. A morfometria craniana não apresentou dimorfismo sexual significativo, embora mais da metade dos caracteres cranianos apresentassem uma média maior nos indivíduos machos.

Palavras-chave: *Blarinomys*. Cariótipo. Morfometria craniana. Variação intrapopulacional.

## ABSTRACT

ADÃO, Bianca de Souza Araújo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2019. **Intrapopulation karyotypic and cranial characterization of *Blarinomys breviceps* (Rodentia: Sigmodontinae) from Minas Gerais.** Adviser: Gisele Mendes Lessa del Giúdice. Co-advisers: Jorge Abdala Dergam dos Santos and Natália Martins Travenzoli.

The fossorial rodent *Blarinomys* genus is represented by one species *B. breviceps*. Its distribution is from southern Bahia south of São Paulo and northeastern Argentina. Although it has a distribution and specialization of habit, it is a rare species in scientific collections and few studies assessing their intrapopulation variation. This study aimed to one karyotype (Chapter I) and cranial morphometric (Chapter II) analysis intrapopulation *B. breviceps* from the city of Viçosa, Minas Gerais, Brazil. All samples were provided by mastozoological collection of João Moojen Zoology Museum of the Federal University of Viçosa. Chromosomal preparations of ten specimens were analyzed, being performed CBG, GTG and Ag-NOR banding, and FISH with telomeric DNA probes (TTAGGG)<sub>n</sub>. In the cranial morphometry, twenty-two craniodental measurements were taken using digital calipers at a 0.01 mm resolution from each of 23 specimens. Statistics tests investigated the existence of sexual dimorphism as a possible source of intrapopulation variation. A new karyotype with  $2n = 40$  and  $NF = 50$  was described, consisting of one pair of metacentric chromosomes, five submetacentric pairs, 13 acrocentric pairs, acrocentric X and Y. With exception of a heteromorphic sexual XX, with a submetacentric and an acrocentric chromosome. A karyotype variation was observed among the individuals due to the presence of metacentric Bs chromosomes. The distribution of constitutive heterochromatin (CBG banding) showed pericentromeric bands. Bs chromosomes were not labeled. GTG banding showed a corresponding bands pattern between the specimens, and the NORs were observed in the short arms of chromosomes autosomes acrocentrics. The telomeric probe resulted in the labeling of telomeres and ITSs in pericentromeric region. Cranial morphometrics did not present significant sexual dimorphism, although more than half of the cranial characters had a higher mean in males.

Keywords: *Blarinomys*. Karyotype. Cranial morphometry. Intrapopulation variation.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	8
1.1 Roedores sigmodontíneos.....	8
1.2 Citogenética de sigmodontíneos.....	9
1.3 Morfometria craniana de sigmodontíneos .....	11
1.4 Roedor <i>Blarinomys breviceps</i> .....	12
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral .....	15
2.2 Objetivos específicos .....	15
2.2.1 Caracterização cariotípica.....	15
2.2.2 Caracterização morfológica.....	15
CAPÍTULO I.....	16
CAPÍTULO II.....	33
3 REFERÊNCIAS .....	44

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Roedores sigmodontíneos

Dentro do grande número de espécies de mamíferos conhecidas em todo o mundo, a ordem Rodentia é aquela com maior número de espécies já descritas, sendo representada por mais de 42% das espécies e 39% dos gêneros do mundo (WILSON; REEDER, 2005). Dentro da ordem, a subfamília Sigmodontinae Wagner, 1843 representa, com sua ampla diversidade morfológica e ecológica, grande parte dos roedores nativos da América do Sul (PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015). A distribuição desse táxon não se restringe apenas à América do Sul alcançando também a América Central e América do Norte (D'ELÍA, 2003).

Os sigmodontíneos apresentam uma diversidade de hábitos, desde terrestres, arborícolas, escansoriais, fossoriais até semi-aquáticos, ocupando ambientes costeiros ou de altitude, florestas úmidas ou campos secos (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008; PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015). As espécies dessa subfamília, podem ser encontradas em todos os biomas brasileiros, com espécies endêmicas da Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e Amazônia (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). Além de toda essa diversidade adaptativa, estudos mostraram que a variedade de caracteres morfológicos e moleculares são capazes de subdividir a subfamília em diferentes tribos (SMITH; PATTON, 1993; D'ELÍA *et al.*, 2007; PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015; SALAZAR-BRAVO *et al.*, 2016).

Das 12 tribos que separam os sigmodontíneos, incluindo a recém-descrita Andinomyini Salazar-Bravo (2016), a tribo Akodontini Vorontsov, 1959 destaca-se como a segunda com a maior riqueza, apresentando animais de hábitos diversificados (cursorial, semi-fossorial e semi-aquático) ao longo de quase toda a extensão da América do Sul exceto, apenas, por algumas regiões da Patagônia e Chile (PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015; SALAZAR-BRAVO *et al.*, 2016). Através da análise de dados moleculares, D'Elía (2003) propôs a separação da tribo em cinco divisões: Divisão Akodon, contendo os gêneros *Akodon*, *Deltamys*, *Necromys*, *Thalpomys* e *Thaptomys*; Divisão Blarinomys, com os gêneros *Blarinomys*, *Brucepattersonius* e *Lenoxus*; Divisão Oxymycterus, possuindo os gêneros *Oxymycterus* e *Juscelinomys*; Divisão Scapteromys, com os gêneros *Scapteromys* e *Kunsia*; e, por fim, a Divisão Bibimys possuindo o único gênero *Bibimys*.

Desde que foram nomeados por Vorontsov (1959), os roedores akodontinos passaram por várias revisões taxonômicas com realocações e sinonimizicações de inúmeras espécies. A mais recente, que vem sendo amplamente utilizada, foi descrita por D'Elía e Pardiñas (2015) e

conta com 85 espécies distribuídas em 15 gêneros. Dentre esses gêneros, existem alguns que apresentaram os limites de distribuição ampliados, mas que possuem apenas uma ou poucas espécies descritas e ainda são considerados localmente raros como é o caso do gênero *Blarinomys* Thomas, 1896 (SMITH; PATTON, 1993).

## 1.2 Citogenética de sigmodontíneos

Os estudos citogenéticos relacionam-se a aspectos no que diz respeito aos cromossomos, tais como a sua morfologia, organização, variação e evolução (GUERRA, 1988). Sua importância está relacionada ao fato de que os cromossomos são as estruturas responsáveis pelo surgimento de variações importantes para a diversificação e evolução dos organismos, como é o caso das recombinações e dos rearranjos do material genético (MARTINS *et al.*, 2011). Nesse contexto, desde que essas estruturas foram visualizadas pela primeira vez ao microscópio, a citogenética passou por inúmeras melhorias em suas técnicas e metodologias permitindo que, hoje, pudéssemos fornecer hipóteses sobre os rearranjos cromossômicos e evolução dos genomas de diversos grupos (DOBIGNY; YANG, 2008).

Todavia, mesmo com os avanços nessa área alguns desafios ainda permanecem, como, por exemplo, a investigação de linhagens como a dos roedores murídeos, nas quais os genomas são amplamente rearranjados (DOBIGNY; YANG, 2008). Esses roedores, representados em sua maioria pela subfamília Sigmodontinae, são altamente diversificados cariotipicamente devido ao seu alto índice de rearranjos, e por isso, são destacados como um excelente grupo para estudos de evolução cromossômica (DI-NIZO *et al.*, 2017).

Somente dentro da tribo Akodontini, por exemplo, existe uma ampla variação entre os diferentes números diploides sendo possível encontrar espécie com número diploide  $2n = 14$  (FAGUNDES; VIANNA-MORGANTE; YONENAGA-YASSUDA, 1997) assim como  $2n = 70$  cromossomos (GONÇALVES *et al.*, 2012). Toda essa variabilidade cromossômica tornou-se conhecida a partir do início da década de 1970, com novos cariótipos e dados cromossômicos de um grande número de espécies da subfamília Sigmodontinae (PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015).

Com o advento da citogenética, as novas técnicas de bandeamento possibilitaram identificar regiões específicas, como aquelas ricas em heterocromatina constitutiva (Bandas CBG), regiões organizadoras de nucléolo (Ag-RON), assim como regiões ricas em bases AT (adenina-timina) (Bandas GTG) e CG (citosina-guanina) (Bandas RBG), apresentando extrema relevância para a citogenética comparativa (GUERRA, 1988; KASAHARA, 2009). Em

especial, os bandeamentos GTG e RBG permitiram uma comparação cariotípica mais detalhada e confiável principalmente entre as espécies de mamíferos, sendo muito utilizada em estudos com roedores, devido a uma possível explicação relacionada a compartimentalização do genoma (KASAHARA, 2009).

Entretanto, após anos de estudos baseados essencialmente na comparação de padrões de bandas, a associação da citogenética com a biologia molecular, a partir da década de 1980, revolucionou os estudos citogenéticos, permitindo uma nova e importante abordagem para o estudo da evolução cariotípica (YONENAGA-YASSUDA, 2005). Através de técnicas, como a hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), passou a ser possível identificar com maior precisão a localização de sequências específicas de DNA nos cromossomos metafásicos com base na sua desnaturação e sua posterior hibridação com sequências complementares de DNA, chamadas sondas (KASAHARA, 2009).

Dentre os diferentes tipos de sondas fluorescentes utilizadas na FISH, estão as sondas de DNA telomérico que são comumente utilizadas em estudos citogenéticos de roedores. Esse tipo de sonda, cuja composição é formada por sequências repetidas organizadas *in tandem* (uma seguida à outra), contribuem para elucidação de possíveis rearranjos cromossômicos, como, por exemplo, inversões e fusões cêntricas (YONENAGA-YASSUDA, 2005). Dessa forma, atualmente, a hibridação *in situ* tem sido utilizada em conjunto com as técnicas de bandeamento objetivando compreender as questões relacionadas à evolução cromossômica, responsáveis pela variação cariotípica encontrada entre as espécies.

Em relação ao roedor *Blarinomys breviceps* (WINGE, 1888), as análises citogenéticas, ainda que escassas, incluem técnicas de citogenética clássica e molecular a partir de poucos indivíduos amostrados ao longo dos estados brasileiros onde ocorre (*e.g.* GEISE *et al.*, 2008; VENTURA *et al.*, 2012). O estudo pioneiro na descrição do cariótipo da espécie foi o de Geise *et al.* (2008) no qual foi cariotipado um único indivíduo coletado no estado do Rio de Janeiro, com número diploide de  $2n = 28$  cromossomos e número fundamental de braços autossômicos (NF) = 50 (Tabela 1). Já o segundo e mais recente estudo de citogenética da espécie é o de Ventura *et al.* (2012), no qual foi apresentada uma ampla diversidade cariotípica para *Blarinomys breviceps*. Foram descritos oito cariótipos distintos, todos com o mesmo número fundamental de braços autossômicos (NF = 50). Essa variação cariotípica foi explicada devido a presença de cromossomos supranumerários (Bs), apresentando uma variação de indivíduos com zero a quatro cromossomos Bs, e de rearranjos Robertsonianos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Dados de *Blarinomys breviceps* quanto ao número diploide (2n), número fundamental (NF), fórmula cariotípica e localidade coleta.

Número diploide	Fórmula cariotípica	Localidade de coleta
2n = 28 (26A, XY) NF = 50	24m + 2a + 2XY X e Y acrocêntricos	Valença, Rio de Janeiro <sup>12</sup>
2n = 31 (27A*, XX+2Bs) NF = 50	23m + 4a + 2m (Bs) + 2XX X acrocêntrico	Natividade da Serra, São Paulo <sup>2</sup>
2n = 34 (32A**, XX) NF = 50	18m + 14a + 2XX X acrocêntrico	São Bernardo do Campo, São Paulo <sup>2</sup>
2n = 37 (34A, XY+1B) NF = 50	16m + 18a + 1m (B) + 2XY X e Y acrocêntricos	São Bernardo do Campo, São Paulo <sup>2</sup>
2n = 43 (37A*, XX+4Bs) NF = 50	13m + 24a + 4m (Bs) + 2XX X acrocêntrico	São Paulo, São Paulo <sup>2</sup>
2n = 45 (42A, XY+1B) NF = 50	8sm + 34a + 1m (B) + 2XY X e Y acrocêntricos	Cariacica, Espírito Santo <sup>2</sup>
2n = 52 (48A, XY+2Bs) NF = 50	2sm + 46a + 2m (Bs) + 2XY X e Y acrocêntricos	Jussari, Bahia <sup>2</sup>
2n = 52 (50A, XX) NF = 50	50a + 2XX X acrocêntrico	Jequitinhonha, Minas Gerais <sup>2</sup>

Nota: \*, \*\* = presença de 1 e 2 rearranjos Robertsonianos (Rbs), respectivamente.

A = autossomos, sm = submetacêntrico, a = acrocêntrico, m = metacêntrico.

<sup>1</sup>Geise *et al.* (2008); <sup>2</sup>Ventura *et al.* (2012).

### 1.3 Morfometria craniana de sigmodontíneos

Dentro da pesquisa biológica, a morfometria consiste em um conjunto de métodos utilizados para analisar a variação associada à forma corporal, contribuindo, dessa maneira, para a compreensão de suas origens, manutenção e consequências (PARSONS; ROBINSON; HRBEK, 2003). Essas variações podem ser analisadas dentro de um organismo ou entre amostras de organismos distintos e podem ter sido originadas por diversas razões, tais como crescimento, tratamento experimental ou evolução (ROHLF; MARCUS, 1993).

Atualmente, existem dois principais métodos morfométricos: a morfometria tradicional e a morfometria geométrica. A primeira, referida como tradicional ou também como multivariada, tem apenas algumas décadas e caracteriza-se pela aplicação de métodos estatísticos multivariados a conjuntos de variáveis (ROHLF; MARCUS, 1993). Essas variáveis, normalmente, correspondem a várias medidas que podem ser comprimento, largura ou distância entre pontos de referência realizadas em um organismo ou estruturas. Já a morfometria geométrica, segundo Rohlf & Marcus (1993), utiliza dados gravados, geralmente por meio do registro fotográfico, para analisar a geometria da estrutura ou do organismo em estudo, na forma

de coordenadas bidimensionais ou tridimensionais de pontos de referência morfológica.

Em roedores, as evidências dentárias e cranianas são tradicionalmente utilizadas na avaliação das relações propostas entre as espécies bem como entre este grupo e outros mamíferos (WAHLERT, 1984). São analisados, dentre outros caracteres cranianos, a ocorrência e conformação de certos forames, sendo possível, através dos quais, determinar inclusive o padrão de circulação das artérias faciais (WAHLERT, 1984).

Em *Blarinomys breviceps*, Abravaya & Matson (1975) foram os primeiros a indicar, através da morfometria craniana, a variação morfológica intrapopulacional e geográfica da espécie. A partir da análise morfométrica relatou-se a presença de dimorfismo sexual em caracteres cranianos da espécie (ABRAVAYA; MATSON, 1975; GEISE *et al.*, 2008). Além disso, recentemente, uma descrição detalhada da morfologia craniana baseada no hábito fossorial e insetívoro de *B. breviceps* possibilitou a sua distinção entre seus parentes mais próximos, os gêneros *Brucepattersonius* e *Lenoxus* (MISSAGIA; PERINI, 2018). Portanto, a grande variação na morfologia craniana entre as espécies de roedores, mesmo entre linhagens estreitamente relacionadas, torna a morfologia crânio-dentária amplamente utilizada na sistemática desses animais (VOSS; MARCUS, 1992).

#### **1.4 Roedor *Blarinomys breviceps***

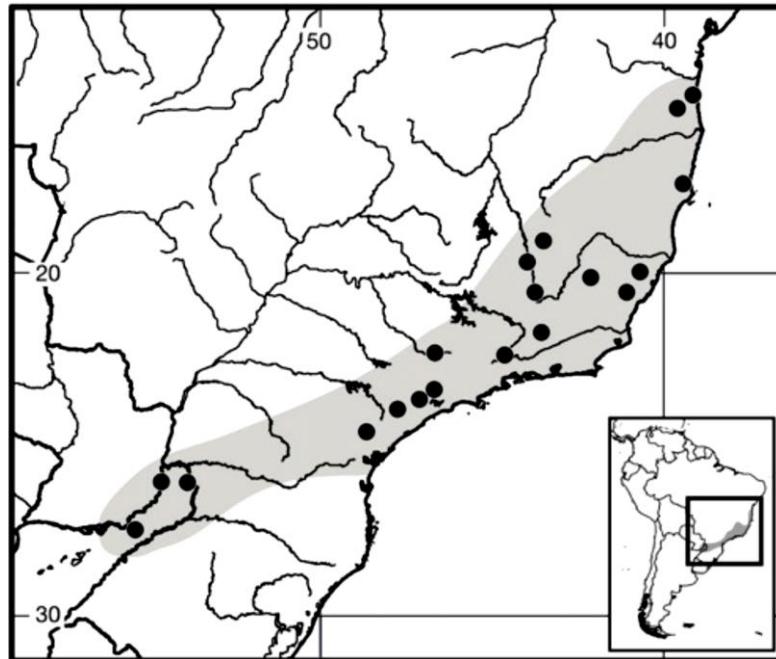
Descrito por Thomas em 1896, o gênero *Blarinomys* é representado pela única espécie *B. breviceps* (WINGE, 1888) cujas adaptações ao hábito fossorial a difere da maioria dos demais sigmodontíneos (TETA; PARDIÑAS, 2015). Suas características morfológicas adaptadas ao modo de vida subterrâneo inclui a cabeça pequena e cônica, olhos e orelhas reduzidos e escondidos sob a pelagem, cauda curta e garras bem desenvolvidas (Figura 1) (THOMAS, 1896). Além do hábito fossorial, Reis *et al.* (1996), Geise *et al.*, (2008) e Diório (2011) puderam comprovar as especulações de Abravaya e Matson (1975) sobre o hábito insetívoro da espécie, através de análises do conteúdo estomacal ou do fornecimento de alimento em espécimes mantidos em cativeiro.



**Figura 1.** Exemplar de *Blarinomys breviceps* coletado no município de Viçosa, Minas Gerais (Foto: Clodoaldo Assis).

Originalmente, a espécie foi descrita dentro do gênero *Oxymycterus* Winge, 1888 a partir de um fragmento craniano datado do Pleistoceno coletado por Peter Lund em Lagoa Santa, município do estado de Minas Gerais. Entretanto, após a coleta de um espécime vivo e a observação das suas características morfológicas *B. breviceps* foi alocada para o novo gênero *Blarinomys* Thomas, 1896 (THOMAS, 1896; DAVIS, 1944; ABRAVAYA; MATSON, 1975). A sua posição filogenética entre os sigmodontíneos foi determinada através de um estudo realizado por D'Elia, em 2003, no qual a espécie formou um clado fortemente suportado por meio de dados moleculares com os gêneros *Brucepattersonius* e *Lenoxus*.

Seus registros de ocorrência estão distribuídos ao longo da Mata Atlântica bem como em áreas de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, ocorrendo desde o sul da Bahia ao sul do estado de São Paulo e na província de Misiones, no nordeste da Argentina (Figura 2) (PAGLIA *et al.*, 2005; GEISE *et al.*, 2008). Ademais, a espécie pode ocorrer em altitudes que variam desde o nível do mar até 1570 m de altitude (DAVIS, 1944; ABRAVAYA; MATSON, 1975; REIS *et al.*, 1996; GEISE *et al.*, 2008). Apesar da sua ampla distribuição, os registros da espécie e de outros sigmodontíneos foram ampliados somente nas últimas décadas com a utilização de armadilhas mais apropriadas na captura de pequenos mamíferos com hábitos mais especializados (*e.g.* insetívoros, fossoriais) (GEISE *et al.*, 2008).



**Figura 2.** Localidades de registro de *Blarinomys breviceps* no Brasil e na Argentina (TETA; PARDIÑAS, 2015).

Embora tenha uma ampla distribuição e especialização de hábito, *B. breviceps* é considerada rara em coleções científicas e com poucos estudos que avaliaram suas variações intrapopulacionais. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi realizar uma análise cariotípica e morfológica craniana intrapopulacional de *B. breviceps* provenientes do município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, através da citogenética clássica e molecular, e da morfometria craniana tradicional. Os resultados alcançados foram apresentados sob a forma de dois capítulos: o primeiro, relacionado à análise cariotípica e o segundo à análise morfológica.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este estudo teve como objetivo geral analisar o cariótipo e a morfologia craniana dos espécimes de uma população de *Blarinomys breviceps* proveniente da reserva de Mata Atlântica conhecida como Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA Mata do Paraíso), localizada no município de Viçosa, no estado de Minas Gerais.

### **2.2 Objetivos específicos**

#### **2.2.1 Caracterização cariotípica**

Descrição do cariótipo dos espécimes com base nas seguintes informações: número diploide ( $2n$ ); número fundamental de braços autossômicos (FN); morfologia dos cromossomos; padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva, das regiões ricas em bases AT (adenina-timina) e das regiões organizadoras de nucléolo; e do padrão de hibridação com sonda de DNA telomérico.

#### **2.2.2 Caracterização morfológica**

Analisar a variação morfológica em caracteres cranianos quantitativos testando a presença de dimorfismo sexual entre os espécimes.

## CAPÍTULO I

### UM NOVO CARIÓTIPO PARA A ESPÉCIE *Blarinomys breviceps* (RODENTIA: SIGMODONTINAE)

#### Resumo

*Blarinomys breviceps* (Winge, 1888) representa um dos roedores com a maior diversidade cariotípica registrada dentro da tribo Akodontini. Neste estudo foi descrito um novo cariótipo para a espécie baseado em amostras coletadas na reserva biológica EPTEA Mata do Paraíso, no município de Viçosa, Minas Gerais. Esta descrição conduziu os primeiros conhecimentos sobre os padrões citogenéticos intrapopulacionais da espécie. O cariótipo foi descrito utilizando bandeamentos CBG, GTG e Ag-RON e FISH com sonda de DNA telomérico (TTAGGG)<sub>n</sub>, e comparado com os cariótipos de outras localidades previamente descritos da espécie. Os espécimes de Viçosa apresentaram  $2n = 40$  e  $NF = 50$  com um par de cromossomos metacêntricos de tamanho médio, cinco pares submetacêntricos médios, 13 pares acrocêntricos decrescendo em tamanho, um X acrocêntrico grande e um Y acrocêntrico pequeno. Uma fêmea apresentou o par sexual XX heteromórfico, sendo um cromossomo submetacêntrico e o outro acrocêntrico grande. Foi observado uma variação cariotípica entre os indivíduos devido a presença de um a dois cromossomos supranumerários (Bs), que foram classificados como metacêntricos. O bandeamento GBG identificou rearranjos Robertsonianos envolvendo cromossomos diferentes daqueles previamente descritos. O padrão de distribuição da heterocromatina e das RONS corroboraram o indicado para a espécie, exceto pela inserção de material heterocromático observado através do bandeamento CBG no par sexual heteromórfico. A presença de ITSs identificada após a FISH com sonda de DNA telomérico está de acordo com outras populações da espécie estudadas. A evolução cromossômica de *Blarinomys breviceps* está moldada, assim como em outras espécies de roedores fossoriais, nos rearranjos cromossômicos como as translocações Robertsonianas e em particular na inserção de material heterocromático.

Palavras-chave: *Blarinomys*, Cariótipo, Variação Intrapopulacional.

## 1. Introdução

Os roedores da subfamília Sigmodontinae Wagner, 1843 representam, com sua ampla diversidade morfológica e ecológica, grande parte dos roedores nativos da América do Sul (D'ELÍA; PARDIÑAS, 2015). Dentre eles, o gênero fossorial *Blarinomys* Thomas, 1896 pertencente a tribo Akodontini e considerado monotípico, sendo representado pela espécie *Blarinomys breviceps* (WINGE, 1888). Suas adaptações morfológicas relacionadas ao hábito fossorial como, olhos e orelhas reduzidos, garras bem desenvolvidas e cauda curta, o difere dos demais sigmodontíneos (TETA; PARDIÑAS, 2015). Esta espécie ocorre na Mata Atlântica e em áreas de transição entre a Mata Atlântica e o Cerrado, distribuindo-se desde o sul da Bahia ao sul do estado de São Paulo, incluindo o nordeste da Argentina (PAGLIA *et al.*, 2005; GEISE *et al.*, 2008; TETA; PARDIÑAS, 2015). Apesar da sua ampla distribuição, ainda é reduzido o número de registros para a espécie devido ao seu hábito de vida, sendo considerada rara em coleções científicas (GEISE *et al.*, 2008; VENTURA *et al.*, 2012).

Estudos compreendendo análises cariotípicas têm demonstrado, através das variabilidades encontradas, a importância dos estudos cromossômicos na identificação taxonômica em espécies de roedores (*e.g.* MATTEVI *et al.*, 2005; SILVA; PATTON; YONENAGA-YASSUDA, 2006; LESSA *et al.*, 2013; TORGASHEVA *et al.*, 2016; DI-NIZO *et al.*, 2017). As análises citogenéticas incluem técnicas de citogenética clássica e molecular sendo possível encontrar espécies de roedores com número diploide  $2n = 14$  (FAGUNDES; CHRISTOFF; YONENAGA-YASSUDA, 1998) assim como  $2n = 70$  cromossomos (GONÇALVES *et al.*, 2012). Visto a dificuldade de captura da espécie *Blarinomys breviceps*, devido ao seu hábito fossorial, poucos esforços foram feitos para examinar a sua variação cariotípica (GEISE *et al.*, 2008; VENTURA *et al.*, 2012). O primeiro estudo com análises citogenéticas da espécie descreveu um único cariótipo com número diploide de  $2n = 28$  cromossomos e número fundamental de braços autossômicos (NF) igual a 50 (GEISE *et al.*, 2008), já o segundo e mais recente estudo descreveu oito cariótipos distintos para a espécie, apontando a diversidade cariotípica de *B. breviceps* (VENTURA *et al.*, 2012) (Tabela 1). Além disso, Ventura *et al.* (2012) indicaram diferenças cariotípicas entre duas linhagens evolutivas que propuseram para a espécie de acordo com dados moleculares. A linhagem do nordeste (Bahia e Minas Gerais) com maior número diploide e cariótipos constituídos principalmente por cromossomos acrocêntricos e a linhagem do sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo) incluindo os indivíduos com menor número diploide e cromossomos metacêntricos

(Figura 1).

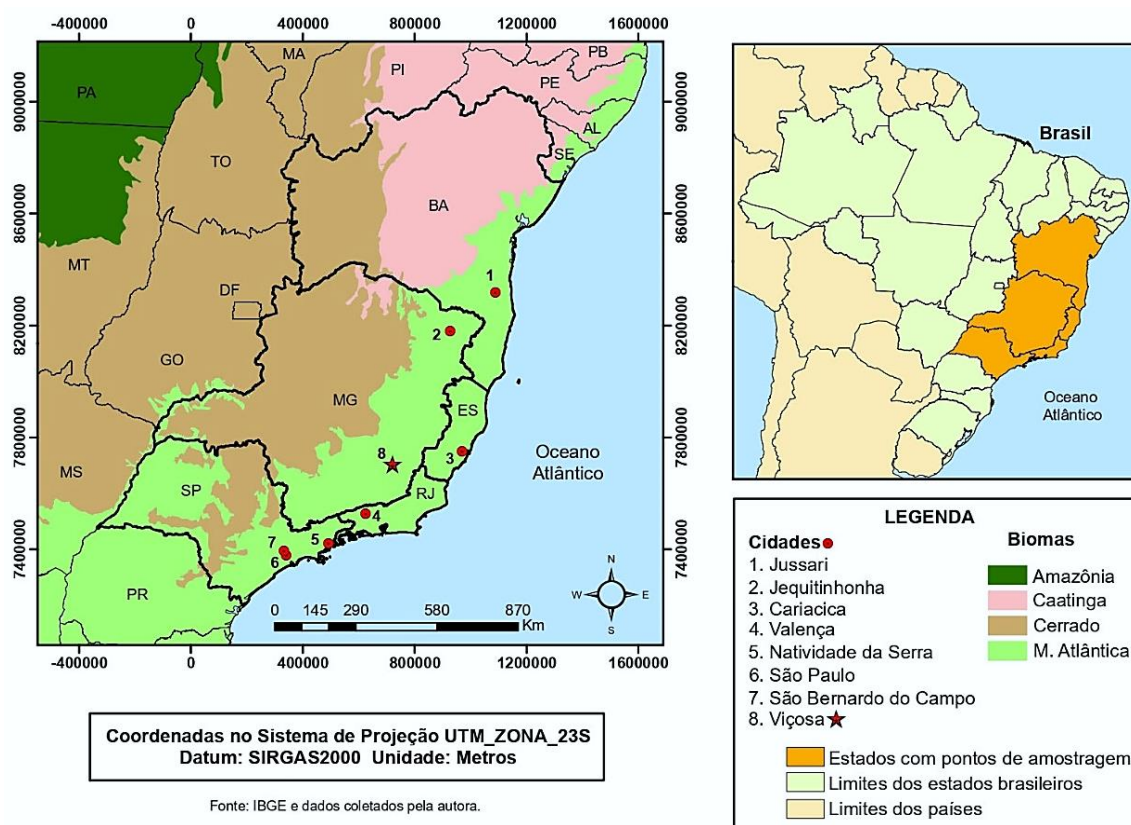
**Tabela 1.** Dados de *Blarinomys breviceps* quanto ao número diploide ( $2n$ ), número fundamental (NF), fórmula cariotípica e localidade coleta.

Número diploide	Fórmula cariotípica	Localidade de coleta
$2n = 28$ (26A, XY) NF = 50	$24m + 2a + 2XY$ X e Y acrocêntricos	Valença, Rio de Janeiro <sup>12</sup>
$2n = 31$ (27A*, XX+2Bs) NF = 50	$23m + 4a + 2m$ (Bs) + 2XX X acrocêntrico	Natividade da Serra, São Paulo <sup>2</sup>
$2n = 34$ (32A**, XX) NF = 50	$18m + 14a + 2XX$ X acrocêntrico	São Bernardo do Campo, São Paulo <sup>2</sup>
$2n = 37$ (34A, XY+1B) NF = 50	$16m + 18a + 1m$ (B) + 2XY X e Y acrocêntricos	São Bernardo do Campo, São Paulo <sup>2</sup>
$2n = 43$ (37A*, XX+4Bs) NF = 50	$13m + 24a + 4m$ (Bs) + 2XX X acrocêntrico	São Paulo, São Paulo <sup>2</sup>
$2n = 45$ (42A, XY+1B) NF = 50	$8sm + 34a + 1m$ (B) + 2XY X e Y acrocêntricos	Cariacica, Espírito Santo <sup>2</sup>
$2n = 52$ (48A, XY+2Bs) NF = 50	$2sm + 46a + 2m$ (Bs) + 2XY X e Y acrocêntricos	Jussari, Bahia <sup>2</sup>
$2n = 52$ (50A, XX) NF = 50	$50a + 2XX$ X acrocêntrico	Jequitinhonha, Minas Gerais <sup>2</sup>

Nota: \*, \*\* = presença de 1 e 2 rearranjos Robertsonianos (Rbs), respectivamente.

A = autossomos, sm = submetacêntrico, a = acrocêntrico, m = metacêntrico.

<sup>1</sup>Geise *et al.* (2008); <sup>2</sup>Ventura *et al.* (2012).



**Figura 1.** Localidades dos exemplares de *Blarinomys breviceps* cariotipados. Bahia (1):  $2n = 52$ ; Minas Gerais (2):  $2n = 52$ ; Espírito Santo (3):  $2n = 45$ ; Rio de Janeiro (4):  $2n = 28$ ; São Paulo (5):  $2n = 31$ ; (6):  $2n = 43$ ; (7):  $2n = 37$  e 34. ★: Localidade de coleta do presente estudo (8).

Diante destas variações cariotípicas em *Blarinomys breviceps*, o presente estudo teve como objetivo descrever o cariótipo de indivíduos de uma população coletada na reserva Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA Mata do Paraíso), município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

## 2. Material e Métodos

Foram analisadas preparações cromossômicas de dez espécimes de *Blarinomys breviceps* sendo nove fêmeas e um macho, provenientes de um fragmento de Mata Atlântica, reserva EPTEA Mata do Paraíso, no município de Viçosa ( $20^{\circ}5'S$ ,  $42^{\circ}3'O$ ), sudeste do estado de Minas Gerais, Brasil: MZUFV4443, MZUFV4446, MZUFV4447, MZUFV4448, MZUFV4452, MZUFV4453, MZUFV4454, MZUFV4455, MZUFV4456, MZUFV4457. (Licença: IBAMA 13045-1; CEUA 552/2016).

Os cromossomos metafásicos, obtidos a partir de células da medula óssea de acordo

com o protocolo de Ford & Hamerton (1956), foram corados com Giemsa. A identificação das regiões de heterocromatina constitutiva foi realizada a partir da técnica de bandeamento CBG (SUMNER, 1972) e o pareamento dos cromossomos homólogos foi realizado a partir do padrão de bandas obtido com o bandeamento GTG (SEABRIGHT, 1971). As regiões organizadoras de nucléolo (RONs) que estavam ativas na última interfase celular foram identificadas utilizando a precipitação de nitrato de prata (Ag-RON) (HOWELL; BLACK, 1980), sendo analisadas de 18 a 30 metáfases por indivíduo (Apêndice 1). Para as demais análises foram observadas 20 metáfases por indivíduo. Todas as metáfases foram fotografadas em fotomicroscópio Olympus BX53 equipado com uma câmera DP73F utilizando o programa Olympus CellSens Imaging e, posteriormente, editadas no Adobe Photoshop CC. Com exceção do bandeamento GTG, cujas imagens foram obtidas em fotomicroscópio epifluorescente Zeiss Axioimager 2 equipado com uma câmera CCD utilizando o programa AxionVision (Zeiss). Os cromossomos foram medidos no software Image Pro Plus e classificados de acordo com suas relações de braço como metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st), e acrocêntricos (a) (LEVAN; FREDGA; SANDBERG, 1964).

Para a hibridação *in situ* fluorescente (FISH), foram utilizadas sondas de DNA telomérico (TTAGGG)<sub>n</sub>, com uma molécula de biotina na extremidade 5' (Invitrogen), segundo o protocolo sugerido por Pinkel *et al.* (1986), com modificações: as preparações cromossômicas foram pré-tratadas com ácido acético 50% durante 10 minutos em temperatura ambiente e desnaturadas durante 1 minuto e 30 segundos em formamida a 70%/2xSSC a 75 °C. Em seguida, foram aplicados 1104 ng de sonda telomérica em formamida a 50%/2xSSC nos cromossomos desnaturados e a hibridação realizada a 37 °C durante 16-18 horas. As lavagens pós-hibridação consistiram em dois banhos de 2xSSC à 40 °C durante 5 minutos, a imunodeteção realizada com avidina conjugada com FITC (Roche Applied Science) e a lâmina montada com DAPI (Slowfade, Invitrogen). As análises foram realizadas sob um microscópio epifluorescente Zeiss Axioimager 2 equipado com uma câmera CCD, as imagens foram capturadas com o programa AxionVision (Zeiss). Todas as imagens foram editadas no Adobe Photoshop CC.

### 3. Resultados

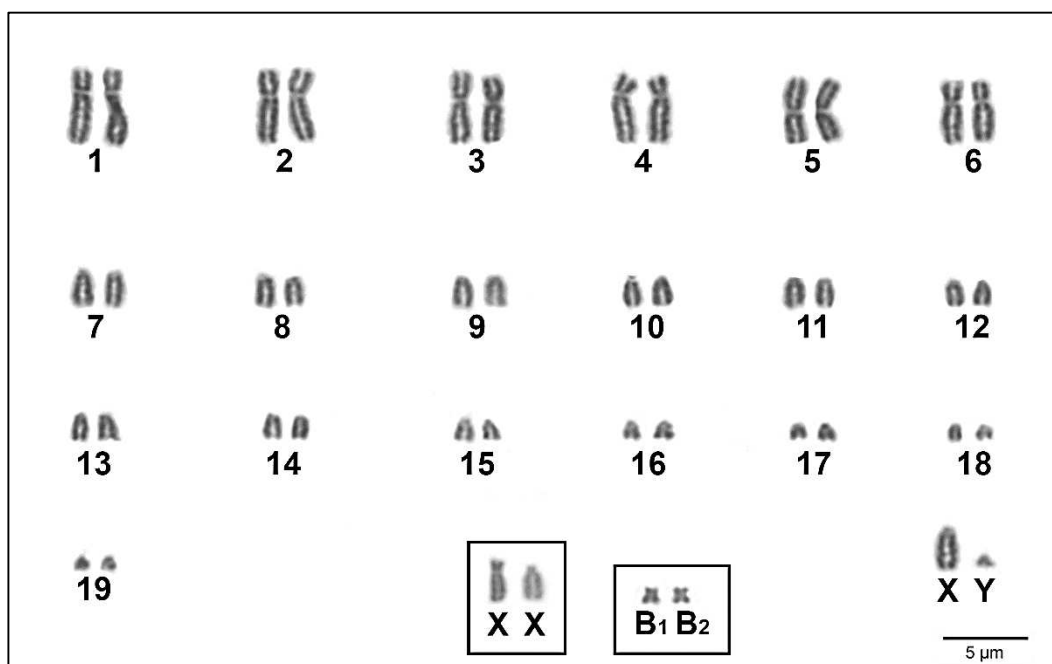
A espécie *Blarinomys breviceps* apresentou número diploide de  $2n = 40$  cromossomos e número fundamental de braços autossômicos  $NF = 50$ , tanto para o espécime macho quanto para as fêmeas. Entretanto, foi observado variação cariotípica entre os indivíduos devido a

presença de cromossomos supranumerários (Bs). Sendo que, dos dez indivíduos analisados, seis não apresentaram cromossomos Bs em seu cariótipo, três apresentaram um cromossomo B e somente um espécime apresentou dois cromossomos Bs.

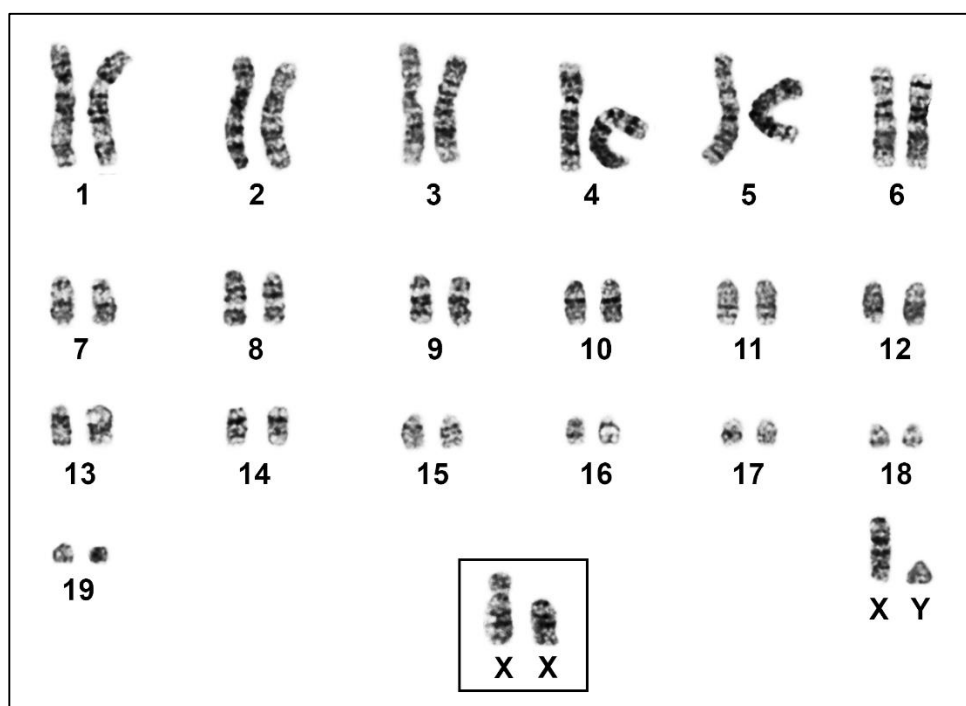
Em relação a morfologia cromossômica, todos os espécimes apresentaram um conjunto autossômico formado por um par de cromossomos metacêntricos de tamanho médio (par 5), cinco pares submetacêntricos médios (pares 1-4 e 6) e 13 pares acrocêntricos decrescendo em tamanho (pares 7-19) (Figura 2). Os cromossomos Bs foram identificados morfologicamente como pequenos metacêntricos. Quanto ao par sexual, o cromossomo X é acrocêntrico grande e o Y acrocêntrico pequeno. Uma exceção, foi uma fêmea (MZUFV 4452) que apresentou o par sexual XX heteromórfico, sendo um cromossomo submetacêntrico e o outro acrocêntrico grande (Figura 2).

O bandeamento GTG permitiu a identificação de todos os pares dos complementos e mostrou um padrão de bandas correspondente entre os espécimes (Figura 3). As regiões de heterocromatina constitutiva, identificadas pela técnica de bandeamento CBG, foram observadas nas regiões pericentroméricas da maioria dos autossomos, destacando os pares acrocêntricos cuja marcação evidenciou grandes blocos heterocromáticos (Figura 4). Em alguns cromossomos, principalmente submetacêntricos, não foi possível identificar marcação devido à variação na quantidade de heterocromatina distribuída entre os cromossomos, através da qual, eventualmente, estes não marcados apresentavam uma quantidade menor de heterocromatina. Quanto ao par sexual, o cromossomo X apresentou heterocromatina na região pericentromérica e o Y é inteiramente heterocromático. A exceção foi o exemplar MZUFV 4452, cujo cromossomo X submetacêntrico apresentou o braço curto inteiramente heterocromático (Figura 4). Nenhum cromossomo B apresentou marcação após o bandeamento CBG.

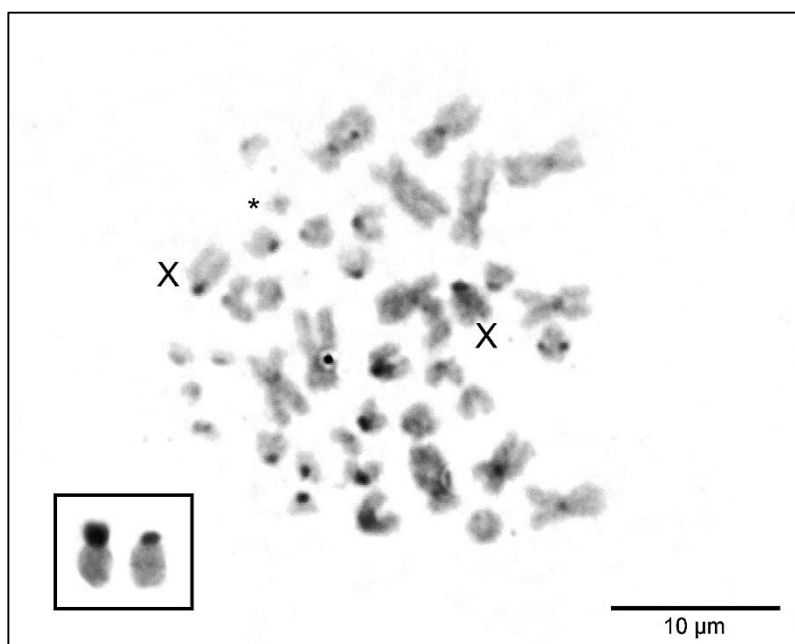
As regiões organizadoras de nucléolo (RONs) foram observadas nos braços curtos de autossomos acrocêntricos, variando de um a seis cromossomos marcados (Apêndice 1) (Figura 5). A sonda de sequência telomérica resultou em marcações nos telômeros de todos os pares cromossômicos e sequências intersticiais teloméricas (ITSS) na região pericentromérica dos pares 1, 3, 4 e 6 (Figura 6).



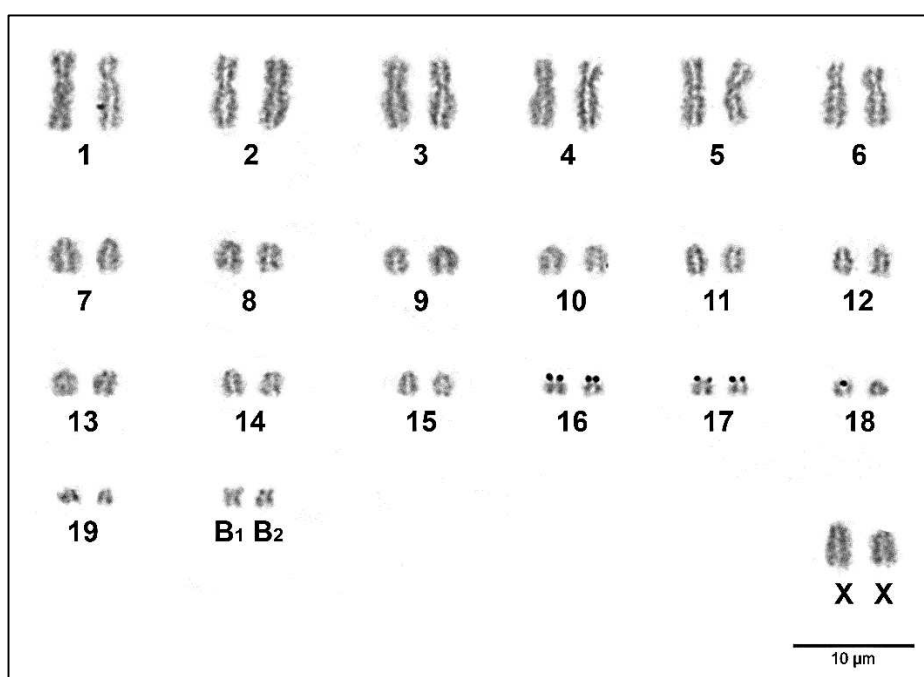
**Figura 2.** Coloração convencional do exemplar macho MZUFV4446. Em destaque o par sexual XX heteromórfico (MZUFV4452) e cromossomos metacêntricos supranumerários (MZUFV4454).



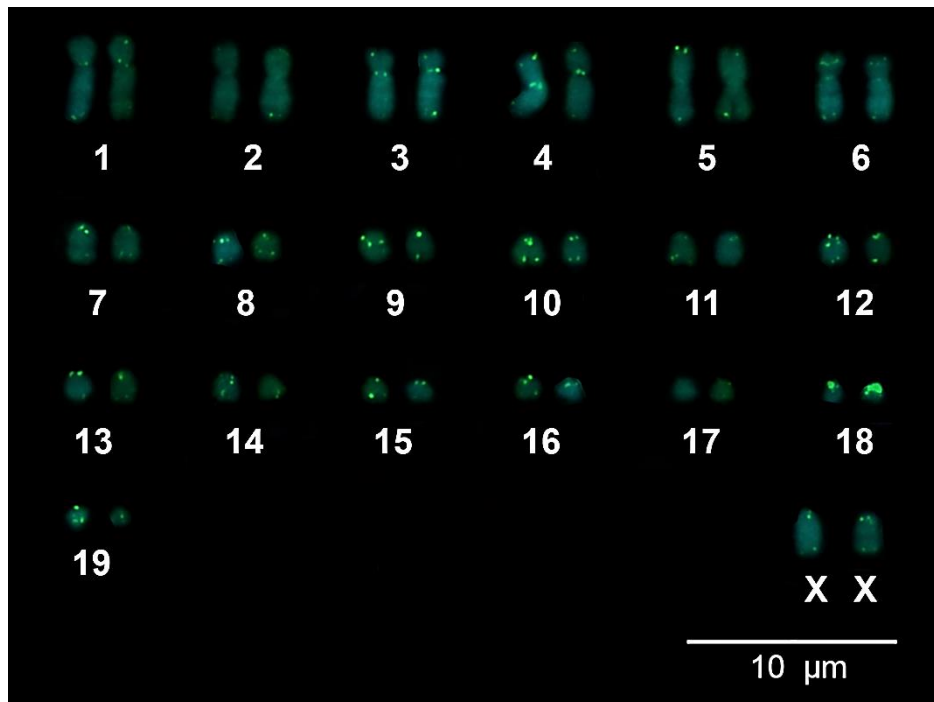
**Figura 3.** Bandeamento GTG do exemplar macho MZUFV4446. Em destaque o par sexual XX heteromórfico (MZUFV4452).



**Figura 4.** Bandeamento CBG do exemplar fêmea MZUFV4456. Em destaque o par sexual XX heteromórfico (MZUFV4452). O asterisco indica o cromossomo B.



**Figura 5.** Ag-RON do exemplar fêmea MZUFV4454.



**Figura 6.** FISH com sonda telomérica do exemplar fêmea MZUFV4447.

#### 4. Discussão

O presente estudo analisou o cariótipo de dez exemplares de *Blarinomys breviceps* provenientes de uma mesma localidade, EPTEA Mata do Paraíso, município de Viçosa, Minas Gerais. Nenhum estudo anterior examinou a sua variação cariotípica intrapopulacional. Geise *et al.* (2008) descreveram o cariótipo de um único espécime coletado no estado do Rio de Janeiro, enquanto Ventura *et al.* (2012) cariotiparam oito espécimes de diferentes localidades (Tabela 1). Desta forma, são apresentados neste estudo os primeiros dados cariotípicos intrapopulacional de *Blarinomys breviceps*.

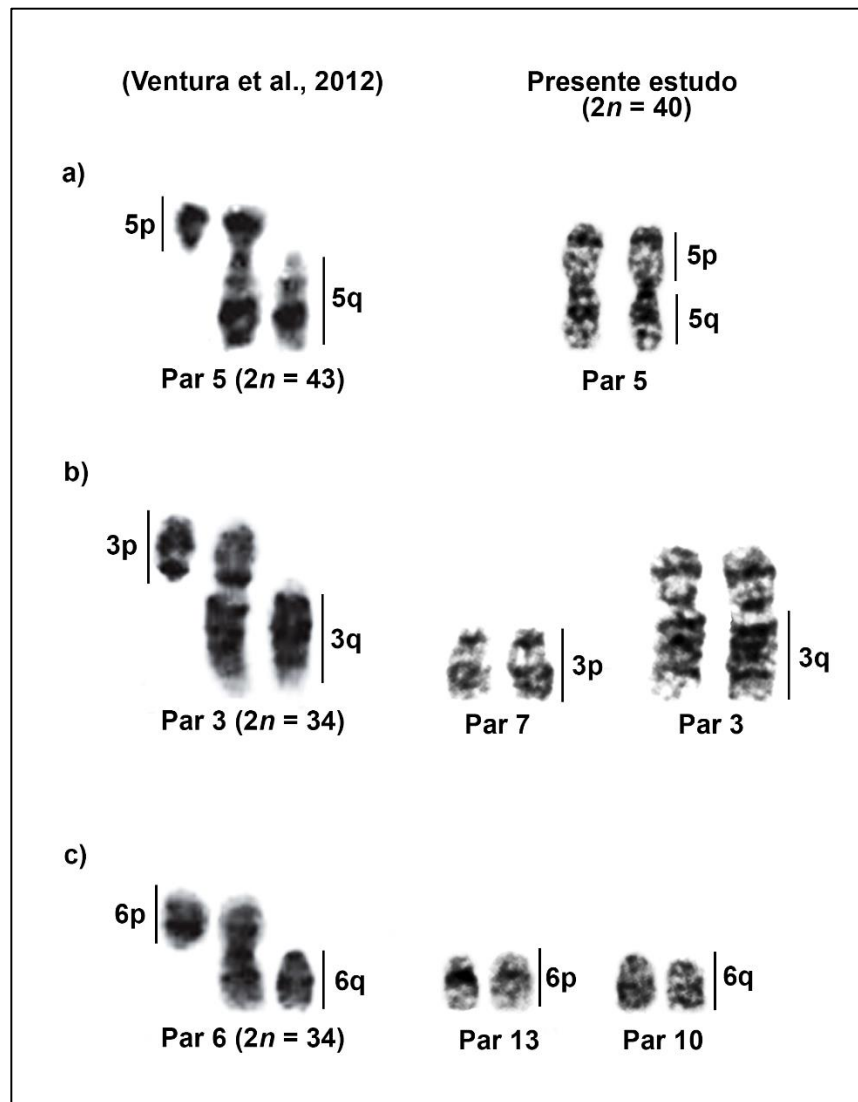
O cariótipo dos espécimes da reserva EPTEA Mata do Paraíso aproxima-se aos espécimes pertencentes à linhagem sudeste descrita por Ventura *et al.* (2012). Embora tenha sido observado essa aproximação, o número diploide e a morfologia encontrada no presente estudo não corrobora os cariótipos já descritos para a espécie. Apenas o número fundamental de braços autossômicos (NF = 50) é equivalente aos demais estudos (Tabela 2). Dessa forma, é descrito um novo cariótipo para a espécie *Blarinomys breviceps*.

No presente estudo é descrito a presença e a variação intrapopulacional de cromossomos Bs no cariótipo dos espécimes. A presença destes cromossomos havia sido registrada anteriormente por Ventura *et al.* (2012) entre indivíduos pertencentes a diferentes populações (Tabela 1). A origem e evolução destes cromossomos supranumerários ainda permanecem desconhecidas em mamíferos e ao que se sabe a sua presença não promove alterações

fenotípicas e nem afeta a capacidade física dos indivíduos (SILVA, M. J. J.; YONENAGA-YASSUDA, 2004).

A heterocromatina constitutiva observada na região pericentromérica dos cromossomos autossômicos, após o bandeamento CBG, é semelhante ao observado nas demais populações da espécie (VENTURA *et al.*, 2012). Em relação ao cromossomo X do indivíduo MZUFV4452, que apresentou o braço curto totalmente heterocromático, adições graduais de material heterocromático neste braço poderiam explicar a variação na morfologia e tamanho deste cromossomo, uma vez que seu braço longo apresentou o mesmo padrão de bandeamento GTG que os cromossomos X dos cariótipos já descritos para a espécie. Os cromossomos Bs não apresentaram marcação, corroborando o indicado em outras populações da espécie (VENTURA *et al.*, 2012).

Foram comparados os padrões de bandas GTG encontrados para os espécimes do presente estudo com os pares heterozigotos para rearranjos Robertsonianos encontrados nos espécimes descritos por Ventura *et al.* (2012). Esta comparação indicou a ocorrência de rearranjos Robertsonianos envolvendo diferentes cromossomos entre os espécimes, com exceção do par 5 dos cariótipos observados no presente estudo, que apresentou homologia com o cromossomo submetacêntrico do par 5 heterozigoto descrito por Ventura *et al.* (2012) (Figura 7a). Já os cromossomos do par 3, descrito por Ventura *et al.* (2012), apresentaram os braços curtos e os braços longos homólogos respectivamente aos braços longos do par 7 e aos braços longos do par 3 do presente estudo (Figura 7b). O par 6 apresentou os braços curtos e os braços longos homólogos respectivamente aos braços longos dos pares 13 e 10 (Figura 7c).



**Figura 7.** Análise comparativa do padrão de bandas GTG entre os espécimes descritos no presente estudo e por Ventura *et al.* (2012). **A)** Homologia entre os pares 5 ( $2n = 43$  e  $2n = 40$ ). **B)** Homologia entre os braços curtos do par 3 ( $2n = 34$ ) e os braços longos do par 7 ( $2n = 40$ ) e entre os braços longos dos pares 3 ( $2n = 34$  e  $2n = 40$ ). **C)** Homologia entre os braços curtos do par 6 ( $2n = 34$ ) e o par 13 ( $2n = 40$ ) e entre os braços longos do par 6 ( $2n = 34$ ) e o par 10 ( $2n = 40$ ).

De acordo com Dobigny *et al.* (2015), o destino dos rearranjos cromossômicos dentro das populações depende de uma variedade de forças evolutivas, uma vez que os rearranjos que possuem pouco ou nenhum impacto na gametogênese, como as fusões Robertsonianas e inversões, podem ser mantidos como variantes dentro das populações enquanto as fusões e translocações *in tandem* são provavelmente mais rapidamente removidos ou fixados na meiose. Além disso, as mudanças cromossômicas podem ocorrer sem que haja um evento de mutação e a ainda ter significância considerável para a forma geral e processos de mudança cariotípica (PATTON; SHERWOOD, 1983). Neste caso, a adição de braços heterocromáticos que ocorreu

no cromossomo X do par sexual heteromórfico pode ser um exemplo de mudança que não envolve rearranjo.

Os roedores fossoriais dos gêneros *Thomomys*, *Spalax* e *Ctenomys*, conhecidos como ratos-toupeira, apresentam uma notável variabilidade cromossômica que pode levar a alterações em níveis anatômicos ou fisiológicos; no entanto, estas alterações muitas vezes são mascaradas pelas adaptações ecológicas relacionadas ao modo de vida fossorial (WAHRMAN; GOITEIN; NEVO, 1969). Os rearranjos cromossômicos do tipo translocações Robertsonianas, inversões pericêntricas e alterações da cromatina, constituem os principais mecanismos responsáveis pela variabilidade cariotípica encontrada nesses roedores (WAHRMAN; GOITEIN; NEVO, 1969; TORGASHEVA *et al.*, 2016). Como é observado no gênero *Ctenomys*, a fixação desses rearranjos, apesar de provocarem mudanças estruturais entre as populações, não podem desencadear a especiação por si mesmos, porém podem acelerar este processo modulando a taxa de fluxo gênico em determinadas regiões do genoma (TORGASHEVA *et al.*, 2016).

Em relação às RONS, o resultado obtido sugere que pelo menos três pares cromossômicos estejam envolvidos na formação do nucléolo. A ausência de sítios de marcações em um dos cromossomos do par 17 dos espécimes MZUFV4443 e MZUFV4457 possivelmente seja resultado de RONS inativas destes cromossomos e, por essa razão, talvez seja explicada a variação encontrada para o número de RONS entre os espécimes. O padrão de distribuição nos braços curtos e a variação em número já havia sido descrito para a espécie (VENTURA, 2009). Em mamíferos, é comum a ocorrência de RONS múltiplas, ou seja, organizadores nucleolares localizados em vários cromossomos como ocorre em *B. breviceps* (KASAHARA, 2009). Aparentemente a presença de RONS nos braços curtos dos cromossomos é frequente entre os roedores da tribo Akodontini, sendo encontrada em gêneros como *Oxymycterus* (SVARTMAN; CARDOSO DE ALMEIDA, 1993), *Akodon* (SILVA, M. J.; YONENAGA-YASSUDA, 1998), *Thaptomys* (VENTURA *et al.*, 2004), *Bibimys* (GONÇALVES *et al.*, 2012) e *Deltamys* (VENTURA *et al.*, 2011).

A FISH telomérica apresentou, além de marcações em ambos os telômeros dos cromossomos, algumas ITSs na região pericentromérica de alguns pares. Estas ITSs já haviam sido retratadas para alguns espécimes analisados por Ventura *et al.* (2012). Segundo Bolzán (2017), a origem evolutiva destas ITSs encontradas nas regiões pericentroméricas/centroméricas possui hipóteses que giram em torno da capacidade do cromossomo de se transformar através de seus elementos funcionais, o centrômero e o telômero, dando origem aos diversos cariótipos já descritos entre os vertebrados. Tais hipóteses sugerem

que as ITSs podem estar relacionadas ao movimento da heterocromatina ou das RONS durante rearranjos cromossômicos, à amplificação de sequências de (TTAGGG)<sub>n</sub> (através de mutação, “crossing-over” desigual ou conversão gênica), à remanescentes de telômeros após rearranjos cromossômicos ou reservatórios para futuros rearranjos de fissão (DI-NIZO *et al.*, 2017). Portanto, as ITSs encontradas no cariótipo de *Blarinomys breviceps* podem estar relacionadas à rearranjos sofridos ao longo da sua evolução ou que ainda sofrerá visto que esta é uma espécie que vêm passando por um processo de reorganização genômica, como foi citado por Ventura *et al.* (2012).

## 5. Conclusão

A descrição de um novo cariótipo para *Blarinomys breviceps* ampliou a diversidade cariotípica da espécie. Esta diversidade está relacionada, assim como em outros roedores fossoriais, aos rearranjos cromossômicos, em especial, as translocações Robertsonianas e em alterações da cromatina, neste caso através da inserção de material heterocromático. Os resultados encontrados neste estudo impõe a necessidade de se analisar a espécie através de uma combinação de dados ecológicos, moleculares e citogenéticos a fim de compreender o seu processo de evolução, levando em consideração a possibilidade da fixação dos rearranjos cromossômicos influenciar posteriormente em um processo de especiação.

## 6. Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro. Aos colegas do Laboratório de Mastozoologia João Moojen e do Laboratório de Sistemática Molecular Beagle, ambos da Universidade Federal de Viçosa, e do Laboratório de Citogenômica Evolutiva da Universidade Federal de Minas Gerais pela contribuição no desenvolvimento das técnicas e análises.

## 7. Referências

BOLZÁN, A. D. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 773, p. 51-65, 2017.

D’ELÍA, G.; PARDIÑAS, U. F. J. Subfamily Sigmodontinae Wagner, 1843. *Mammals of South America*. 2. Rodents. University of Chicago Press. Chicago, Illinois, p. 63-70, 2015.

DI-NIZO, C. B. *et al.* Advances in cytogenetics of Brazilian rodents: Cytotaxonomy, chromosome evolution and new karyotypic data. *Comparative Cytogenetics*, v. 11, n. 4, p. 833–892, 2017.

DOBIGNY, G.; YANG, F. Comparative cytogenetics in the genomics era: Cytogenomics comes of age. *Chromosome Research*, v. 16, n. 1, p. 1–4, 2015.

FAGUNDES, V.; CHRISTOFF, A. U.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ( $2n = 16, 15$  and 14). *Hereditas*, v. 129, n. 3, p. 263–274, 1998.

FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain technology*, v. 31, n. 6, p. 247-251, 1956.

GEISE, L. *et al.* The karyotype of *Blarinomys breviceps* (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) with comments on its morphology and some ecological notes. *Zootaxa*, v. 60, p. 47–60, 2008.

GONÇALVES, P. R. *et al.* Morphological and cytogenetic analyses of *Bibimys labiosus* (Winge, 1887) (Rodentia, Sigmodontinae): Implications for its affinities with the Scapteromyine Group. *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography*. California: University of California Press, p. 174–209, 2012.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, v. 36, p.1014–1015, 1980.

KASAHARA, S. Análise dos cromossomos com coloração diferencial. Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados. Sociedade Brasileira de Genética. São Paulo, Ribeirão Preto, p. 39-61 2009.

LESSA, G. *et al.* Chromosomal differentiation in *Kerodon rupestris* (Rodentia: Caviidae) from the Brazilian semi-arid region. *Mastozoologia Neotropical*, v. 20, n. 2, p. 399–405, 2013.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, v. 52, n. 2, p. 201–220, 1964.

MATTEVI, M. S. *et al.* Chromosome characterization of Brazilian species of *Calomys* Waterhouse, 1837 from Amazon, Cerrado and Pampas domains Rodentia, Sigmodontinae.

*Arquivos do Museu Nacional*, v. 63, n. 1, p. 175–181, 2005.

PAGLIA, A. P. *et al.* Novo registro de *Blarinomys breviceps* (Winge, 1888) (Rodentia, Sigmodontinae) no estado de Minas Gerais, Brasil. *Lundiana*, v. 6, n. 2, p. 155–157, 2005.

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

SEABRIGHT, M. A rapid banding technique for human chromosomes. *The Lancet*, v. 2, p. 971–972, 1971.

SILVA, M. 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*, v. 81, n. 1, p. 46–50, 1998.

SILVA, M. J. J.; YONENAGA-YASSUDA, Y. B chromosomes in Brazilian rodents. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 106, n. 2–4, p. 257–263, 2004.

SILVA, M. J.; PATTON, J. L.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Phylogenetic relationships and karyotype evolution in the sigmodontine rodent *Akodon* ( $2n = 10$  and  $2n = 16$ ) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, v. 29, n. 3, p. 469–474, 2006.

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

SVARTMAN, M.; CARDOSO DE ALMEIDA, E. J. The karyotype of *Oxymycterus* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Central Brazil. *Experientia*, v. 49, n. 8, p. 718–720, 1993.

TETA P.; PARDIÑAS, U. F. J. Genus *Blarinomys* Thomas, 1896. *Mammals of South America*. 2. Rodents. University of Chicago Press. Chicago, Illinois, p. 667-674, 2015.

TORGASHEVA, A. A. *et al.* Chromosomes and speciation in tuco-tuco (*Ctenomys*, Hystricognathi, Rodentia). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, v. 20, n. 4, p. 408–415, 2016.

VENTURA, K. *et al.* An undescribed karyotype for *Thaptomys* ( $2n = 50$ ) and the mechanism of differentiation from *Thaptomys nigrita* ( $2n = 52$ ) evidenced by FISH and Ag-NORs. *Caryologia*, v. 57, n. 1, p. 89–97, 2004.

VENTURA, K. Estudos de citogenética e de filogenia molecular em roedores da tribo Akodontini. Ph.D. dissertation, Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil, 2009.

VENTURA, K. *et al.* A new allopatric lineage of the rodent *Deltamys* (Rodentia: Sigmodontinae) and the chromosomal evolution in *Deltamys kempfi* and *Deltamys* sp. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 135, n. 2, p. 126–134, 2011.

VENTURA, K. *et al.* Phylogeographic structure and karyotypic diversity of the brazilian shrew mouse (*Blarinomys breviceps*, Sigmodontinae) in the Atlantic Forest. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 138, n. 1, p. 19–30, 2012.

WAHRMAN, J.; GOITEIN, R.; NEVO, E. Geographic variation of chromosome forms in *Spalax*, a subterranean mammal of restricted mobility. *Comparative Mammalian Cytogenetics*, p. 30–48, 1969.

WINGE, H. Jordfundne of nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa, Minas Geraes, Brasilien. *E Museo Lunii*, v. 1, n. 3, p. 34–35, 1888.

## Apêndice

**Apêndice 1.** Número de RON por célula encontrado no cariótipo dos espécimes de *Blarinomys breviceps* da população de Viçosa, MG.

Número de cromossomos marcados		1	2	3	4	5	6	Total
Número de metáfases	MZUFV4443 ♀	4	7	<u>11</u>	5	0	0	27
	MZUFV4447 ♀	5	4	2	<u>14</u>	0	3	28
	MZUFV4448 ♀	4	<u>5</u>	3	4	1	1	18
	MZUFV4455 ♀	0	4	6	<u>10</u>	4	6	30
	MZUFV4446 ♂	6	<u>13</u>	9	1	0	0	29
	MZUFV4457 ♀	0	6	<u>13</u>	10	0	0	29
	MZUFV4453 ♀	1	2	5	<u>9</u>	2	0	19
	MZUFV4456 ♀	0	0	2	2	4	<u>12</u>	20
	MZUFV4452 ♀	1	7	5	<u>9</u>	3	3	28
	MZUFV4454 ♀	1	6	5	<u>7</u>	3	1	23
	Total	22	54	61	71	17	26	251

## CAPÍTULO II

### MORFOMETRIA CRANIANA INTRAPOPOPULACIONAL DE *Blarinomys breviceps* (RODENTIA, SIGMODONTINAE) DE MINAS GERAIS

#### Resumo

*Blarinomys breviceps* destaca-se dentre os demais sigmodontíneos devido as suas adaptações morfológicas relacionadas ao hábito fossorial. Sua distribuição se estende desde o sul da Bahia ao sul do estado de São Paulo e no nordeste da Argentina. Embora tenha uma ampla distribuição e especialização de hábito, poucos esforços foram feitos para avaliar a sua variação morfológica, intrapopulacional ou geográfica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar caracteres cranianos quantitativos de *B. breviceps* visando investigar a existência de dimorfismo sexual como uma possível fonte de variação morfológica intrapopulacional para a espécie. Foi analisado um total de 23 espécimes adultos provenientes do município de Viçosa, estado de Minas Gerais, Brasil, da coleção mastozoológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa. Foram definidos 22 caracteres quantitativos crânio-dentários, tomados com um paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Para a análise dos dados, estatísticas descritivas, análises de variância (ANOVA) e análise dos componentes principais foram realizadas. A ANOVA não demonstrou diferença significativa entre os sexos ( $P = 0,05$ ), embora na estatística descritiva a média de mais da metade dos caracteres tenha sido maior nos indivíduos machos. A análise dos componentes principais corroborou o indicado pela ANOVA apresentando uma sobreposição entre machos e fêmeas, apesar de existirem alguns caracteres ligeiramente maiores entre os indivíduos machos. Os resultados encontrados para a população de *Blarinomys breviceps* de Viçosa, Minas Gerais, indica a ausência de dimorfismo sexual intrapopulacional em caracteres cranianos quantitativos na espécie.

Palavras-chave: *Blarinomys*, Morfometria Craniana, Variação Intrapopulacional.

## 1. Introdução

O roedor do gênero *Blarinomys* Thomas, 1896, representado unicamente pela espécie *B. breviceps* (WINGE, 1888), destaca-se dentre os demais sigmodontíneos por suas adaptações morfológicas em decorrência do modo de vida fossorial (PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015). Sua distribuição ocorre ao longo da Mata Atlântica e em áreas de transição entre este bioma e o Cerrado, abrangendo desde o sul da Bahia ao sul do estado de São Paulo e o nordeste da Argentina (PAGLIA *et al.*, 2005; GEISE *et al.*, 2008; PATTON; PARDIÑAS; D'ELÍA, 2015). Esta espécie pode ocorrer em altitudes com amplitudes que variam desde o nível do mar até 1570m (GEISE *et al.*, 2008). Embora tenha uma ampla distribuição e especialização de hábito, poucos esforços foram feitos para avaliar a sua variação morfológica, intrapopulacional ou geográfica (*e.g.* ABRAYAYA; MATSON, 1975; GEISE *et al.*, 2008; MISSAGIA; PERINI, 2018).

Considerando a tradicional utilização da morfologia crânio-dentária como base para a sistemática dos roedores murídeos (VOSS; MARCUS, 1992), os estudos utilizam de caracteres cranianos para avaliar a variação morfológica da espécie. Abravaya e Matson (1975) foram os primeiros a avaliarem a morfologia intrapopulacional e geográfica de *B. breviceps*, sendo analisadas as variações relacionadas à classe etária e ao sexo. Geise *et al.* (2008) acrescentaram novos dados qualitativos aos caracteres cranianos e avaliaram as variações relacionadas ao sexo, sendo destaque neste estudo a descrição das primeiras informações cariotípicas da espécie. E recentemente, Missagia e Perini (2018) descreveram a morfologia do crânio baseada no seu hábito fossorial e insetívoro em comparação com outros akodontinos.

Dentre os diferentes estudos publicados, apenas Abravaya e Matson (1975) realizaram uma análise intrapopulacional da variação de *B. breviceps*. Visto que as variações intrapopulacionais podem ser atribuídas a diferentes fontes como sexuais, ontogenéticas, ambientais ou fatores ao acaso é essencial tratá-las adequadamente antes de avaliar as variações geográficas (STRANEY, 1978; PATTON; ROGERS, 1983; BEZERRA; FILHO, 2010). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar caracteres cranianos quantitativos de *B. breviceps* visando investigar a existência de dimorfismo sexual como uma possível fonte de variação morfológica intrapopulacional, auxiliando em estudos de variação geográfica da espécie.

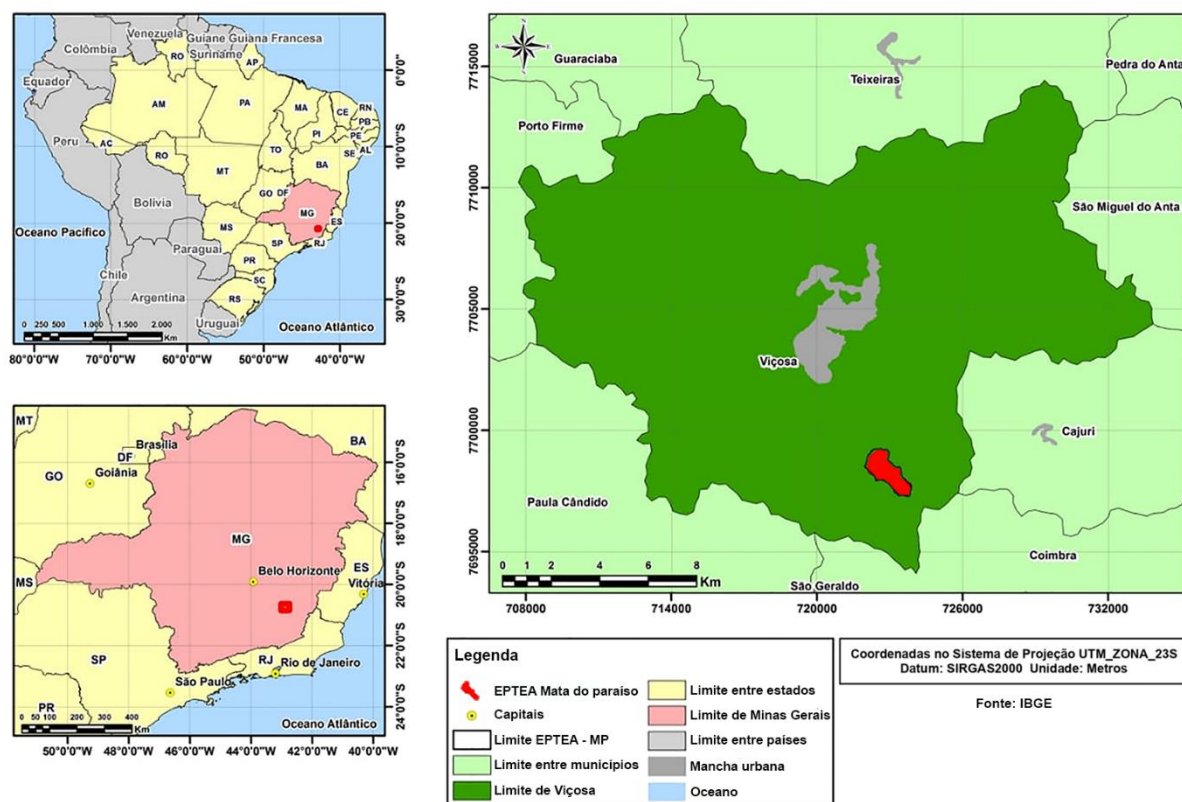
## 2. Material e métodos

Foi analisado um total de 23 espécimes provenientes da reserva Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA Mata do Paraíso), no município

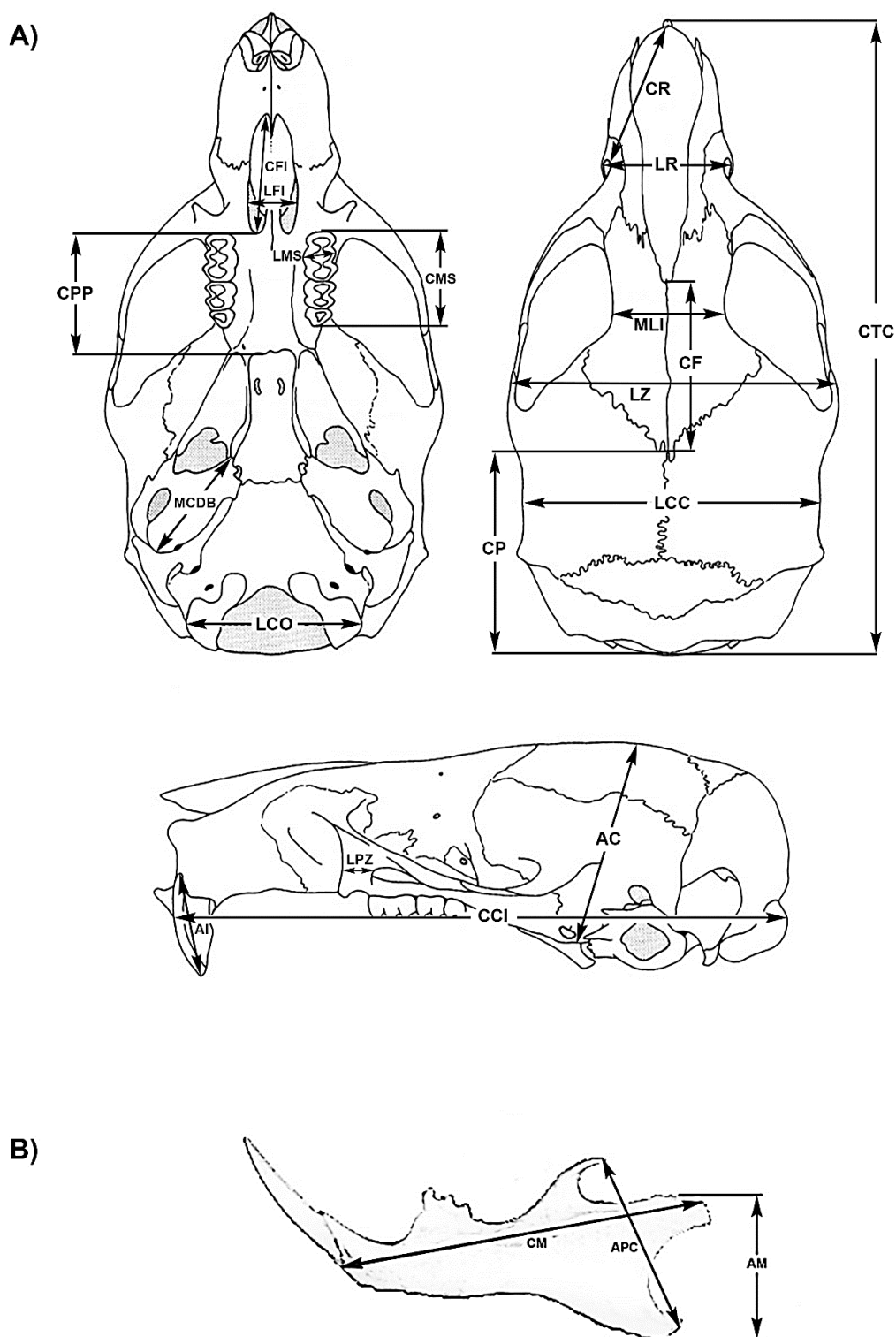
de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (Figura 1), mantidos pela coleção mastozoológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa: MZUFV 880, MZUFV 2206, MZUFV 2450, MZUFV4443, MZUFV4444, MZUFV4445, MZUFV4446, MZUFV4447, MZUFV4448, MZUFV4449, MZUFV4450, MZUFV4451, MZUFV4452, MZUFV4453, MZUFV4454, MZUFV4455, MZUFV4456, MZUFV4457, MZUFV4458, MZUFV4459, MZUFV4460, MZUFV4461, MZUFV4462. Todos os indivíduos foram classificados como adultos seguindo o critério de erupção e desgaste dos molares superiores proposto por Bezerra e Oliveira (2010). Foram definidos 22 caracteres quantitativos crânio-dentários, tomados com um paquímetro digital com precisão de 0,01mm, propostos pelos seus respectivos autores: CCI = comprimento cêndilo-incisivo (VOSS, 1988); CTC = comprimento total do crânio (MUSSER, 1979); CR = comprimento do rostro (MYERS; PATTON; SMITH, 1990); LR = largura do rostro (MUSSER, 1979); CF = comprimento do frontal (PATTERSON, 1992); CP = comprimento do parietal, da linha mediana da sutura com o frontal até a sutura com o occipital (PATTERSON, 1992; modificada); MLI = menor largura interorbital (MUSSER, 1979); LZ = largura zigomática (PATTERSON, 1992); LCC = largura da caixa craniana (VOSS, 1988); AC = altura do crânio (MUSSER, 1979); LPZ = largura da placa zigomática (MUSSER, 1979); CFI = comprimento do forâmen incisivo (VOSS, 1988); LFI = largura do forâmen incisivo (VOSS, 1988); CPP = comprimento da ponte palatal (MUSSER, 1979); LCO = largura entre os cêndilos occipitais (VOSS, 1988); MCDB = maior comprimento diagonal da bula (BEZERRA; FILHO, 2010); CMS = comprimento da série molar superior (MUSSER, 1979); LMS = largura do primeiro molar superior (VOSS, 1988); AI = altura do incisivo, da extremidade superior frontal até a extremidade inferior (VOSS, 1988; modificada); CM = comprimento da mandíbula (GEISE; MORAES; SILVA, 2005); AM = altura da mandíbula (GEISE; MORAES; SILVA, 2005) e APC = altura do processo coronoide (PATTERSON, 1992) (Figura 2).

Dentre as análises morfométricas, foram calculadas estatísticas descritivas, incluindo médias aritméticas e desvios padrões para os 22 caracteres cranianos quantitativos de todos os espécimes. Confirmadas as premissas de normalidade e homogeneidade das variâncias pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Levene respectivamente, procedeu-se as análises de variância (ANOVA) para verificar se a diferença entre os sexos é estatisticamente significativa, ficando estabelecido previamente o nível de significância de 5% ( $P = 0,05$ ). Uma análise dos componentes principais a partir da matriz de variâncias-covariâncias dos 22 caracteres log-transformados foi realizada com o objetivo de compreender os padrões gerais de variação no tamanho e forma ao longo das amostras. No caso de correlação positiva de todos os caracteres

com o primeiro componente principal, este eixo foi interpretado como um fator de variação associado principalmente ao tamanho geral (REIS; PÊSSOA; STRAUSS, 1990). Todas as análises foram realizadas no programa Minitab 19.1.1.



**Figura 1.** Localização da reserva EPTEA Mata do Paraíso, no município de Viçosa, Minas Gerais, onde foram coletados os exemplares de *Blarinomys breviceps* analisados neste estudo.



**Figura 2.** Caracteres crânio-dentários utilizados neste estudo. **A)** Imagem modificada de Voss *et al.* (1988). **B)** Imagem modificada de Geise *et al.* (2005).

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste estudo não evidenciaram dimorfismo sexual significativo entre os indivíduos adultos de *Blarinomys breviceps* provenientes do município de Viçosa (Tabela 1), embora as análises descritivas tenham indicado um tamanho maior nos machos em alguns caracteres. Da mesma forma, as análises dos componentes principais indicaram uma sobreposição entre machos e fêmeas, apesar de existirem alguns caracteres ligeiramente maiores entre os indivíduos machos (Figura 3). Este resultado corrobora os estudos desenvolvidos ao longo dos anos com inúmeras espécies de roedores cuja a variação sexual apresentou-se pouco significativa, como por exemplo em *Oecomys catherinae* (ASFORA *et al.*, 2011), *Kerodon rupestris* (LESSA; PESSÔA, 2005), *Chinchilla lanigera* (LAMMERS; DZIECH; GERMAN, 2001) e *Oligoryzomys microtis* (PATTON; SILVA; MALCOLM, 2000).

*Blarinomys breviceps* teve sua variação morfológica intrapopulacional avaliada anteriormente pelos autores Abravaya e Matson (1975) através da análise de caracteres quantitativos externos e cranianos entre indivíduos do município de Castelo, estado do Espírito Santo. Dentre os caracteres cranianos analisados, foi observado dimorfismo sexual significativo apenas no comprimento côndilo-basal, com os machos maiores que as fêmeas. Segundo Voss *et al.* (1988) este caractere é equivalente ao comprimento côndilo-incisivo (CCI) (Figura 2) analisado no presente estudo, no qual não houve diferença sexual significativa. Dessa forma, os resultados encontrados aqui para a população do estado de Minas Gerais foram diferentes daqueles obtidos por Abravaya e Matson (1975) para a população do estado do Espírito Santo. Em relação aos demais caracteres analisados para a população do Espírito Santo (maior comprimento do crânio, comprimento do forâmen incisivo, menor largura interorbital, largura zigomática, maior comprimento do nasal e comprimento da série molar superior) não foi observado dimorfismo sexual significativo embora os machos apresentassem algumas médias maiores que as fêmeas, corroborando o presente estudo.

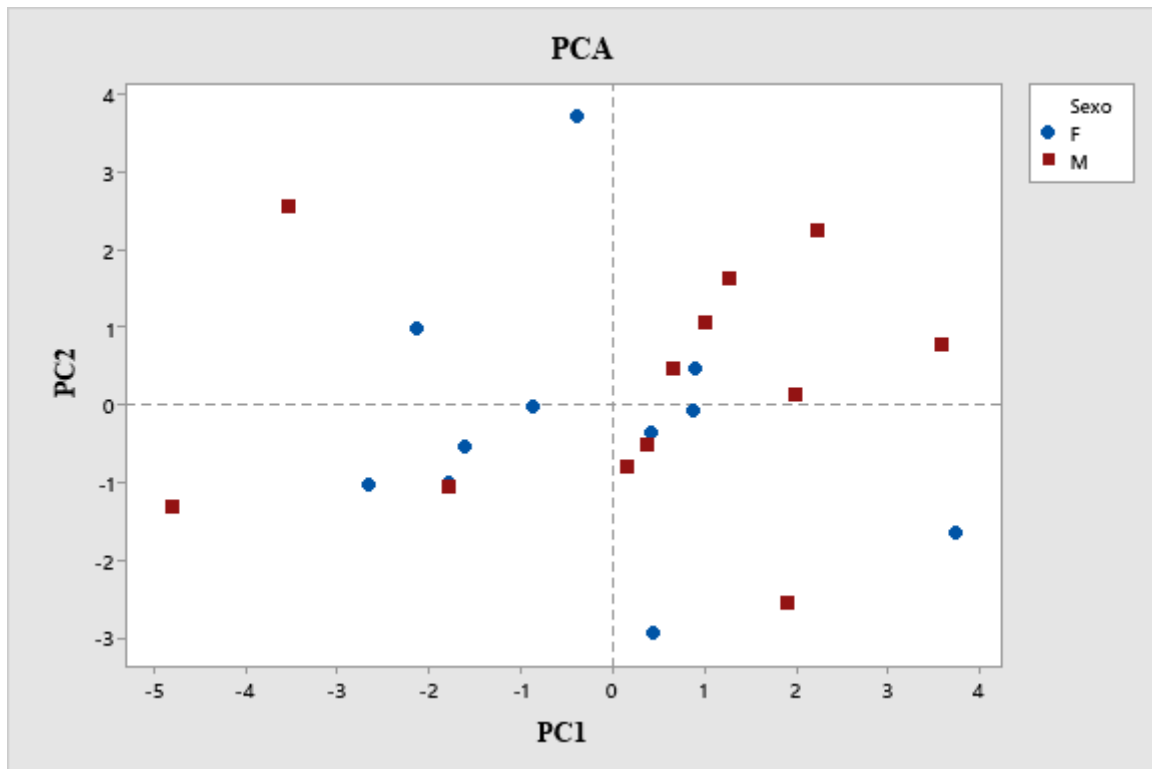
Outra análise para avaliar o dimorfismo sexual em caracteres cranianos de *B. breviceps* foi realizada incluindo indivíduos de diferentes populações distribuídas ao longo dos estados de ocorrência da espécie (GEISE *et al.*, 2008). Dentre os caracteres cranianos analisados, foi observado dimorfismo sexual significativo, com as fêmeas maiores que os machos, para a largura entre os primeiros molares, comprimento interno da órbita, largura zigomática, largura da placa zigomática e comprimento da mandíbula. Porém, a presença de dimorfismo sexual identificada por Geise *et al.* (2008) não corroborou os resultados obtidos no presente estudo.

Cabe destacar que embora tenham observado dimorfismo sexual significativo, esta variação pode ter sido influenciada pela variação morfológica relacionada à procedência geográfica visto que foram analisados conjuntamente espécimes provenientes de diferentes localidades.

**Tabela 1.** Estatística descritiva e análise de variância (ANOVA) para variação sexual em 22 variáveis estudadas em crânios de *Blarinomys breviceps* provenientes da EPTEA Mata do Paraíso, Município de Viçosa, Minas Gerais.

Caracteres	N = 23 (♀ = 11; ♂ = 12)			
	MD	DP	F	P
CCI	21.808	0.446	0.80	ns
	21.967	0.410		
CTC	22.917	0.957	0.25	ns
	23.118	0.981		
CR	8.7894	0.0470	0.59	ns
	8.8087	0.0698		
LR	4.3255	0.1435	0.33	ns
	4.3642	0.1765		
CF	7.735	0.484	0.53	ns
	7.8597	0.3263		
CP	5.322	0.503	0.02	ns
	5.289	0.554		
MLI	6.3118	0.1207	0.00	ns
	6.3089	0.1438		
LZ	13.225	0.213	0.32	ns
	13.287	0.299		
LCC	12.395	0.178	0.14	ns
	12.433	0.292		
AC	8.2153	0.1713	0.48	ns
	8.2717	0.2138		
LPZ	1.3024	0.0801	0.26	ns
	1.3214	0.0975		
CFI	4.9855	0.3142	0.07	ns
	4.9536	0.2584		
LFI	2.3788	0.1197	1.50	ns
	2.4447	0.1369		
CPP	3.8373	0.1417	0.19	ns
	3.8669	0.1838		
LCO	6.8033	0.1933	2.88	ns
	6.6909	0.1191		
MCDB	4.9215	0.1132	0.00	ns
	4.9239	0.0572		
CMS	4.2727	0.0888	0.06	ns
	4.2647	0.0751		
LMS	1.2609	0.0490	0.01	ns
	1.2586	0.0565		
AI	3.5782	0.2030	0.01	ns
	3.5850	0.1344		
CM	12.103	0.352	0.17	ns
	12.050	0.266		
AM	4.5252	0.1606	0.30	ns
	4.5646	0.1857		
APC	6.5109	0.2220	0.07	ns
	6.5327	0.1854		

Nota: MD = média; DP = desvio-padrão; F = valor da ANOVA; P = nível de significância da ANOVA; ns = não significativo. Valores superiores em MD e DP referem-se aos indivíduos do sexo feminino e os inferiores aos masculinos.



**Figura 3.** Análise de componentes principais (PC1 e PC2) dentro da população *Blarinomys breviceps* proveniente de Viçosa, MG.

#### 4. Conclusão

A ausência de dimorfismo sexual observada na população de Viçosa indica que indivíduos machos e fêmeas de amostras representativas da espécie *Blarinomys breviceps* podem ser considerados conjuntamente em análises de variação geográfica, pois as poucas diferenças métricas cranianas encontradas não possuem magnitude para interferir nestas análises.

#### 5. Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro. Aos colegas do Laboratório de Mastozoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa pela contribuição no desenvolvimento das técnicas e análises.

#### 6. Referências

ABRAVAYA, J. P.; MATSON, J. O. Notes on a Brazilian Mouse *Blarinomys breviceps* (Winge). *Natural History Museum of Los Angeles County*, p. 1–8, 1975.

ASFORA, P. H. *et al.* Distribution of *Oecomys catherinae* Thomas, 1909 (Rodentia: Cricetidae) in northeastern Brazil with karyotypical and morphometrical notes. *Biota Neotropica*, v. 11, n.

2, p. 415–424, 2011.

BEZERRA, A. M. R.; FILHO, J. M. Variabilidade intrapopulacional em caracteres cranianos de *Galea spixii* (Wagler, 1831) (Rodentia, Caviidae, Caviinae) no nordeste do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*, v. 68, n. 1–2, p. 111–124, 2010.

BEZERRA, A. M. R.; OLIVEIRA, J. A. Taxonomic implications of cranial morphometric variation in the genus *Clyomys* Thomas, 1916 (Rodentia: Echimyidae). *Journal of Mammalogy*, v. 91, n. 1, p. 260–272, 2010.

GEISE, L. *et al.* The karyotype of *Blarinomys breviceps* (Mammalia: Rodentia: Cricetidae) with comments on its morphology and some ecological notes. *Zootaxa*, v. 60, p. 47–60, 2008.

GEISE, L.; MORAES, D. A.; SILVA, H. S. Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the Atlantic coastal area of Brazil. *Arquivos do Museu Nacional*, v. 63, n. 1, p. 63–74, 2005.

LAMMERS, A. R.; DZIECH, H. A.; GERMAN, R. Z. Ontogeny of sexual dimorphism in *Chinchilla lanigera* (Rodentia: Chinchillidae). *Journal of Mammalogy*, v. 82, n. 1, p. 179–189, 2001.

LESSA, G.; PESSÔA, L. M. Variação ontogenética e sexual em caracteres cranianos de *Kerodon rupestris* Wied, 1820 (Rodentia: Caviidae). *Arquivo do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, v. 63, n. 3, p. 599 – 618, 2005.

MISSAGIA, R. V.; PERINI, F. A. skull morphology of the Brazilian shrew mouse *Blarinomys breviceps* (Akodontini; Sigmodontinae), with comparative notes on Akodontini rodents. *Zoologischer Anzeiger*, v. 277, p. 148–161, 2018.

MUSSER, G. G. The species of *Chiropodomys*, arboreal mice of Indochina and the Malay archipelago. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 162, n. 6, p. 377–445, 1979.

MYERS, P.; PATTON, J. L.; SMITH, M. F. A Review of the Boliviensis Group of *Akodon* (Muridae: Sigmodontinae) with emphasis on Peru and Bolivia. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan*, v. 177, n. 177, p. 1–104, 1990.

PAGLIA, A. P. *et al.* Novo registro de *Blarinomys breviceps* (Winge, 1888) (Rodentia,

Sigmodontinae) no estado de Minas Gerais, Brasil. *Lundiana*, v. 6, n. 2, p. 155–157, 2005.

PATTERSON, B. D. A new genus and species of long-clawed mouse (Rodentia: Muridae) from temperate rainforests of Chile. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 106, n. 2, p. 127–145, 1992.

PATTON, J. L.; PARDIÑAS, U. F. J.; D'ELÍA, G. *Mammals of South America*. [S.l.]: University of Chicago Press, 2015. v. 2.

PATTON, J. L.; ROGERS, M. A. Systematic implications of non-geographic variation in the spiny rat genus *Proechimys* (Echimyidae). *Museum of Vertebrate, University of California*, v. 48, p. 363–370, 1983.

PATTON, J. L.; SILVA, M. N. F.; MALCOLM, J. R. Mammals of the rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 244, n. 1, p. 1–306, 2000.

REIS, S. F.; PESSÔA, L. M.; STRAUSS, R. E. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética*, v. 13, n. 3, p. 509–520, 1990.

STRANEY, D. O. Variance partitioning and nongeographic variation. *Journal of Mammalogy*, v. 59, n. 1, p. 1–11, 1978.

VOSS, R. S. Systematics and ecology of Ichthyomyine rodents (Muroidea): patterns of morphological evolution in a small adaptive radiation. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 188, p. 259–493, 1988.

VOSS, R. S.; MARCUS, L. F. Morphological evolution in muroid rodents ii. Craniometric factor divergence in seven neotropical genera, with experimental results from *Zygodontomys*. *Evolution*, v. 46, n. 6, p. 1918–1934, 1992.

WINGE, H. Jordfundne of nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa, Minas Geraes, Brasilien. *E Museo Lunii*, v. 1, n. 3, p. 34–35, 1888.

### 3 REFERÊNCIAS

- ABRAVAYA, J. P.; MATSON, J. O. Notes on a Brazilian Mouse *Blarinomys breviceps* (Winge). *Natural History Museum of Los Angeles County*, p. 1–8, 1975.
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. *Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos*. [S.l.]: Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 2008.
- D'ELÍA, G. Phylogenetics of sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. *Cladistics*, v. 19, n. 4, p. 307–323, 2003.
- DAVIS, D. E. The capture of the Brazilian Mouse *Blarinomys Breviceps*. *Journal of Mammalogy*, v. 25, n. 4, p. 367–369, 1944.
- DI-NIZO, C. B. *et al.* Advances in cytogenetics of Brazilian rodents: Cytotaxonomy, chromosome evolution and new karyotypic data. *Comparative Cytogenetics*, v. 11, n. 4, p. 833–892, 2017.
- DIÓRIO D. G. Biologia e comportamento de *Blarinomys breviceps*: uma espécie rara de roedor da Mata Atlântica. *X Congresso de Ecologia do Brasil*, 2011.
- DOBIGNY, G.; YANG, F. Comparative cytogenetics in the genomics era: Cytogenomics comes of age. *Chromosome Research*, v. 16, n. 1, p. 1–4, 2008.
- FAGUNDES, V.; VIANNA-MORGANTE, A. M.; YONENAGA-YASSUDA, Y. Telomeric sequences localization and G-banding patterns in the identification of a polymorphic chromosomal rearrangement in the rodent *Akodon cursor* (2n = 14, 15 and 16). *Chromosome Research*, v. 5, n. 4, p. 228–232, 1997.
- GEISE, L. *et al.* The karyotype of *Blarinomys breviceps* (Mammalia : Rodentia: Cricetidae) with comments on its morphology and some ecological notes. *Zootaxa*, v. 60, p. 47–60, 2008.
- GONÇALVES, P. R. *et al.* Morphological and cytogenetic analyses of *Bibimys labiosus* (Winge, 1887) (Rodentia, Sigmodontinae): Implications for its affinities with the scapteromyine group. *Mammalian Diversification: From Chromosomes to Phylogeography*. California: University of California Press, p. 174–209, 2012.

- GUERRA, M. S. *Introdução à citogenética geral*. [S.l.]: Guanabara Koogan, 1988.
- MARTINS, C. *et al.* Cytogenetic mapping and contribution to the knowledge of animal genomes. *Advances in genetics research*. [S.l.: s.n.], 2011. v. 4. p. 1–81.
- MISSAGIA, R. V.; PERINI, F. A. Skull morphology of the Brazilian shrew mouse *Blarinomys breviceps* (Akodontini; Sigmodontinae), with comparative notes on Akodontini rodents. *Zoologischer Anzeiger*, v. 277, p. 148–161, 2018.
- PAGLIA, A. P. *et al.* Novo registro de *Blarinomys breviceps* (Winge, 1888) (Rodentia, Sigmodontinae) no estado de Minas Gerais, Brasil. *Lundiana*, v. 6, n. 2, p. 155–157, 2005.
- PARSONS, K. J.; ROBINSON, B. W.; HRBEK, T. Getting into shape: An empirical comparison of traditional truss-based morphometric methods with a newer geometric method applied to New World cichlids. *Environmental Biology of Fishes*, v. 67, p. 417–431, 2003.
- PATTON, J. L.; PARDIÑAS, U. F. J.; D'ELÍA, G. *Mammals of South America*. [S.l.]: University of Chicago Press, 2015. v. 2.
- REIS, S. F. *et al.* Altitudinal distribution and feeding habits of *Blarinomys breviceps*. *International Journal of Mammalian Biology*, v. 61, p. 253–255, 1996.
- ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. A revolution morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 8, n. 4, p. 129–132, 1993.
- SALAZAR-BRAVO, J. *et al.* Description of a new tribe of Sigmodontine Rodents (Cricetidae: Sigmodontinae) with an updated summary of valid tribes and their generic contents. *Occasional Papers Museum of Texas Tech University*, v. 338, n. 338, p. 1–23, 2016.
- SMITH, M.; PATTON, J. C. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society*. n. July, p. 149–177, 1993.
- THOMAS, O. XLVI.— On new small mammals from the Neotropical region. *Annals and Magazine of Natural History*, v. 18, n. 106, p. 301–314, 1896.
- VENTURA, K. *et al.* Phylogeographic structure and karyotypic diversity of the Brazilian shrew mouse (*Blarinomys breviceps*, Sigmodontinae) in the Atlantic Forest. *Cytogenetic and Genome*

*Research*, v. 138, n. 1, p. 19–30, 2012.

VOSS, R. S.; MARCUS, L. F. Morphological evolution in muroid rodents ii. Craniometric factor divergence in seven neotropical genera, with experimental results from *Zygodontomys*. *Evolution*, v. 46, n. 6, p. 1918–1934, 1992.

WAHLERT, J. H. Relationships of the extinct rodent cricetops to *Lophiomys* and the Cricetinae (Rodentia, Cricetidae). *American Museum Novitates*, v. 2784, n. 1925, p. 1–15, 1984.

WINGE, H. Jordfundne of nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa, Minas Geraes, Brasilien. *E Museo Lunii*, v. 1, n. 3, p. 34–35, 1888.