

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
UNESP - CAMPUS BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

EVOLUÇÃO CROMOSSÔMICA NA ORDEM XENARTHRA

HÉLIO RUBENS JACINTHO PEREIRA JÚNIOR

Orientador: Prof. Dr. WILHAM JORGE
Co-Orientador: Prof Dr EDUARDO BAGAGLI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu para obtenção de título de doutor em Ciências Biológicas. Área de concentração: Genética.

Botucatu – São Paulo
2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus

Pereira Junior, Hélio Rubens Jacintho.

Evolução Cromossômica na Ordem Xenarthra / Hélio Rubens Jacintho
Pereira Júnior. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Tese (doutorado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista, 2007.

Orientador: Wilham Jorge
Assunto CAPES: 20200005

1. Genética 2. Cromossomos 3. Evolução(Biologia)

CDD 574.8732

Palavras chave: Cromossomos; Evolução; Ordem Xenarthra

AGRADECIMENTOS

Às pessoas:

- ✓ A minha mãe Ana e meus irmãos Zilda Maria e Luiz Guilherme e minha avó Maria pelo apoio e incentivo que deram durante mais esta etapa de minha vida;
- ✓ As minhas tias Liris e Dirce pelo apoio e carinho que sempre me dedicaram;
- ✓ Ao prof. Dr. Eduardo Bagagli pela sua dedicação e por ter sido a primeira pessoa a acreditar no meu potencial;
- ✓ Aos profs. Dra. Lígia Souza Lima Silveira da Mota e Dr. Guaracy Tadeu Rocha pelo auxílio desde a graduação;
- ✓ Aos prof. Dr. Eduardo Eizirik pelo auxílio e companheirismo que tem demonstrado por mim e pelo xenartros;
- ✓ Aos profs. Dr. Helton Delicio, Dr. Cláudio de Oliveira, Dr. Fausto Foresti, Dr. Ivan de Godoy Maia e Dr Jorge Jim pelos conselhos e auxílio nestes anos de doutorado.
- ✓ Às pós-doutorandas Karla Suemy ClementeYotoko e Larissa Rosa de Oliveira do centro de Biologia Genômica e Molecular da PUC/RS pelo companheirismo, amizade e deidicação;
- ✓ Ao Assis (Severino A. da Graça. Marcoris) pela amizade, pelos anos de trabalho em conjunto e por sempre mostrarem-se prestativos e cuidadosos para com meus passos;
- ✓ Ao pessoal do laboratório de Micologia Unesp-Botucatu pela amizade (Sandra, Keila, Ligia, Raquel e Virginia), por serem sempre tão prestativas comigo e por nossos trabalhos em conjunto;
- ✓ A veterinária Maria Elvira da Costa e as biólogas Dália Drizel e Valéria Pereira da fundação Zoobotânica e as biólogas Kátia Cassaro e Mara Ângelo e veterinária Flávia Miranda da Fundação Zoológico de São Paulo pela ajuda com a coleta do sangue dos tamanduás e pelas informações sobre os mesmos;
- ✓ A técnica do laboratório de Citogenética – UNESP/campus Botucatu Valquíria Santiloni pela montagem das lâminas e pelas ajudas com as técnicas de bandamento cromossômico;
- ✓ A técnica do laboratório de Centro de Biologia Genômica e molecular da PUC/RS Claudinara Roberts Sarturi pela seqüenciamento e auxílio com as técnicas moleculares;

- ✓ A Érica, Pedro, Mariana, Paulo Chaves, Paulo Prates, Manoel, Cristine, Taiana, pelas conversas, pelo companheirismo e pela amizade durante nossa convivência nos laboratórios que frequentei neste período;
- ✓ Aos membros da República Biotererê (antigos: Guincho, Flato, Feio, Dandão, Cipó, Titi, Mixele e Bizio, Sabão, Potranca, Sula, Kascola, Sonso, atuais: Truta, Soneca, Joselito, Pitera, Popetar, Tchuta e a Nossa empregada: Doutora, vulgo: Dona Erli) por ter sido e sempre serem grandes amigos e pelo nosso lar em Botucatu;
- ✓ Ao Sergio, Sônia, Salete, Luciane e Marcio da Secretaria da Pós-graduação pela sempre disposição e boa vontade em esclarecer e ajudar minhas dúvidas no âmbito burocrático;
- ✓ Aos amigos, Tatiane, Irani, Karina, Bonsai (Flávio), Barba (Antonio Sergio), Biduck (Marcio), Demis, Kpiwara (Matheus), Kumida (Ana Carolina), Mônica, Yara, Rodrigo, Dona Marielena e Seu Horácio por sempre estarem presentes neste período de minha vida.
- ✓ Ao meu melhor amigo Glauco pelas horas boas e pelos momentos difíceis que passamos nestes mais de vinte anos de amizade.

Às Instituições:

- ✓ A CAPES pela concessão de minha bolsa de estudo durante o doutorado;
- ✓ A CNPq pela concessão de auxílio material, para o Laboratório de Citogenética Animal da UFMG, o que foi de extrema importância para o projeto dos Xenarthra;
- ✓ A FAPESP, pela concessão de recursos ao prof. Eduardo Bagagli;
- ✓ A Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte, e Fundação Zoológico de São Paulo por permitir a coleta de material dos seus animais, sem o qual não seria possível a realização desta pesquisa;
- ✓ Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Genética do Instituto de Biociências, UNESP campus de Botucatu, por possibilitar a realização de meu doutorado;
- ✓ Aos Laboratório de Citogenética Animal do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Estadual Paulista – campus Botucatu e Centro de Biologia Genômica e Molecular da PUC/RS pela infra-estrutura cedida para realização do projeto;
- ✓ Ao IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) pela Licença concedida para Captura, Coleta e Transporte de Animais Silvestres (Lic. 177/02 – FAUNA/MG).

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A meu pai Hélio e minha Avó Zilda, os quais perdi neste último ano. Que sempre estiveram ao meu lado e que gostaria que estivessem presenciando mais essa conquista.

Ao prof. Dr. Wilham Jorge, pela orientação, apoio, amizade e por sua bela história de vida e paixão pelos Xenartros. Nestes últimos cinco anos, me espelho nele como exemplo de vida profissional e acadêmica. Ao final da vida, espero poder ser 1% da pessoa que ele é.

RESUMO GERAL

A Ordem Xenarthra é uma ordem de mamíferos placentários composta por três formas viventes: tamanduás, tatus e preguiças arborícolas. É originária da América Sul e tem como distribuição geográfica o centro sul da América do Norte até o extremo sul da América do Sul. A Ordem possui trinta espécies viventes divididas em quatro famílias: Dasypodidae formada pelos tatus, com vinte e uma espécies, Myrmecophagidae (tamanduás) com quatro espécies, Bradypodidae (preguiças de três dedos) com quatro espécies e Megalonychidae (preguiças de dois dedos) com duas espécies. As espécies *Priodontes maximus* (tatu-canastra), *Tolypeutes tricinctus* (tatu-bola da caatinga), *Bradypus torquatus* (preguiça de coleira) e *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira) estão classificadas como vulneráveis pela IUCN (International Union of Conservation), sendo a preguiça de coleira e o tatu-bola da caatinga endêmicos do Brasil. A maioria dos xenartros possui uma constituição cariotípica que varia de 48 até 65 cromossomos, exceto a espécie *Tolypeutes matacus* com $2n=38$ cromossomos. Das trinta espécies conhecidas atualmente, apenas dezenove tiveram seu cariótipo descrito ou relatado. Os xenartros apresentam uma ampla gama de eventos cromossômicos, como fusão / fissão entre as espécies do gênero *Cabassous*, *Choloepus* e *Bradypus* e na família Myrmecophagidae, eventos de rearranjos cromossômico no gênero *Dasypus* e a combinação de ambos no gênero *Chaetophractus*. A presente tese está dividida em quatro capítulos: 1 revisão bibliográfica sobre os dados cromossômicos na Ordem Xenarthra; 2 descrição do cariótipo da espécie *Cabassous unicinctus*; 3 descrição uma nova espécie do gênero *Tamandua*; 4 análise da evolução cromossômica da Ordem Xenarthra, utilizando abordagem filogenética.

ÍNDICE

1.	Introdução.....	01
2.	Revisão da literatura.....	05
3.	Referências bibliográficas.....	31
Capítulo 1	Chromosome studies in Xenarthra.....	46
Capítulo 2	Descrição do cariótipo de <i>Cabassous unicinctus</i> e sua origem.....	84
Capítulo 3	Uma nova espécie no gênero <i>Tamandua</i>.....	97
Capítulo 4	Evolução cromossômica na Ordem Xenarthra: uma abordagem filogenética.....	122
4.	Apêndice.....	154

1. INTRODUÇÃO

Os tamanduás, os tatus e as preguiças são mamíferos placentários pertencentes à ordem Xenarthra, também conhecida como ordem Edentata, (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a;b). A distribuição geográfica destes animais vai do Centro-sul da América do Norte, passando pelas América Central até o sul da América do Sul (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a;b). A infra-ordem Pilosa (tamanduás e preguiças) possui cobertura corporal densa, olhos e orelhas pequenas e cauda longa, sendo que na maioria das espécies ela também é preênsil nos tamanduás ou extremamente reduzida ou ausente nas preguiças. A infra-ordem Cingulata (tatus) caracteriza-se pelos osteodermos presentes na pele formando uma carapaça óssea (Nowak, 1999; Bloch *et al.*, 1976). Possui cinco dedos nos membros e em alguns grupos observa-se a presença de três dedos (tatu, preguiças de três dedos e tamanduás) ou dois dedos (preguiças de dois dedos) terminados em grandes garras utilizadas tanto para a escavação como para escalada (Bloch, *et al.*, 1976).

Os tamanduás apresentam alto grau de especialização anatômica e fisiológica para obtenção de alimentos (Eisenberg, 1981, Naples, 1999). O focinho é tubular estreito e comprido, terminando numa boca pequena de cerca de 20 mm de diâmetro com a maioria da musculatura facial reduzida (Naples, 1999). A língua do tamanduá bandeira possui aproximadamente 1,0 m de comprimento e produz um muco viscoso e aderente, ideal para captura de alimentos (formigas e cupins) (Naples, 1999). A ausência de dentes e redução do aparato mastigatório, aparece no estômago uma estrutura muscular provida de fibras rígidas, com função de trituração do alimento, que se denomina dente muscular (Bloch *et al.*, 1976). As preguiças apresentam o trato digestivo modificado para digestão de folhas, como o dos ruminantes, item principal de sua alimentação (Bloch *et al.*, 1976). Os membros das famílias Megalonychidae e Bradypodidae apresentam tendências a baixo metabolismo, como consequência dessa adaptação alimentar (McNab, 1985). O sistema digestório dos tatus não apresenta nenhuma especialização em comparação a tamanduás e preguiças arborícolas (Bloch *et al.*, 1976). Isso se deve ao fato de que os tatus apresentam uma gama de hábitos

alimentares, variando de onívoros facultativos até insetívoros especializados (Redford, 1985a; Pereira Jr *et al.*, 2003).

De acordo com Wetzel (1985a;b) são três os gêneros vivos que compõem a família Myrmecophagidae: *Myrmecophaga* (tamanduá bandeira), *Tamandua* (tamanduá-mirim) e *Cyclopes* (tamanduá); um gênero na família Bradypodidae: *Bradypus* (preguiças de três dedos); um gênero na família Megalonychidae: *Choloepus* (preguiças de dois dedos); oito gêneros na família Dasypodidae: *Chlamyphorus* (pichiegos), *Zaedyus* (pichi), *Euphractus* (tatu-peba), *Tolypeutes* (tatu-bola), *Dasypus* (tatu-galinha), *Cabassous* (tatu de rabo-mole), *Chaetophractus* (tatu peludo) e *Priodontes* (tatu-canastra).

A citogenética é o estudo dos cromossomos isolados ou em conjunto, condensados ou distendidos, da sua organização, morfologia, replicação e função, assim como da sua variação e evolução (Guerra, 1987). A crescente expansão humana, ocupação territorial e exploração dos recursos naturais no século XX iniciou o processo de extinção de inúmeras espécies, com isso aumenta a necessidade de estudos sobre estas espécies. A citogenética tornou-se uma preciosa ferramenta para aqueles que trabalham com a conservação da vida selvagem. Os estudos citogenéticos são usados para diagnosticar sexo de espécies que não apresentam dimorfismo sexual e para detectar problemas genéticos como translocações, inversões e deleções, os quais podem ser causados por endogamia de populações pequenas ou que estão sendo drasticamente reduzidas pela expansão humana. Também ajuda a estabelecer as relações filogenéticas entre diferentes espécies, gêneros e outros níveis taxonômicos, os quais podem ser separados pelas diferenças cromossômicas (estruturais ou numéricas) (Rocha, 1993).

A partir de 1960, os estudos da ordem Xenarthra têm se apropriado de algumas técnicas bioquímicas e moleculares. Estas tiveram significativo desenvolvimento e têm contribuído para o esclarecimento de vários aspectos da biologia, ecologia, biogeografia e evolução, sendo atualmente reconhecidas como ferramentas fundamentais para a aquisição de novos conhecimentos nesta ordem.

Os marcadores moleculares estão ganhando uma importância cada vez maior nas descobertas, com o propósito de validar, inquirir ou complementar modelos vigentes, ou mesmo abordar problemas que as metodologias tradicionais não conseguem ou têm dificuldades (Baker e Palumbi, 1996; Wayne, 1996). Entre os marcadores moleculares mais utilizados nos estudos evolutivos, populacionais, e outros, se destaca o DNA mitocondrial e o DNA nuclear, como marcadores de diversidade genética. Ambos são usados em investigações sobre relações filogenéticas entre diferentes taxa e identificação de divisões geográficas entre unidades populacionais sendo que para este tipo de análise, o DNA mitocondrial apresenta melhor desempenho (Avice *et al.*, 1987; Springer *et al.* 2001).

O presente trabalho têm como objetivos:

- A. Fazer completa revisão cromossômica da ordem Xenarthra – Capítulo 1, fazendo parte do Livro *The Biology of Xenarthra* – Ed W.J Loughry e S.F. Vizcaino – “Chapter 19”.
- B. Descrever o cariótipo com bandamento da espécie *Cabassous unicinctus*, que apresentou número e morfologia diferentes das demais espécies do gênero *Cabassous* descritas por Benirschke *et al.* (1969) e Barroso e Seuánez (1991) – Capítulo 2;
- C. Descrever e caracterizar a nova espécie do gênero *Tamandua* com auxílio de técnicas citogenéticas, análises de morfologia e dados moleculares – Capítulo 3;
- D. Analisar, comparativamente, os cariótipos e seqüências de aminoácidos para esclarecer aspectos da evolução cromossômica da ordem Xenarthra – Capítulo 4;

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Características Gerais da Ordem Xenarthra

2.1.1. Nomenclatura

Em sua décima edição do *Systema Naturae*, Lineu organizou os mamíferos em oito ordens, sendo que, os tamanduás, as preguiças juntamente com os elefantes e os pangolins pertenciam a ordem Bruta e os tatus, os porcos, os gambás e alguns insetívoros formavam a ordem Bestiae (Glass, 1985).

Simpson (1945) em seu trabalho de revisão dos mamíferos, concluiu que Lineu não reconheceu os xenartros como um grupo natural e em sua classificação, a ordem Bruta é um sinônimo parcial da ordem Edentata.

Glass (1985) relatou que a nomenclatura Edentata fora cunhada por Cuvier (1798) e posteriormente usada por diversos autores para designar os tamanduás, tatus, preguiças, pangolins e aardvarks. Em 1872, Huxley retirou pangolins e aardvarks da ordem Edentata. Adições de grupos fósseis à ordem Edentata foram realizadas após o século XVIII, preguiças terrícolas em 1796 e gliptodontídeos em 1838, Simpson (1945).

Todos os membros da ordem Edentata (vivos ou fósseis) são portadores de vértebras “xenártricas”, que caracterizam por serem articulações intervertebrais em adição a articulação da zigapófise (Glass, 1985). Os membros também possuem articulações do ísquio com a coluna vertebral, incorporando a vértebra sacral, que nos demais mamíferos pode constituir elementos caudais (Glass, 1985). Na escápula, os processos coracóide e acrômio apresentam-se extremamente desenvolvidos, em relação aos outros mamíferos. Possuem dentição homodôntica, ou seja, a completa perda dos dentes. Estas características são encontradas tanto nas formas fósseis como nas viventes (Glass, 1985).

O termo Edentata, cujo significado é sem dentes, foi usado para designar tamanduás, pangolins e aardvarks, sendo melhor aplicado como sinônimo das ordens Pholidota e Tubulidentata. Dentre os xenartros, os tamanduás são os

únicos representantes que não possuem dentes. Os tatus e as preguiças do gênero *Bradypus*, possuem dentes molares e as preguiças do gênero *Choloepus*, possuem dentes caninos e molares.

Glass (1985) considerou o nome *Xenarthra* como legítimo e descritivo, para tamanduás, tatus e preguiças, viventes ou fósseis. O uso deste termo como nomenclatura da ordem, ao invés de *Edentata*, reconhece os caracteres esqueléticos, anteriormente mencionados, comuns a todos os membros desta ordem, no entanto a denominação *Edentata* continua sendo utilizada erroneamente.

Gardner (2005a;b) elevaram o “status” taxonômico de *Xenarthra* em função das novas discussões sobre relações filogenéticas as quais serão abordadas mais à frente. Segundo as considerações de Gardner (2005a;b) os xenartros passam a ser divididos em duas ordens: *Pilosa* (com o corpo recoberto por pêlos) – que inclui tamanduás e preguiças arborícolas e *Cingulata* (com o corpo recoberto por osteodermos) – na qual se encontram os tatus viventes.

2.1.2 Origem e sistemática

Os xenartros são mamíferos pertencentes a infra-classe *Eutheria* (Bergqvist *et al.*, 2000). A distribuição geográfica dos xenartros viventes estende-se por toda a região Neotropical e parte sul da região Neártica (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a;b). A espécie que tem a maior distribuição espacial é o tatu de nove bandas, *Dasyus novemcinctus*, qual abrange a região centro-sul do continente norte americano, passando pela América Central, até o sul da América do Sul (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a;b).

As características principais desse grupo são: a) as vértebras xenártricas; b) o desenvolvimento incompleto de dentes que são prismáticos ou cilíndricos, sem cúspides, com desenvolvimento contínuo discreto e desprovido de raiz (preguiças

e tatus) ou ausência total de dentes (tamanduás) (Glass, 1985; Bergqvist *et al.*, 2000; Wetzel, 1985a;b; Nowak, 1999).

Os xenartros foram classificados de várias outras formas em outros trabalhos taxonômicos (Yepes, 1928; Cabrera, 1957; Talmage e Buchanan, 1954) citados por Benirschke (1969). Atualmente, a ordem Xenarthra (formas viventes e extintas), é subdivida em três infra-ordens: Phyllophaga (preguiças arbóreas e terrestres), Cingulata (tatus e gliptodontídeos) e Vermilingua (tamanduás) (Engelmann, 1985, Wetzel, 1985a;b).

No presente estudo, adotaremos a classificação de Wetzel (1985a;b) (Tabela 1) que relata quatro espécies de tamanduás, vinte e uma espécies de tatus e seis espécies de preguiças arborícolas, todos viventes, tendo sido adicionada recentemente uma nova espécie no gênero *Bradypus* (preguiça de três dedos) descrita por Anderson e Handley (2001), uma espécie no gênero *Dasybus* (tatu de nove bandas) descrita por Vizcaíno (1995) e uma no gênero *Tamandua* (tamanduá mirim) descrita por Pereira Jr (capítulo 4). Nos xenartros ainda há muitas lacunas na classificação taxonômica para serem resolvidas, o que tem provocado um grande interesse no estudo desse grupo (Engelmann, 1985; De Jong *et al.*, 1985; Sarich, 1985; Delsuc *et al.*, 2001; 2002; 2003; 2004; Eizirik *et al.*, 2001, Murphy *et al.*, 2001a;b; Amrine-Madsen *et al.*, 2003; Barros *et al.*, 2003).

As relações filogenéticas dentro da ordem Xenarthra e sua posição dentro da filogenia dos mamíferos placentários (infra-ordem Eutheria) ainda não estão totalmente definidas. Para verificar estas relações, De Jong *et al.* (1985) isolaram e sequenciaram os aminoácidos de uma proteína do cristalino, a α -cristalina, de uma espécie de preguiça (*Bradypus variegatus*) e de duas espécies de tamanduás (*Tamandua mexicana* e *Myrmecophaga tridactyla*). Os resultados mostraram uma origem monofilética das preguiças e dos tamanduás, e posicionaram a ordem como um grupo-irmão de Eutheria.

Conclusões semelhantes foram obtidas por Sarich (1985) através da análise das distâncias imunológicas, que foram obtidas por técnicas quantitativas de precipitação de soro. As albuminas das seguintes espécies de preguiças (*Choloepus hoffmanni* e *Bradypus variegatus*), de tamanduás (*Tamandua*

tetradactyla, *Myrmecophaga tridactyla* e *Cyclopes didactylus*) e de tatus (*Cabassous sp.* e *Dasypus novemcinctus*) apresentaram-se muito distanciadas entre si. Este distanciamento indicou que as quatro Famílias de xenartros viventes tenham se separado há, no mínimo, 75-80 milhões de anos e que as albuminas de preguiças, tatus e tamanduás são tão distintas um das outras como a dos morcegos, carnívoros e primatas.

Arnason *et al.* (1997) utilizando DNA mitocondrial codificante de proteínas (mtDNA) de várias ordens de mamíferos e Waddell *et al.* (1999) avaliando mtDNA, concluíram que a ordem Xenarthra seria um grupo-irmão dentro dos placentários. Arnason *et al.* (1997) identificaram o tempo de divergência entre os Xenartros e os Ferungulados (carnívoros, artiodátilos, perissodátilos e cetáceos) em cerca de 86 milhões de anos.

No trabalho realizado por Murphy *et al.* (2001a), foi feita uma ampla abordagem filogenética em 64 espécies de mamíferos placentários. Os autores seqüenciaram dezoito genes (quinze nucleares e três mitocondriais). Os dados permitiram distribuir as espécies em quatro grandes agrupamentos: Afrotheria composto por Sirenia, Proboscidea, Hyracoidea, Tubulidentata, Terencidae e Macroscelidea; Xenarthra composta por tatus, tamanduás e preguiças; Euarchontoglires composta por Rodentia, Lagomorpha, Scandentia, Dermoptera e Primates; e Laurasiatheria contendo todos os outros mamíferos placentários. A ordem Xenarthra apresentou forte indício de origem monofilética, porém organizou-se em dois subgrupos: Pilosa contendo tamanduás e preguiças e Cingulata onde estão os tatus. Murphy e vários pesquisadores ainda discutem a hipótese de que Afrotheria seja o grupo-irmão dos demais mamíferos placentários, hipótese esta mais fortemente apoiada pelos recentes dados moleculares. Porém, os dados não rejeitam a hipótese de que Xenarthra seja o grupo-irmão dos demais placentários, ou que ambos formem um clado representando o grupo-irmão dos demais mamíferos placentários (Murphy *et al.* 2001a;b).

As relações filogenéticas entre as espécies da ordem Xenarthra foram estudadas por Delsuc *et al.* (2001), através de seqüenciamento de regiões nucleares e mitocondriais, e corroboram a hipótese da origem monofilética desta

ordem, anteriormente apresentada por Murphy *et al.* (2001a). Seus dados apresentam relação entre tamanduás e preguiças formando o ramo Pilosa e com o tempo de divergência estimado em 54 milhões de anos. Já a divergência entre os ramos Pilosa e Cingulata possivelmente tenha ocorrido há aproximadamente 63 milhões de anos. A divergência entre Xenarthra e os outros mamíferos placentários deve ter ocorrido há aproximadamente 106 milhões de anos (Delsuc *et al.*, 2001).

A filogenia mais completa da ordem Xenarthra foi inferida por Delsuc *et al.* (2002), a partir das seqüências de três genes nucleares: *ADRA2B*, gene codificante do receptor adrenérgico α 2, *vWF*, gene codificante do Fator de von Willebrand, *BRCA1*, gene marcador de susceptibilidade ao câncer de mama. Todos os gêneros tiveram pelo menos uma espécie amostrada, exceto o gênero *Chlamyphorus*. Este estudo mostra as relações filogenéticas dentro da ordem Xenarthra, evidenciando a monofilia dos agrupamentos Vermilingua (tamanduá) pela deleção de um aminoácido (aa) do gene *BRCA1* e Folivora (preguiças) pelo deleção de dois aa do gene *ADRA2B* e um do gene *BRCA1*. Estes dois agrupamentos formar a infra-ordem Pilosa, a qual se separa da infra-ordem Cingulata, família Dasypodidae (tatus) pela deleção de um aa do gene *ADRA2B*. Esta família se subdivide em três tribos: Dasypodinae, Tolypeutinae e Euphractinae, que se caracterizam pela deleção de quatro aa do gene *ADRA2B* e três aa do gene *BRCA1*. As relações entre as espécies de Tolypeutinae e Euphractinae ainda não foram completamente resolvidas (Figura 1).

Em 2003, Delsuc *et al.* tentaram esclarecer as relações filogenéticas que ocorrem nas tribos da família Dasypodidae. Para tanto, aumentaram o número de genes seqüenciados utilizando os genes mitocondriais *ND1* e *12S* rRNA, além dos três genes nucleares usados em seu trabalho anterior (Delsuc *et al.*, 2002). Os dados obtidos sugeriram que estas duas tribos passaram por eventos de rápida especiação e apontaram que na tribo Euphractinae os gêneros *Euphractus* e *Chaetopharctus* sejam mais aparentadas entre si do que com o gênero *Zaedyus*. Em Tolypeutinae, os gêneros *Priodontes* e *Cabassous* apresentaram maior parentesco entre si, do que com o *Tolypeutes*. Em 2004 Delsuc *et al.* confirmaram

as relações entre as tribos de dasipodídeos, sendo que na tribo Tolypeutinae os gêneros *Cabassous* e *Tolypeutes* são mais aparentados entre si do que com o *Priodontes* e em Euphractinae, *Euphractus* e *Zaedyus* são mais aparentados entre si do que em com a *Chaetophractus*.

Além dos doze gêneros da ordem Xenarthra, Delsuc *et al.* (2002) amostraram mais 35 outros gêneros de mamíferos placentários e três gêneros de marsupiais, que foram usados como grupo externo para análises filogenéticas (Figura 2). Na análise das relações de parentesco entre os placentários, um dado importante foi observado, referente às relações de parentesco da ordem Pholidota (pangolins). Trabalhos anteriores (Arnason *et al.* 1997; Waddell *et al.* 1999) indicavam que esta ordem era grupo-irmão da ordem Xenarthra, porém nas filogenias obtidas por Eizirik *et al.* (2001), Murphy *et al.* (2001a;b), Amrine-Madsen *et al.* (2003) e Delsuc *et al.* (2002) a ordem Pholidota é grupo-irmão da ordem Carnivora. Além dos dados moleculares, dados de morfologia craniana também corroboram esta hipótese (Rose e Emry, 1993), este indicaram que os pangolins possuem o “tentorium” ossificado (estrutura craniana), o que seria uma característica derivada compartilhada com os carnívoros.

No trabalho de 2004, Delsuc *et al.* incorporam às análises filogenéticas, os dados paleontológicos e geológicos da América do Sul (Figura 3). Estes dados também suportaram três hipóteses de posicionamento da ordem Xenarthra dentro da filogenia dos mamíferos placentários: na primeira, Xenarthra seria o grupo-irmão dos demais, sendo que as ordens restantes formariam o agrupamento Epitheria; a segunda, Afrotheria seria grupo-irmão dos demais e os xenartros estariam mais relacionados filogeneticamente às outras ordens de placentários; na terceira, as duas ordens formariam um único agrupamento, que seria grupo-irmão das outras ordens placentárias. A análise dos dados gerados pelo sequenciamento dos genes nucleares indicou que a ordem Xenarthra e a ordem Afrotheria teriam uma origem comum, no final do Cretáceo (há 106 milhões de anos), quando a África, América do Sul, Antártica e Austrália formavam o antigo supercontinente denominado Gondwana.

2.1.3. Características Peculiares

2.1.3.1. Vértebra Xenartra

As vértebras são estruturas ósseas que em conjunto com o crânio, formam o esqueleto axial, característica sinapomórfica do subfilo Vertebrata, no qual os xenartros, assim como os outros mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes estão inclusos. A vértebra é constituída pelas seguintes partes: arco neural, canal neural, espinha neural, hipófise e zigapófise (Pough *et al.*, 1999). Todos os xenartros (vivos ou fósseis) possuem articulações extras nas vértebras (Figura 4), daí o nome Xenarthra (xenos = estranho + athros = articulação) (Glass, 1985). Estas articulações extras conferem maior resistência e flexibilidade ao esqueleto axial que, em conjunto com membros terminados em garras fortes e robustas, facilita a realização de tarefas que exigem grande desgaste do esqueleto como a escavação para os tatus, quebra de cupinzeiros para os tamanduás e a rotação do corpo em até 180° para as preguiças arborícolas (Mendel, 1985).

2.1.3.2. Poliembrionia:

A poliembrionia é o sistema reprodutivo que se caracteriza pelo desenvolvimento de mais de um indivíduo a partir de uma única célula-ovo, sendo este sistema relatado no gênero *Dasypus* (Galbreath, 1985; Prodöhl *et al.*, 1998). A tabela 2 mostra as espécies do gênero *Dasypus* em que ocorre a poliembrionia e o número de filhote por ninhada. Pesquisas com transplante de pele foram realizadas na espécie *Dasypus novemcinctus* (tatu galinha ou de nove-bandas), para comprovar a existência de diferenças entre os filhotes de uma mesma ninhada. Os animais transplantados apresentaram quadros de rejeição (na região do transplante ocorreu aumento da atividade imunológica para expulsar o tecido de origem desconhecida), o que mostrou haver diferenciação entre os indivíduos de mesma ninhada, provavelmente devido a estímulo do ambiente intra-uterino, uma vez que cada indivíduo da ninhada é gestado na sua própria placenta (Benirschke *et al.*, 1964).

Outro fenômeno associado a poliembrião é a implantação tardia, que consiste no retardo do processo de desenvolvimento da célula-ovo e sua implantação na parede uterina por um período de tempo (Prodöhl *et al.*, 1998). Assim na espécie *Dasypus novemcinctus* demora aproximadamente quatro meses para ocorrer a implantação no útero e reiniciar o ciclo de desenvolvimento (Nowak, 1999). Especula-se que a implantação tardia seja a causa da poliembrião, todavia não há argumentos científicos a favor desta hipótese.

2.1.3.3. Temperatura Corporal e Metabolismo:

A temperatura corporal dos xenartros varia de 34,1°C a 35,5°C, com baixos níveis de metabolismo e alta condutibilidade termal (McNab, 1985). Estes níveis podem ser associados com hábitos fossorial (tatus) e arborícola (preguiças e alguns tamanduás) e o consumo de alimentos de baixo potencial calórico, como folhas, formigas e térmitas (McNab, 1985).

Baixo metabolismo seria importante no estabelecimento de longos períodos gestacionais, intenso cuidado materno com a prole e número reduzido de filhotes por ninhada, o que leva a classificar a maioria dos xenartros como estrategistas K. Porém os tatus do gênero *Dasypus* são mais relacionados ao tipo estrategistas R, devido aos fenômenos da poliembrião e ao grande número de filhotes por ninhadas (McNab, 1985).

Das espécies viventes, os tatus são os únicos presentes em ambientes temperados, tolerando os climas mais rigorosos do sul da América do Sul e centro-sul da América do Norte, (Nowak, 1999). Por sua vez, tamanduás e preguiças arborícolas estão limitados às regiões tropicais das Américas (Nowak, 1999) Uma possível explicação para este fato seja que o grupo Cingulata possui reservas de gordura (McNab, 1985).

2.1.4. Espécies ameaçadas de extinção:

Algumas espécies da ordem Xenarthra se encontram presentes na Lista Vermelha de espécies ameaçadas de extinção (Fonseca *et al.*, 1994; IUCN – International Union of Conservation of Nature, 2006). Na família Dasypodidae, as espécies: *Priodontes maximus* (tatu canastra) que vive nos cerrados, caatinga e bordas das Mata Atlântica e Floresta Amazônica; *Chaetophractus nationi* (tatu peludo dos Andes) encontrado nas costas do pacífico sul vindo até os Andes entre Argentina e Chile; *Tolypeutes tricinctus* (tatu bola da caatinga) que vive exclusivamente na caatinga e *Dasypus pilosus* (tatu-galinha peludo) que vive na região amazônica, recebem o “status” de vulneráveis. As espécies *Cabassous chacoensis* (tatu de rabo mole) presente nas planícies pantaneiras entre o Brasil e o Paraguai; *Chlamyphorus retusus* (pichiego maior) do sudoeste da Bolívia até a região central da Argentina; *Chlamyphorus truncatus* (pichiego menor) encontrado nas planícies argentinas e uruguaias; *Tolypeutes matacus* (tatu-bola) que vive nas planícies centrais da América do Sul até a região de Bueno Aires – Argentina e *Zaedyus pichiy* (tatu pichi) encontrado na região central da América do Sul vindo da costa oeste do Atlântico até os Andes, são considerados espécies ameaçadas de extinção. Da família Bradypodidae, a espécie *Bradypus torquatus* (preguiça de coleira) presente na mata atlântica litorânea indo dos estados da Bahia ao Rio de Janeiro está sob risco de extinção e a espécie *Bradypus pigmaeus* (preguiça de três dedos anã) presente somente na Ilha de Boca del Toro, Panamá é criticamente ameaçada de extinção. Da família Myrmecophagidae a espécie vulnerável é a *Myrmecophaga trydactyla* que vai do sul do México ao noroeste da Argentina.

2.1.5. Doenças e parasitoses:

Como qualquer espécie animal, os xenartros são susceptíveis a inúmeras doenças. Assim como em qualquer animal de vida livre, são hospedeiros intermediários de alguns agentes patogênicos humanos.

Os xenartros de maneira geral são também hospedeiros de alguns protozoários hemoflagelados como, *Leishmania sp.* (protozoário causador da leishmaniose, doença que se caracteriza pelo grande poder de ocasionar lesões viscerais e cutâneas) *Trypanosoma sp.* (protozoário causador da doença de Chagas, doença que se caracteriza pela destruição do músculo cardíaco) e *Endotrypanum sp.* (Shaw, 1985).

Os tatus são animais importantes para pesquisas biomédicas, por algumas das características citadas, que os tornam mais susceptíveis a inúmeros patógenos humanos. O tatu de nove-bandas, no momento, é um animal que serve de modelo experimental para infecção com bacilo de Hansen (*Mycobacterium leprae*). Nestes, o *M. leprae* pode proliferar e desenvolver a doença. Há estudos mostrando que 17% dos indivíduos possuem os anticorpos específicos (McDonough, 1997), pois a doença se apresenta nos mesmos da mesma maneira que a observada em humanos, com formação de hansenomas. Pelo fato do bacilo de Hansen não ser cultivável em laboratório, os tatus são usados experimentalmente para multiplicação desse patógeno, possibilitando a obtenção de material biológico para o diagnóstico e a pesquisa de vacina para a doença.

Dasyus novemcinctus e *Cabassous centralis* são hospedeiros e/ou reservatórios naturais de alguns fungos patogênicos dimórficos, como por exemplo o *Paracoccidioides brasiliensis* (agente etiológico da Paracoccidioidomicose ou Blastomicose sul-americana, micose sistêmica, que acomete principalmente os órgãos linfáticos e pulmões), cujo isolamento ambiental é difícil, sendo o tatu a única espécie onde se consegue obter o isolamento deste fungo, facilitando o estudo de sua forma saprofítica (ambiental) (Bagagli *et al.*, 1998; Corredor *et al.*, 2004).

As preguiças são afligidas por algumas viroses como: o vírus da encefalite venezuelana, do Mayaro vírus, o vírus da febre amarela, o vírus da encefalite de Saint Louis, e o vírus de Ilheus, todos estes da classe do Togavírus; vírus Murucutu, vírus Oropouche, vírus Utinga e vírus Utiue, todos da classe Bunyavírus; vírus Anhangá, vírus Itaporanga e vírus Punta Toro da classe Phlebovírus; vírus Changuinola da classe Orbivírus e vírus Bradypus-4 de classe desconhecida (Seymour, 1985).

2.1.6. Fósseis:

Grande parte dos fósseis de Xenarthra foi encontrada na América do Sul (Engelmann, 1985). A especialização da ordem Xenarthra é posterior a separação entre África e América do Sul, no Paleoceno Superior (Bergqvist *et al.*, 2000). Os xenartros desenvolveram-se até o Plioceno em total isolamento da grande maioria dos mamíferos placentários (Bergqvist *et al.*, 2000). Durante este momento geológico, a mastofauna sul americana permaneceu separada, o que propiciou a estruturação, a adaptação e o estabelecimento de novos modelos de mamíferos, capazes de colonizar os nichos presentes neste ambiente.

Este fato tornou os xenartros, de uma maneira geral, formas genuinamente neotropicais, quando da fusão da América do Norte com a América do Sul, eles migraram para o norte, mas não conseguindo se estabelecer nesse novo continente (Bergqvist *et al.*, 2000). Um dos primeiros trabalhos descritivos de xenartros fósseis foi publicado em 1907 na Revista do Museu Paulista, pelo paleontólogo argentino Ameghino (apud Couto, 1973). Os trabalhos de Oliveira e Leonardos (1943) e Mezzalana (1964, 1966) citados também por Couto (1973), mostram a descoberta de fósseis xenartros no estado de São Paulo, Brasil.

Entre o Paleoceno e o Plioceno ocorreu a irradiação dos xenartros. Neste período, os registros fósseis mostram a formação de quase todas as formas básicas que hoje estão vivas, exceto as preguiças arborícolas (Eisenberg, 1981; Bergqvist *et al.*, 2000). Durante o Plioceno apareceram diversas formas, algumas das quais atingiram o gigantismo, como nos grupos (extintos) dos pampatérios e

gliptodontídeos (Cingulata) e os megaterídeos, nototerídeos, milodontídeos e megaloniquídeos (preguiças terrestres - Pilosa). A especialização arbórea das preguiças ocorreu no pleistoceno (Eisenberg, 1981; Bergqvist *et al.*, 2000) As famílias Bradypodidae e Megalonychidae, assim como algumas espécies da família Myrmecophagidae, apresentam adaptações morfológicas para o hábito arbóreo, como por exemplo garras e membros adaptados para escalada e locomoção em ambiente arbóreo (Eisenberg, 1981). A família Dasypodidae apresenta uma importante especialização anti-predatória, carapaça composta de osteodermo, que confere maior proteção aos indivíduos.

As formas extintas podem ser divididas em dois grupos: os pampaterídeos e os gliptodontídeos e algumas espécies de preguiças fósseis que se caracterizam por estarem restritas a ambientes tropicais e a ambientes temperados mais próximos as zonas tropicais. O outro grupo, formado pela maioria das preguiças terrícolas se caracteriza por se aventurar em ambientes mais frios. A tolerância a baixas temperaturas das preguiças deve-se a sua grande massa corporal, densa cobertura corporal e farta disponibilidade de comida, apesar de algumas preguiças megateroides terem se restringido as regiões tropicais. A sensibilidade a temperatura mais baixas dos pampaterídeos e dos gliptodontídeos indica que a combinação de alta condutibilidade e baixos níveis de metabolismo não lhes conferiu resistência ao frio, comum entre os animais de grande massa corporal (McNab, 1985).

O grupo Cingulata divide-se em três formas: os gliptodontídeos, formas extintas que possuem carapaça sem bandas móveis, de tamanho corporal variando de médio a grande, pastadores e que viveram do Eoceno ao Pleistoceno; os pampaterídeos, formas extintas com carapaça formada por bandas móveis, semelhantes aos atuais tatus sendo diferentes deles por serem pastador e de tamanho médio a grande, também viveram do Eoceno ao Pleistoceno; os dasipodídeos (tatus), formas viventes originadas no Eoceno, que se caracterizam pelo hábito onívoro-insetívoro (Edmund, 1985). Alguns, segundo Vizcaíno (2003), eram carnívoros sendo considerados predadores ativos. Esse grupo reúne a

maioria dos fósseis conhecidos, e possuindo os indivíduos mais antigos da ordem (Edmund, 1985).

A extinta ordem Paleodontia é considerada ancestral da ordem Xenarthra e seus indivíduos são morfologicamente próximos às espécies do grupo Cingulata (Patterson *et al.*, 1992).

As preguiças terrícolas eram grandes animais pastadores (gramívoras), que foram divididas em quatro famílias: Mylodontidae, Megalonychidae, Megatheriidae e Nothoteridae. Os megaterídeos foram os maiores xenartros vivos, cuja maior espécie *Megatherium americanum* chegou a ter seis metros de altura. Esta espécie é considerada o símbolo da fauna pleistocênica do Brasil, e que também teve a mais ampla distribuição geográfica dos xenartros fósseis (Cartelle, 2000).

Do final do Pleistoceno até a atualidade, o clima na região Neotropical vem sofrendo alterações, de uma tendência semi-árida e de baixa pluviosidade para um regime úmido e de boa precipitação pluvial, o que pode ter contribuído para a extinção de algumas espécies como as preguiças gigantes (megaloniquídeos, megaterídeos, milodontídeos e nototerídeos) e os tatus gigantes (pampatérios e gliptodontídeos) ou a migração para locais de clima favorável à sobrevivência (Couto, 1973).

2.2. História natural do Grupo Cingulata:

2.2.1. Características do grupo

O nome Cingulata refere-se a membros da ordem Xenarthra que têm o corpo coberto por estruturas móveis denominadas bandas ou cintas móveis. As bandas móveis são formadas por estruturas ósseas de origem dérmica, chamados de osteodermos, os quais se justapõem formando a banda ou cinta. Nos tatus, a carapaça está dividida em cinco regiões: Bandas Cefálicas e Escapulares que cobrem a cabeça e a cintura escapular (ombros) não sendo móveis; Bandas Lombares, que cobrem a região mediana do corpo, geralmente móveis e utilizadas para reconhecimento das espécies; Bandas Pélvicas/Caudais, que recobrem a cintura pélvica (região do osso da bacia) e cauda, mostrando mobilidade na região de ligação do corpo com a cauda. Essa estrutura ajuda contra a predação (Benirschke, 1968; Wetzel, 1985b; Nowak, 1999). A palavra tatu vem da língua tupi, que significa animal de couro duro (ta = duro, escama e tu = espesso) (Carvalho, 1979). As seguintes formas pertencem ao grupo Cingulata: os tatus atuais, os pampaterídeos e os gliptodontes. Os tatus atuais agrupam-se na família Dasypodidae, que possui oito gêneros, com vinte e uma espécies viventes (Wetzel, 1985b; Engelmann, 1985; Nowak, 1999).

Os tatus atuais são animais exclusivos da fauna neotropical (parte da América Central e do Sul), exceção feita para o tatu de nove bandas que foi introduzido na América do Norte entre os séculos XIX e XX. Hoje a sua distribuição geográfica vai desde o Estreito de Magalhães (Sul da Patagônia) até o Centro-Sul dos Estados Unidos (Wetzel, 1985b; Nowak, 1999).

Os tatus são seres de hábito fossorial-terrestre, sociais e crepuscular/noturno. Passam a vida construindo tocas, geralmente subterrâneas e cavando o solo à procura de alimentos (Feldhammer *et al.*, 1999). As espécies do gênero *Tolypeutes* (tatu bola) são as únicas que não cavam suas tocas,

utilizando-se de tocas já construídas de outros animais. O tatu de nove bandas constrói tocas no interior do solo e também na superfície, utilizando-se de restos de material vegetal, como palha, capim, entre outros. Os tatus mantêm-se solitários a maior parte da vida, somente se encontram com outros da mesma espécie na época do acasalamento (Benirschke, 1968). São animais territorialistas, isto é protegem sua área de vida intensamente contra a invasão de outros tatus e animais de pequeno porte. Têm seu período de maior atividade entre o final da tarde até o começo da manhã (crepuscular/noturno), mas algumas espécies também têm atividades durante o dia como o tatu canastra, o tatu de nove bandas, o tatu bola e o tatu peba.

2.2.2. Ecologia e conservação da família Dasypodidae

As formas dentro da família são bem divergentes, variando em tamanho e peso. Exemplo: tatu canastra que tem aproximadamente 1,80m de comprimento e 60Kg de peso e o pichiego menor que possui apenas 15cm de comprimento e 30g de peso, o maior e o menor dos dasipodídeos (Nowak, 1999).

A distribuição geográfica da família varia de muito ampla, como o tatu galinha ou de nove-bandas que vive da Patagônia até o Centro-Sul dos Estados Unidos, a muito restrita como, o pichiego menor que vive nas planícies argentinas e também o tatu bola da caatinga, exclusivo da caatinga brasileira (Wetzel, 1985b; Nowak, 1999).

Segundo Redford (1985a) os tatus podem ser reunidos em quatro grupos segundo o hábito alimentar: a) Carnívoro-onívoros gêneros *Zaedyus* (pichi), *Euphractus* (tatu peba) e *Chaetophractus* (tatu peludo) que se alimentam preferencialmente de pequenos vertebrados e invertebrados e algumas vezes de raízes; b) Insetívoros generalistas fossoriais gênero *Chlamyphorus* (pichiegos) alimentam-se de invertebrados que vivem no interior do solo, como minhocas, lesmas e raramente raízes; c) Insetívoros generalistas terrestres gênero *Dasypus* (tatuête, tatu galinha) que se alimentam de besouros, formigas, caracóis entre outros, vivendo na superfície do solo, raramente comendo carniça, raízes e frutas

caídas; d) Especializados em formigas/cupins que são os gêneros *Priodontes* (tatu canastra), *Cabassous* (tatu do rabo-mole) e *Tolypeutes* (tatu bola).

Alguns têm hábito fossorial restrito, como o pichiego menor, que passa a maior parte da vida sob o solo e serrapilheira, e cujo formato do corpo é semelhante ao das toupeiras. Outros têm hábito terrestre, como o tatu-canastra que passa o dia vagando pelos campos cerrados, somente cavando tocas para se proteger dos predadores e destruir cupinzeiros e/ou formigueiros (Merritt Jr, 1985).

Os tatus são importantes elos intermediários nas cadeias ou redes alimentares, pois se alimentam de pequenos seres como: insetos, minhocas e pequenos vertebrados, assim como frutas e raízes, e são alimentos para predadores de médio e grande porte como suçuaranas, onças pintadas, lobos guarás, jacarés, serpentes, cachorros do mato entre outros predadores. São responsáveis pelo equilíbrio das colônias de cupins e formigas dentro da floresta (Redford, 1985a). Também são responsáveis pela ciclagem de nutrientes do solo ao introduzir e revolver a matéria orgânica no seu interior, quando do preparo das tocas de moradia. Além disso fragmentam grandes quantidades de matéria vegetal, como as árvores caídas no solo das florestas, à procura de pequenos invertebrados no interior destas, o que aumenta a área de superfície do material e facilita a ação dos decompositores, como fungos e bactérias (Pereira-Jr, 2001).

Ainda há muito o que estudar sobre estes animais tão formidáveis, com os quais convivemos por milhares de anos. Desde que surgiram os primeiros tatus, estes sofreram poucas mudanças, o que mostra uma grande adaptação a esse estilo de vida. Isto é mais um dos motivos pelo qual devemos melhor estudá-los, para assim criarmos políticas de conservação e preservação. Os padrões de evolução e a conservação das espécies da família Dasypodidae são objetos de estudos no presente momento, sendo para isso necessário reunir todas as informações já produzidas a respeito desse grupo e pesquisar mais informações.

2.3. História natural do Grupo Folivora:

2.3.1. Características gerais

Segundo Nowak (1999) as preguiças viventes estão agrupadas em duas famílias: Megalonychidae, que inclui somente o gênero atual *Choloepus*, o qual é constituído pelas preguiças de dois dedos (para efeito de sistemática contam-se os dedos das patas dianteiras). Este possui duas espécies atuais, *Cho. didactylus* e *Cho. hoffmanni* distribuídas por toda a América Central e do Sul (Wetzel, 1985a). Bradypodidae, que também inclui um único gênero atual *Bradypus*, as preguiças de três dedos (aqui também contam-se os dedos das patas dianteiras). Este gênero se encontra na América Central e do Sul, possui quatro espécies viventes, *B. torquatus*, *B. tridactylus*, *B. variegatus* e *B. pygmaeus* (Wetzel, 1985a; Anderson e Handley Jr, 2001).

As preguiças do gênero *Choloepus* são animais de hábito folívoro-frugívoro, que estão restritas às florestas tropicais úmidas das Américas Central e do Sul, ao passo que as preguiças do gênero *Bradypus*, são animais de hábito folívoro autêntico e cuja distribuição também se dá por ecossistemas não florestais, tais como a Caatinga e o Cerrado (Queiroz, 1995). Os dois gêneros são simpátricos por toda a extensão geográfica de *Choloepus* (Wetzel, 1985a). Fonseca *et al.*. (1994) resume a distribuição geográfica das preguiças e algumas de suas características na tabela 3.

2.3.1.1. Comportamento posicional:

O comportamento posicional das preguiças é quase desconhecido, das poucas observações de animais selvagens e em cativeiro indicam que as preguiças normalmente permaneçam em comportamento suspensório invertido, durante suas atividades diárias (Mendel, 1985).

Os membros das preguiças do gênero *Choloepus* passaram por adaptações anatômicas as quais segundo Mendel (1985) podem ser classificados em três categorias: (1) modificações das mãos e dos pés em ganchos rígidos, (2) maximização da mobilidade em praticamente todas as juntas próximas aos carpos medianos e aos tarsos transversos, e (3) flexões poderosas dos membros. Ocorre também um número reduzido de dígitos, que são retos, inflexíveis e sindáctilos, e que terminam em uma grande garra formada pelas falanges. Estas características podem ser entendidas como adaptações ao comportamento arborícola, que através de uma inversão suspensória possibilita uma economia de energia e o melhor uso de suportes com até 10 cm de diâmetro (Mendel, 1985).

2.3.1.2. Pelagem

De todas as características únicas do grupo Folivora, talvez a mais espetacular seja a pelagem, pois além de sua estrutura peculiar, ela abriga várias espécies de algas que servem de alimento para larvas de mariposas. A coloração marrom, características do gênero *Bradypus* que vive em condições naturais, se deva à presença de algas nestes indivíduos desde a mais tenra idade (Britton, 1941). Análise de culturas obtidas a partir de pêlos contaminados por estas algas, mostraram que elas pertencem a quatro diferentes divisões: Chlorophyta, Chrysophyta, Cyanophyta e Rhodophyta. Também foi demonstrado que a associação preguiça/alga é benéfica para ambos, pois a alga obtém abrigo e a preguiça camuflagem (Aiello, 1985).

2.3.1.3. Dieta:

Chiarello (1998a; b) realizou estudos sobre a dieta das preguiças do gênero *Bradypus*, utilizando indivíduos da espécie *B. torquatus*, provenientes da reserva ambiental Melo Leitão, no Espírito Santo. Informações adicionais nas outras espécies são mínimas ou até mesmo inexistentes.

Em seu trabalho Chiarello (1998b) revelou detalhes sobre a dieta natural de *B. torquatus*, como o alto consumo de folhas em detrimento de flores e frutos, dado este que foi corroborado por outros autores (Nagy e Montgomery, 1980;

Wetzel, 1985a e Queiroz, 1995). A dieta é composta de 99% de folhas, com preferência por folhas novas (68%) em relação às maduras (7%) durante todo o ano, sendo preferidas às folhas de árvores (83%) em relação às folhas de liana ou cipó (16%).

2.3.2. Gestação em preguiças:

A correta separação de machos e fêmeas com base na genitália externa não é um processo difícil, pois há um dimorfismo sexual em duas espécies do gênero *Bradypus* (*B. variegatus* e *B. tridactylus*) que apresentam um espéculo amarelado com uma faixa negra central, nas costas dos machos (Wetzel e Avila-Pires, 1980).

Jorge (1981) relata que a proporção sexual em *C. hoffmanni* aponta uma prevalência numérica de fêmeas sobre os machos (cerca de 11:1) em habitat natural. Em cativeiro, a proporção muda para 1:1; fato explicado que os curadores de zoológicos adquirem um número semelhante de machos e fêmeas, com objetivo de facilitar a reprodução (Jorge *et al.*, 1977). Richard-Hansen e Taube (1997) ao estudar o comportamento sexual da espécie *B. tridactylus*, provenientes da Guiana Francesa, apontaram que, a maioria das iniciativas parece vir dos machos, durante o acasalamento. Merrit Jr (1985) relata que na espécie *C. hoffmanni* as iniciativas sexuais eram tomadas pelas fêmeas no cio. Britton (1941) descreve o amplexo na posição “cara a cara”, isso talvez possa ser exigido devido a uma posição anterior da genitália. Porém Richard-Hansen e Taube (1997) em suas observações relatam que um macho também copulou levantando sua cauda e subindo nas costas da fêmea.

Recentes revisões bibliográficas apontam para a confusão ou completa falta de dados sobre a reprodução das preguiças, inclusive sobre seu período gestacional. A tabela 4 mostra os dados levantados sobre este assunto.

2.4. História natural do Grupo Vermilingua

2.4.1 Características Gerais

Na ordem Xenarthra, os tamanduás são os únicos membros realmente desprovidos de dentes. A área de distribuição geográfica se inicia na América Central indo até região dos Pampas na América do Sul (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a). Os indivíduos deste grupo possuem cobertura corporal densa, olhos e orelhas pequenas e cauda longa, sendo que em dois dos três gêneros atuais ela também é preênsil (Nowak, 1999; Bloch *et al.*, 1976). Possuem cinco dedos nos membros, sendo que destes, três possuem grandes garras utilizadas tanto para a escavação de cupinzeiros/termiteiros, como para escalada, nos grupos de hábito arbóreo (Bloch, *et al.*, 1976).

2.4.1.1 Especialização alimentar:

Por se alimentarem exclusivamente de cupins e formigas os tamanduás apresentam alto grau de especialização anatômica e fisiológica para obtenção de alimentos (Eisenberg, 1981). O focinho é tubular estreito e comprido, terminando numa boca pequena de cerca de 20 mm de diâmetro com a maioria da musculatura facial reduzida (Naples, 1985; Naples, 1999). A língua da espécie *Myrmecophaga tridactyla* chega a ter 1,0 m de comprimento, na família as glândulas salivares são bem desenvolvidas e localizadas na região cervical, estas produzem um muco viscoso e aderente, ideal para captura de seu alimento (Naples, 1999). A ausência de dentes e a redução do aparato mastigatório, o estômago apresenta uma especialização da região muscular, que é provida de fibras rígidas e a qual se denomina dente muscular, cuja função é a trituração do alimento (Bloch *et al.*, 1976). Os membros dessa família apresentam tendências a baixo metabolismo, com conseqüência a essa adaptação alimentar (McNab, 1985).

2.4.1.2. Gestação em tamanduás:

Os tamanduás fêmeas gestam apenas um filhote por ciclo reprodutivo. Os indivíduos dessa família, assim como em Dasypodidae, são associiais, somente mantendo contato próximo nos períodos de reprodução (Shaw *et al.*, 1987). A gestação na espécie *Myrmecophaga tridactyla* dura cerca de 190 dias (Nowak, 1999; Bloch *et al.*, 1976), porém Shaw *et al.* (1987) contestam esse dado. Em seu trabalho estes autores viram sessões de corte entre machos e fêmeas, repetidas vezes no decorrer do mês janeiro e observaram que os nascimentos ocorreram de março a maio do mesmo ano, não tendo assim completado os 190 dias de gestação. Neste estudo eles propõem como possível explicação o fenômeno da implantação tardia, que ocorre na espécie *Dasypus novemcinctus* reportado por Talmage e Buchanan (1954). Desta gestação nasce somente um filhote, que é protegido pela mãe até a próxima prenhez. Na espécie *Tamandua tetradactyla* a gestação dura de 130 a 150 dias, porém estes dados são discutíveis, sendo possível que a gestação dure até 190 dias como em *M. tridactyla* (Nowak, 1999).

2.4.1.3 Relação filogenética e evolutiva entre os gêneros:

Segundo Delsuc *et al.* (2001; 2002), o agrupamento Vermilingua é monofilético, fato este sustentado pela deleção de um aminoácido do gene *BRCA1* e pelas análises do exon nuclear 28 do fator de von Willebrand (*vWF*). A partir da taxa de substituições de nucleotídeos na seqüência da região mitocondrial codificadora do porção 16S ribossomal, Barros *et al.* (2003) estabelecem o tempo de divergência e as relações de parentesco entre as espécies de Tamanduá. O gênero *Myrmecophaga* é estritamente relacionado ao gênero *Tamandua* e a separação destes dois gêneros ocorreu há 12,9 milhões de anos, enquanto que o gênero *Cyclopes* divergem dos outros gêneros há pelo menos 31,8 milhões de anos (Barros *et al.*, 2003). Estes dados moleculares corroboram os resultados encontrados por Gaudin e Branham (1998), nas suas análises morfométricas e com Patterson *et al.* (1992) em suas análises de caracteres pós-craniais.

De acordo com Wetzel (1985a) são três os gêneros viventes que compõem a família Myrmecophagidae: *Myrmecophaga*, *Tamandua* e *Cyclopes*. As espécies componentes destes gêneros serão melhor explicitados abaixo.

2.4.2 *Myrmecophaga tridactylus* (tamanduá bandeira):

Este animal tem sua distribuição geográfica entre Honduras (América Central) e o norte da Argentina (América do Sul), sendo que no Brasil sua ocorrência é do Amazonas e Planalto Central até o Cerrado e as bordas da Mata Atlântica nos Estados de São Paulo e Paraná (Wetzel, 1985a; Nowak 1999). É o maior animal vivo na ordem Xenarthra, podendo chegar a 1,20 m de comprimento cabeça-corpo, sendo acrescido de 60 a 90 cm de cauda, que é peluda e adquire o formato de uma bandeira. Pesa entre 28 a 60 Kg (Wetzel, 1985a; Nowak, 1999). O animal tem aspecto lanudo, com pêlos sedosos ou ásperos, espessos e rígidos. A coloração da pelagem é cinza levemente amarelada, tendo as laterais cobertas por pêlos negros, margeados por pêlos brancos. Os filhotes são mais claros que os adultos e mimetizam o padrão dos adultos quando estão andando grudados em suas costas (Bloch *et al.*, 1976). Os animais tem corpo achatado lateralmente e com membros relativamente curtos. No seu deslocamento pelo solo, os tamanduás bandeira dobram as unhas contra a palma das patas anteriores, encostando somente os nós das articulações no solo. As patas posteriores apresentam disposição plantígrada. As garras dos membros anteriores são mais desenvolvidas em relação às garras dos membros posteriores, uma vez que utiliza mais as garras anteriores para abrir formigueiros e cupinzeiros (Redford, 1985b, Shaw *et al.*, 1987).

Os tamanduás bandeiras são animais sociais e silenciosos, somente vocalizando quando em situações de perigo. Seu “home-range” varia de 9Km² (Shaw *et al.*, 1987) até 25Km² (Montgomery e Lubin, 1977), tendo uma densidade populacional de 1,3 tamanduás bandeiras/Km² (Shaw *et al.*, 1987). É um animal inofensivo para o homem e os outros mamíferos, somente atacando em caso de extremo perigo. Possui hábitos crepusculares a noturnos, preferindo o dia para

descansar (Shaw *et al.*, 1987; Montgomery e Lubin, 1977) Tem um calmo deslocamento pelo ambiente, mantendo o focinho em contato com o chão (Redford, 1985b). Galopam pesadamente, em caso de fuga. Gostam de ambientes aquáticos, sendo um bom nadador (Bloch *et al.*, 1976). Em ambiente natural são capazes de destruir até 100 colônias de cupins e ou formigas por hora (Montgomery e Lubin, 1977). Redford (1985b) relata uma estimativa de 35 colônias por hora. Quando da destruição das colônias, introduzem suas línguas em movimento exploratório na obtenção de alimento (Redford, 1985b). Têm como predadores naturais os grandes felinos (*Panthera onca* e *Puma concolor*). Em cativeiro, se apresenta como um animal tímido e pacífico, tendo por alimentação uma “sopa” que contém leite, ovos, ração de cavalo, terra de formigueiro ou cupinzeiro e às vezes carne, sendo que estes alimentos são totalmente triturados (Informação obtida no Zoológico de Sorocaba e no Zoológico de São Paulo). Gostam do contato físico com os seres humanos (Bloch *et al.*, 1976).

2.4.3 *Tamandua tetradactyla* (Tamanduá-colete ou tamanduá-mirim):

Esta espécie vive em florestas, savanas e cerrados desde o leste das Cordilheiras dos Andes até Venezuela e Trinidad e do norte da Argentina e sudeste do Brasil, sendo muito comum no Brasil (Wetzel, 1985a; Nowak, 1999). O tamanduá mirim possui pelagem dourada e negra, sendo que esta última se dispõe na forma de um “colete” (Nowak, 1999; Eisenberg, 1989). Na região de simpatria com a espécie *T. mexicana*, os indivíduos apresentam um alto grau de variação na conformação do colete. Indo de coletes bem formados, que se tornam menos diferenciados até a sua completa perda (figura 5), os animais podem ser melanísticos ou não (Wetzel, 1975). Seu tamanho varia de 47cm a 77cm cabeça-corpo e mais 40,2 a 67,2cm de cauda, que em sua maioria é nua, por ser preênsil (Nowak, 1999). Pesa entre 3,4 e 7Kg (Eisenberg, 1989). Esta espécie possui hábitos tanto noturnos como diurnos, preferindo o dia para descansar normalmente alojado em buracos nas árvores, assim como hábito terrícola como

arborícola, preferindo o segundo (Nowak, 1999; Wetzel, 1985a). Seu “home-range” têm aproximadamente 3,75Km² (Montgomery, 1985). Quando em situação de ataque, o tamanduá de colete fica apoiado num tripé, formado pelas patas traseiras e pela cauda. Golpeando com as garras dos membros anteriores e expelindo um odor fétido (Bloch *et al.*, 1976; Nowak, 1999). Wetzel (1975) ao analisar exemplares de Museu das espécies *Tamandua tetradactyla* e *Tamandua longicaudata*, propõe a fusão destas duas espécies, pois seus exemplares não mostravam diferenças morfológicas significativas para justificar tal separação. Hsu (1965) analisou a espécie *T. tetradactyla* e Jorge *et al.* (1977) analisou a espécie *T. longicaudata* e ambos encontraram a mesma constituição cariotípica para as duas espécies. Estes dados corroboram a proposição de Wetzel (1975), sendo que atualmente considera-se *T. longicaudata* como sinônimo de *T. tetradactyla*.

2.4.4 *Tamandua mexicana* (tamanduá colete, tamanduá mirim):

Esta espécie está distribuída do sul do México até a região peruana das Cordilheiras dos Andes (Eisenberg, 1989). Esta espécie é menor em relação *T. tetradactyla*, tendo tamanho aproximado de 56 cm de cabeça – corpo e mais 54 cm de cauda, e pesando entre 3,2 a 5,4 Kg (Eisenberg, 1989). O caráter distintivo entre as duas espécies do gênero *Tamandua* é a quantidade de forames infra-orbitais. A espécie *T. mexicana* possui quatro: forame óptico, fissura orbital, forame rotundum e forame ovalado, enquanto que na espécie *T. tetradactyla* a fissura orbital e o forame rotundum estão fundidos, possui três forames (Wetzel, 1975). Sua biologia é muito próxima a de sua espécie irmã *T. tetradactyla*, a qual foi explanado no item anterior.

2.4.5 *Cyclopes didactylus* (Tamanduáí ou tamanduá pigmeu):

A espécie *C. didactylus* é a menor dentre os tamanduás conhecidos, seu tamanho corporal varia de 15 a 17 cm, acrescido de 18 a 20 cm de cauda, que apresenta uma especialização preênsil nos dois terços finais (Eisenberg, 1989, Nowak, 1999). A pelagem é fina amarronzada dorsalmente e acinzentada na região ventral, por isso recebendo o nome em inglês de “silky anteater”, tamanduá sedoso. O focinho desta espécie é o menor em relação ao tamanho corporal (Eisenberg, 1989; Nowak, 1999; Naples, 1999). O reduzido tamanho e a cauda preênsil favoreceram que esta espécie apresente a maior especialização para a vida arbórea, sendo raras suas incursões ao solo (Eisenberg, 1989). A área de distribuição geográfica vai do sudeste do México até a Floresta Amazônica no Brasil e também ocorrendo em fragmentos de Mata Atlântica litorânea localizada em alguns estados da região Nordeste do Brasil (Eisenberg, 1989; Bloch *et al.*, 1976). Assim como as outras espécies da família, o *C. didactylus* também apresenta hábitos sociais, exceto no período de acasalamento. São animais de hábitos vespertinos/noturnos, ficam escondidos em ninhos nas copas das árvores durante o dia (Eisenberg, 1989; Nowak, 1999; Bloch *et al.*, 1976).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiello, A. Sloth Hair: Unanswered Questions p. 213 – 218. In: Montgomery, G. G. (Ed). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Amrine-Madsen H., Koepfli K.P., Wayne R.K., e Springer M.S. A new phylogenetic marker, apolipoprotein B, provides compelling evidence for eutherian relationships. **Mol. Phylogenet. Evol.** v. 28, p.225-240, 2003.
- Arnason, U., Gullberg, A. e Janke, A. Phylogenetic analyses of mitochondrial DNA suggest a sister group relationship between Xenarthra (Edentata) and ferungulates. **Mol. Biol. Evol.** V. 14, nº 7, p. 762-768, 1997.
- Anderson, R.P. e Handley Jr., C.O. Dwarfism in insular sloths:biogeography, selection, and evolutionary rate. **Evolution**, v. 56 , nº 5, p. 1045-1058, 2002.
- Anderson, R.P. e Handley Jr., C.O. A new species of three-toed sloth (Mammalia: Xenarthra) from Panamá, with a review of the genus *Bradypus*. **Proceedings of the biological society of Washington**, v. 114, nº 1, p. 1-33, 2001.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. e Saunders, N.C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between populations genetics and systematics. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** v.18, p-489-522, 1987.
- Bagagli, E., Sano, A., Coelho, K.I.R *et al.*. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasybus novemcinctus*) captures in na endemic area of paracoccidioidomycosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 58, nº 4, p. 505-512, 1998
- Baker, C.S. e Palumbi, S.R. Population structure, molecular systematic, and forensic identification of whales and dolphins. In: Avise, J.C. e Hamrick, J.L. (Eds) **Conservation Genetics – Case histories from nature**. 512p. 1996.
- Barros, M.C., Sampaio, I. e Schneider, H. Phylogenetics analysis of 16S mitochondrial DNA data in sloths nad anteaters. **Genetics and Molecular Biology**. v. 26, nº 1, p. 5-12, 2003.
- Barroso, C.M.L. e Seunánez, H. Chromosome studies on *Dasybus*, *Euphractus* and *Cabassous* genera (Edentata: Dasypodidae). **Cytobios**. v. 68, p. 179-196, 1991.
- Beebe, W. (1926) The Three-toed Solth *Bradypus cuculliger cuculliger*. In: Richard-Hansen, C.; Taube, E. Note on the Reproductive Behaviour of the Three - Toed Sloth, *Bradypus tridactylus*, in French Guiana. **Mammalia**, v. 61, n. 2, p. 259 - 263, 1997.

- Benirschke, K., M. M. Sullivan, e M. Marín-Padilla. Size and number of umbilical vessels. A study of multiple pregnancy in man and the armadillo. **Obstet. Gynecol.** v.24, p. 819-834, 1964.
- Benirschke, K. Why armadillos? **Animal Models for Biomedical Research.** v. 4, p. 45-54, 1968.
- Benirschke, K., e Wurster, D.H. The chromossomes of the giant armadillo, *Priodontes giganteus* Geoffroy. **Acta Zool. Path. Antwerp.**, v. 49, p. 125-130, 1969.
- Benirschke, K., Low, R.J., e Ferm, V.H. Cytogenetic studies of some armadillos. In: **Comparative mammalian cytogenetics**, Springer-Verlga, New York, 1969.
- Bergqvist, L.P., Abuhid, V.S. e del Giudice, G.M. Cap. 32 Mamíferos. In: **Paleontologia.** Editora Interciência, Rio de Janeiro, 2000. p. 595-623.
- Bloch, A., Sigelmann, O.B., Kapeller, P.J., Alves, N., Hazan, I.E., Filho, M.M., Niskier, A., Ghivelder, Z., Martins, L., Moojen, J., Welman, D. e Reis, J. Os desdentados. In: **Os animais**, v. 3, Bloch ed., Rio de janeiro, 1976, 1220p.
- Britton, S. W. Form and Function in the Sloth. **The Quarterly Review of Biology**, v. 16, p. 13 - 34, 1941.
- Cabrera, A. Catálogo de los mamíferos de América del sur. **Rev. Mus. Ar. Cien.** Serie Ciencias Biológicas Bernardino Rivardia, v. 4, nº 1, 1957.
- Cartelle, C. Preguiças terrícolas, essas desconhecidas. **Ciência Hoje**, v. 27, p. 18-25, 2000.
- Carvalho, C.T. **Dicionário dos mamíferos do Brasil 2ª ed.** Editora Nobel, São Paulo, 1979. 135p.
- Chiarello, A.G. Activity budgets and ranging patterns of the Atlantic Forest maned sloth *Bardypus torquatus* (Xenarthra: Bradypodidae). **J. Zool. Lond.** v. 246, 1998a, p. 1-10.
- Chiarello, A.G. Diet of the Atlantic forest maned sloth *Bradypus Torquatus* (Xenarthra: Bradypodidae). **J. Zool. Lond.** v. 246, 1998b, p. 11-15.
- Couto, C.P. Edentados Fósseis de São Paulo. **Anais da Academia de Ciências**, 45, nº 2, p. 261-275, 1973.

Corredor, G. G., Peralta, L. A., Castaño, J. H., Zuluaga, J. S., Henao, B., Arango, M., Tabares, A. M. R., Matute, D. G., McEwen, J. G. e Restrepo, A. The naked-tailed armadillo *Cabassous centralis* (Miller 1899): a new host to *Paracoccidioides brasiliensis*. Molecular identification of the isolate. **Medical Mycology** August 2004

Cuvier, G. **Tableau élémentaire de l'histoire naturelle des animaux**. Paris, 1798. p. 1-710

De Jong, W. W.; Zweers, A.; Joysey, K. A.; Gleaves, J. T.; Boulter, D. Protein Sequence Analysis Applied to Xenarthran and Pholidote Phylogeny. p. 65-76. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985. 451p.

Delsuc, F., Vizcaíno, S.F. e Douzery, E.J.P. Influence of Tertiary paleoenvironmental changes on the diversification of South American mammals: a relaxed molecular clock study within xenarthrans. **BMC Evolutionary Biology**, v. 4, 2004. Extraído de <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/4/11>, em outubro de 2004.

Delsuc, F., Stanhope, M.J. e Douzery, E.J.P. Molecular systematic of armadillos (*Xenarthra*, *Dasypodidae*): contribution of maximum likelihood and Bayesian analyses of mitochondrial and nuclear genes. **Mol. Phylog. Evol.**, v. 28, nº 10, p. 261-275, 2003.

Delsuc, F., Scally, M., Madsen, O., Stanhope, M.J., Jong, W.W., Catzeflis, F.M., Springer, M.S. e Douzery, E.J.P. Molecular phylogeny of living xenarthrans and the impact of character and taxon sampling on the placental tree rooting **Mol. Biol. Evol.**, v. 19, nº 10, p. 1656-1671, 2002.

Delsuc, F., Catzeflis, F.M., Stanhope, M.J. e Douzery, E.J.P. The evolution of armadillos, anteaters and sloths depicted by nuclear and mitochondrial phylogenies: implications for the status of the enigmatic fossil *Eurotamandua*. **Proc. R. Soc. Lond.**, 268, p. 1605-1615, 2001.

Edmund, G. The fossil giant armadillos of North America (*Pampatheriinae*, *Xenarthra*=*Edentata*), 83-93. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451p.

Eizirik E, Murphy W.J, O'Brien S.J: Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation. **J. Hered.**, v. 92, p. 212-219, 2001.

Eisenberg, J.F. The Edentata. In: **The Mammalian Radiations**. The Univ. of Chicago Press, London, 1981. p. 42-56.

- Eisenberg, J.F. Cap. 3 Order Xenarthra (Edentata). In: **Mammal of the Neotropics – The Northern Neotopics V. 1.** The Univ. of Chicago Press, London, 1989. p. 50-67.
- Eisenberg, J.F., Maliniak, E. Maintenance and Reproduction of the Two-toed Sloth *Choloepus didactylus* in Captivity. p. 327 – 331. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas.** Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985. 451p.
- Eisenberg, J.F. e Redford, K.H. **Mammals of the Neotropics, v.3 – The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil.** The University of Chicago Press, Chicago. 1999
- Engelmann, G.F. The phylogeny of the Xenarthra, 51-64. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas,** Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451p.
- Feldhamer, G.A., Drickamer, L.C., Vessey, S.H. e Merritt. J.F. **Mammalogy: adaptation, diversity, and ecology.** The McGraw-hill Companies, Inc, p.1-563, 1999.
- Fonseca, G.A.B., Rylands, A.B., Costa, C.M.R., Machado, R.B. e Leite, Y.L.R. **Livro vermelho dos mamíferos brasileiros Ameaçados de Extinção.** Fund. BIODIVERSITAS, Belo Horizonte, 1994. 479 p.
- Galbreath, G.J. The evolution of monozygotic polyembryony in *Dasypus*, 243-5. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas,** Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Gardner, A. L. Order Cingulata. Vol 1:94-99, *in*: **Mammal Species of the World, Third Edition** (D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds.). Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2005a, 2141 pp.
- Gardner, A. L. Order Pilosa. Vol 1:100-103, *in*: **Mammal Species of the World, Third Edition** (D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds.). Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2005b. 2141 pp.
- Gaudin, T.J. e Branham, D.G. The phylogeny of the Myrmecophagidae (Mammalia, Xenarthra, Vermilingua) and relationship of *Eurotamandua* to the Vermilingua. **Journal of Mammalian Evolution.** v. 5, n° 3, p. 237-265, 1998.
- Glass, B.P. History of classification and nomenclatura in Xenarthra (Edentata), 1-3. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos,**

- sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Gonçalves, A.M.P.M. **As preguiças urbanas de Teófilo Otoni – aspectos citogenéticos e ecológicos**. Belo Horizonte, M.G. UFMG, 2003. 55 p. (Monografia – Bacharelado em Genética).
- Guerra, M. **Introdução a Citogenética Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1987. 142 p.
- Hoke, J. Oh, It's so Nice to Have a Sloth Aroud the House. In: Richard-Hansen, C.; Taube, E. Note on the Reproductive Behaviour of the Three-Toed Sloth, *Bradypus tridactylus*, in French Guiana. **Mammalia**, v. 61, n. 2, p. 259 - 263, 1987.
- Huxley, T. A manual of the anatomy of vertebrated animals. D. Appeton and Co. New York, 1872, 431p.
- IUCN Red List of Threatened Species2006**. extraído do site <http://www.iucnredlist.org/> em 29 de agosto 2006
- Jorge, W., Best, R.C. e Wetzel, R.M. Chromossomes studies on the silky anteater *Cyclopes didactylus* L. (Myrmecophagidae: Xenarthra, Edentata). **Caryologia**, 38, nº 3-4, p. 325-329, 1985a.
- Jorge, W., Orsi-Souza, A.T. e Best, R.C The somatic chromossomes of Xenarthra, 121-129. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985b. 451 p.
- Jorge, W. Estudos cromossômicos em algumas espécies da ordem Edentata. **Tese, Unesp**, SP-Brasil, 1981.
- Jorge, W., Meritt, D.A. e Bernirschke, K. Chromossomes studies in Edentata. **Cytobios**, v. 18, p. 157-172, 1977.
- Layne J.N. e Waggener A.M.Jr. Above-ground nests of the nine banded armadillo in Florida. **Florida Field Naturalist**, v. 12, p. 58-61, 1984.
- McDonough, C. M. Pairing behavior of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). **Am. Midl. Nat.** v. 138, p. 290-298, 1997.
- McNab, B.K Energetics, population biology, and distribution os xenarthras, living and extinct, 219-235 In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.

- Mendel, F. C. Adaptations for Suspensory Behavior in the Limbs of Two - Toed Sloths. p. 151 – 162. In: Montgomery, G. G. (Ed). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985. 451p.
- Meritt JR, D. A. The Two toed Hoffmann's Sloth, *Choloepus Hoffmanni* Peters. p. 333 - 341. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985. 451p.
- Mezzalira, S. Novas ocorrências de vegetais fósseis cenozóicos no Estado de São Paulo. **IGG [Instituto Geográfico e Geológico], São Paulo** v. 15, p. 73-94, 1964.
- Mezzalira, S. Os fósseis do Estado de São Paulo. São Paulo, **Instituto Geográfico e Geológico, Boletim** v. 45, p. 1-132, 1966.
- Montgomery, G.G. Moviments, foraging and food habits of the four extant species of neotropical vermilinguas (Mammalia: Myrmecophagidae), 219-232. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Montgomery, G.G. e Sunquist, M.E. Habitat selection and use by two-toed and three-toed sloths, 329-359. In: **The ecology of arboreal folivores**, Smithsonian Institution Press, Washington. 1978.
- Montgomery, G. G.; Sunquist, M. E. Impact of the Sloths on Neotropical Forest Energy Flow and Nutrient Cycling. In: Goley, F. B.; Medina E. (Ed). **Tropical Ecological Systems, Trends in Terrestrial and Aquatic research**. Berlim: Springer-Verlag, p. 69–99, 1975.
- Montgomery, G.G. e Lubin, Y.D. Prey influences on movements of Neotropical anteaters, p. 103-131. In: **Proceedings of the 1975 predator symposium**, Montana Forest and Conservation Experiment station, Missoula, Montana. 1977.
- Murphy, W.J.; Eizirik, E.; O'Brien, S.J. Madsen, O.; Scally, M.; Douady, S.J.; Teeling, E.; Ryder, O.A.; Stanhope, M.J De Jong, W.W.; Springer M.S., Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics. **Science** v.294, p. 2348-51, 2001a.

- Murphy, W.J.; Eizirik, E.; Johnson, W.E.; Zhang, Y.P., Ryder, O. A. e O'Brien, S.J. Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals. **Nature** v.409, p. 614-18, 2001b.
- Nagy, K.A. e Montgomery, G.G. Field Metabolic Rate, Water Flux, and Food Consumption in Three-Toed Sloths (*Bradypus variegatus*). **Journal of Mammalogy**, V. 61, n°. 3, p. 465-472, 1980
- Naples, V.L. The superficial facial musculature of the sloths and anteaters. 173-189. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Naples, V.L. Morphology, evolution and function of feeding in the giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **J. Zool. Lond.** V. 249, p. 19-41, 1999.
- Nowak, R.M. **Walker's mammals of the world Sixth edition**, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 1999. p. 147-168.
- Oliveira, A. I.; Leonardos, O. H. **Geologia do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1943.
- Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., McMillan, W.O., Stice, L. e Grabowski, G. **The simple fool's guide to PCR, version 2.0**. Dept. of Zoology, University of Hawaii, Honolulu, 1991.
- Patterson, B., Segall, W. Turnbull, W.D. e Gaudin, T.J. The ear region in xenarthrans (=Edentata: Mammalia) part II. Pilosa (sloths, anteaters), Paleanodonts, and a Miscellany. **Fieldiana Geology New Series**, n° 24, p. 1-77, 1992.
- Pereira Jr, H.R.J. **Caítulo 4 – Uma nova espécie no gênero *Tamandua***. Botucatu, S.P.: UNESP, 2007. p. 102 - 126 (Parte da presente tese).
- Pereira Jr, H.R.J. **Ecologia do tatu de nove bandas (*Dasyus novemcinctus*) e sua correlação com o fungo patogêncio *Paracoccidiodes brasiliensis***. Botucatu, S.P.: UNESP, 2001. 40 p. (Monografia – Bacharel em Ciências Biológicas).
- Pereira Jr., H. R. J., Jorge, W. e Bagagli, E. Por que Tatu? **Ciência Hoje**, v. 199, p. 166-169, 2003.
- Pough, F.H., Heiser, J.B. e McFarland, W.N. **A vida dos vertebrados, 2ª.ed.** Editora Atheneu, São Paulo, 1999, 798p.

- Prodöhl P.A., Loughry W.J., McDonough C.M., Thompson E.A. e Avise J.C. Genetic maternity and paternity in a local population of armadillos assessed by microsatellite DNA markers and field data. **Am. Nat.**, v. 151, p.7-19, 1998.
- Queiroz, H. L. **Preguiças e Guaribas - Os Mamíferos Folívoros do Mamirauá.** Tefé: Editora Sociedade Civil Mamirauá, 1995. 161 p.
- Ramsey, P.R. e Grigsby, B.A. Protein variation in populations of *Dasypus novemcinctus* and comparisons to *D. hybridus*, *D. sabanicola* nad *Chaetophratus villosus*, 131-142 In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Redford, K.H. Food habitats of armadillo (Xenarthra:Dsyopodidae), 429-437. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985a. 451 p.
- Redford, K.H. Feeding and food preference in captive and wild giant anteaters (Myrmecophaga Tridactyla). **J. Zool.**, v. 205, p. 559-572, 1985b.
- Richard-Hansen, C.; Taube, E. Note on the Reproductive Behaviour of the Three-Toed Sloth, *Bradypus tridactylus*, in French Guiana. **Mammalia**, v. 61, n. 2, p. 259-263, 1997.
- Rocha, T. G. **Aplicações da Citogenética na preservação de animais silvestres.** Botucatu: Instituto de Biociências da UNESP, 1993. 205p. (Tese, Doutorado em Genética).
- Rose, K.D. e Emry, R.J. Relationship of Xenarthra, Pholidota and Fossil "edentates". The morphological evidence, 81-102. In: **Mammal Phylogeny: Placental**, Springer Press, New York, 1993.
- Sarich, V. M. Xenarthran Systematics: Albumin Immunological Evidence, 77-81. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas.** Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985, Washington and London, 451 p.
- Shaw, J.K. The hemoflagellates of sloths, vermilinguas (anteaters) and armadillos, 279-292 In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Shaw, J.H., Machado-Neto, J. e Carter, T.S. Behavior of free-living giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Biotropica**, v. 19, n° 3 p. 255-259, 1987.

- Shaw, J.H., Machado-Neto, J. e Carter, T.S. Ecology of the giant anteater *Myrmecophaga tridactyla* in Serra da Canastra (MG) Brazil: a pilot study, 379-384 In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Seymour, C. Sloths as hosts of arboviruses, 269-278. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Simpson, G. G. The principles of classification and a classification of mammals. **American Museum of Natural History, Bulletin**, n°. 85, p. 1-350, 1945.
- Springer, M.S., DeBry, R.W., Douady, C., Amrine, H.A., Madsen, O., de Jong, W.W., e Stanhope, M.J. Mitochondrial Versus Nuclear Gene Sequences in Deep-Level Mammalian Phylogeny Reconstruction. **Mol. Biol. Evol.** v. 18, n° 2, p.132–143, 2001.
- Storrs E.E., Walsh, G.P., Burchfield, H.P. e Binford C.H. Leprosy in the armadillo: New model for biomedical research. **Science**, v. 183, p. 851-852, 1974.
- Tamalge, R.V. e Buchanan, G.D. The armadillo (*Dasybus novemcinctus*): a review of its natural history, ecology, anatomy, and reproductive physiology. **The Rice Institute Pamphlet Monograph in Biology**. v. 41, n° 2, 1954.
- Tirler, H. (1966) A Sloth in the Family. In: Richard - Hansen, C.; Taube, E. Note on the Reproductive Behaviour of the Three - Toed Sloth, *Bradypus tridactylus*, in French Guiana. **Mammalia**, v. 61, n. 2, p. 259-263, 1997
- Vieira, C.C. Lista remissiva dos mamíferos do Brasil. **Arq. Zool.**, v. 8, p. 399-405, 1955.
- Vizcaino, S.F. e De Iuliis, G. Evidence for advanced carnivory in fossil armadillos (Mammalia: Xenarthra: Dasypodidae). **Paleobiology**. v.29, n°1, p. 123–138, 2003.
- Vizcaino, S.F. Identificación específica de las “mulitas”, género *Dasybus* L.(Mammalia, Dasypodidae), del noroeste argentino. Descripción de una nueva especie. **Mastozoología Neotropical**. v. 2, n° 1, p. 5-13, 1995.
- Waddell, P.J., Cao, Y., Hauf, J. e Hasegawa, M. Using novel phylogenetic methods to evaluate mtDNA, including amino acid-invariant sites-logDet plus sites stripping, to detect internal conflicts in the data, with special reference to the positions of hedgehog, armadillo end elephant. **Systematic Biology**. v. 48, n° 1, p. 31-53, 1999.

- Wayne, R.K. Conservation genetics in the Canidae, p. 75-118. In: Avise, J.C. e Hamrick, J.L. (Eds) **Conservation Genetics – Case histories from nature**. 512p. 1996.
- Wetzel, R.M. The species of *Tamandua* Gray (Edentata, Myrmecophagidae). **Proc. Biol. Soc. Wash.**, v. 88, p. 95-112, 1975.
- Wetzel, R.M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata), 5-21. In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985a. 451 p.
- Wetzel, R.M. Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae, 23-46. In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985b. 451 p.
- Wetzel, R. M. e Avila - Pires, F. D. Identification and Distribution of the Recent Sloths of Brazil (Edentata). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 40, p. 831-836, 1980.
- Yepes, J. Los Edentata argentinos. **Revista universitaria de Buenos Aires**. V. 2a, p. 1-50, 1928.

Tabela 1: Classificação da ordem Xenarthra segundo Wetzel (1985a;b), incluindo a espécie *Bradypus pigmaeus* Anderson e Handley (2001), *Dasyopus yepesi* Vizcaino. (1995) e “*Tamandua atlantica*” Pereira Jr. *et al.* (Capítulo 3).

Família	Gênero	Espécie	Nome popular
Myrmecophagidae	<i>Myrmecophaga</i>	<i>M. tridactylus</i> L.	Tamandua bandeira
		* <i>Tam. tetradactyla</i> L.	Tamandua colete, Tamandua mirim do sul, Melete
		* <i>Tam. atlantica</i> (Saussure)	Tamandua mirim da Mata Atlântica
Bradypodidae	<i>Cyclopes</i>	* <i>Tam. mexicana</i> (Saussure)	Tamandua mirim do norte
		* <i>Cyc. didactylus</i> L.	Tamanduaí
		<i>B. variegatus</i> (Schinz)	Preguiça de três dedos
		<i>B. tridactylus</i> L.	Preguiça-de-Bentinho, Afí
		<i>B. pygmaeus</i> (Anderson)	Preguiça pigmeu
Megalonychidae	<i>Bradypus</i>	<i>B. torquatus</i> (Desmarest)	Preguiça de coleira
		* <i>Cho. hoffmanni</i> (Peters)	Preguiça de dois dedos
		* <i>Cho. didactylus</i> L.	Unau, Preguiça real, Preguiça de dois dedos
		<i>E. sexinctus</i> L.	Tatu peludo
		<i>Z. pichiy</i> (Desmarest)	Pichi
Chaetophractas	<i>Zaedyus</i>	* <i>Cha. villosus</i> (Desmarest)	quirquinho
		* <i>Cha. Vellerosus</i> (Gray)	Tatu peludo grande
		* <i>Cha. nazioni</i> (Thomas)	Tatu peludo andino
		<i>P. maximus</i> (Kerr)	Tatu canastra
		* <i>Tol. tricinatus</i> L.	Tatu bola
		* <i>Tol. matacus</i> (Desmarest)	Tatu bola
		* <i>Chl. truncatus</i> (Burmeister)	Pichiciego menor, Clamiforo truncado
		* <i>Chl. retusus</i> (Harlan)	Pichiciego maior
		* <i>Cab. uncinatus</i> L.	Tatu de rabo mole
		* <i>Cab. centralis</i> (Miller)	Tatu de rabo mole
Dasypodidae	<i>Cabassous</i>	* <i>Cab. chacoensis</i> (Wetzel)	Tatu de rabo mole
		* <i>Cab. tatouay</i> (Desmarest)	Tatu de rabo mole
		<i>D. novemcinctus</i> L.	Tatu galinha, Tatu de nove bandas
		<i>D. septemcinctus</i> L.	Tatueté
		<i>D. hybridus</i> (Desmarest)	Mulita
		<i>D. sabanicola</i> (Mondolfi)	Tatu de savana
		<i>D. kappleri</i> (Krauss)	Tatu galinha grande
		<i>D. yepesi</i> (Vizcaino)	Tatu galinha
		<i>D. pilosus</i> (Fitzinger)	Tatu galinha peludo

* Nomenclatura diferenciada para os gêneros que possuem a inicial com a mesma letra.

Tabela 2: Espécies do gênero *Dasybus* apresentam poliembrionia e número de filhotes monozigóticos obtidos por gestação única, evento este similar aos gêmeos monozigóticos ou univitelínicos (Nowak, 1999 - modificado).

Espécies	Número de Filhotes por Prole
<i>Dasybus novemcinctus</i>	quatro
<i>Dasybus. sabanicola</i>	quatro
<i>Dasybus hybridus</i>	quatro a oito
<i>Dasybus yepesis</i>	desconhecido
<i>Dasybus pilosus</i>	desconhecido
<i>Dasybus septemcinctus</i>	quatro a doze
<i>Dasybus kapleri</i>	dois a doze

Tabela 3: Distribuição e hábitos das preguiças encontradas em território nacional, extraído de Fonseca *et al.* (1994).

Taxa	Biomos	Nome vulgar
<i>B. torquatus</i>	Mata Atlântica	Preguiça-de-coleira
<i>B. tridactylus</i>	Amazônia, Caatinga e Mata Atlântica	Preguiça-de-três-dedos
<i>B. variegatus</i>	Amazônia, Cerrado e Mata atlântica	Preguiça-de-óculos
<i>B. pygmaeus</i>	Bocas del Toro, Panamá	Preguiça-anã
<i>C. didactylus</i>	Amazônia	Preguiça real
<i>C. hoffmanni</i>	Amazônia	Preguiça real

Tabela 4 - Período gestacional segundo diversos autores para as preguiças (Gonçalves, 2003).

Espécie	Gestação em dias	Referência
<i>B. variegatus</i>	120 - 180	Eisenberg e Redford, 1999;
	150 - 180	Richard-Hansen e Taube, 1997.
	106	Hoke, 1987;
<i>B. tridactylus</i>	120 - 180	Beebe, 1926;
	180 - 210	Tirler, 1966
<i>B. torquatus</i>	Desconhecida	
<i>B. pygmaeus</i>	Desconhecida	
<i>C. hoffmanni</i>	345	Eisenberg e Maliniak, 1985;
	315	Sedgwick Country Zoo, Kansas, USA
<i>C. didactylus</i>	315	Eisenberg e Maliniak, 1985

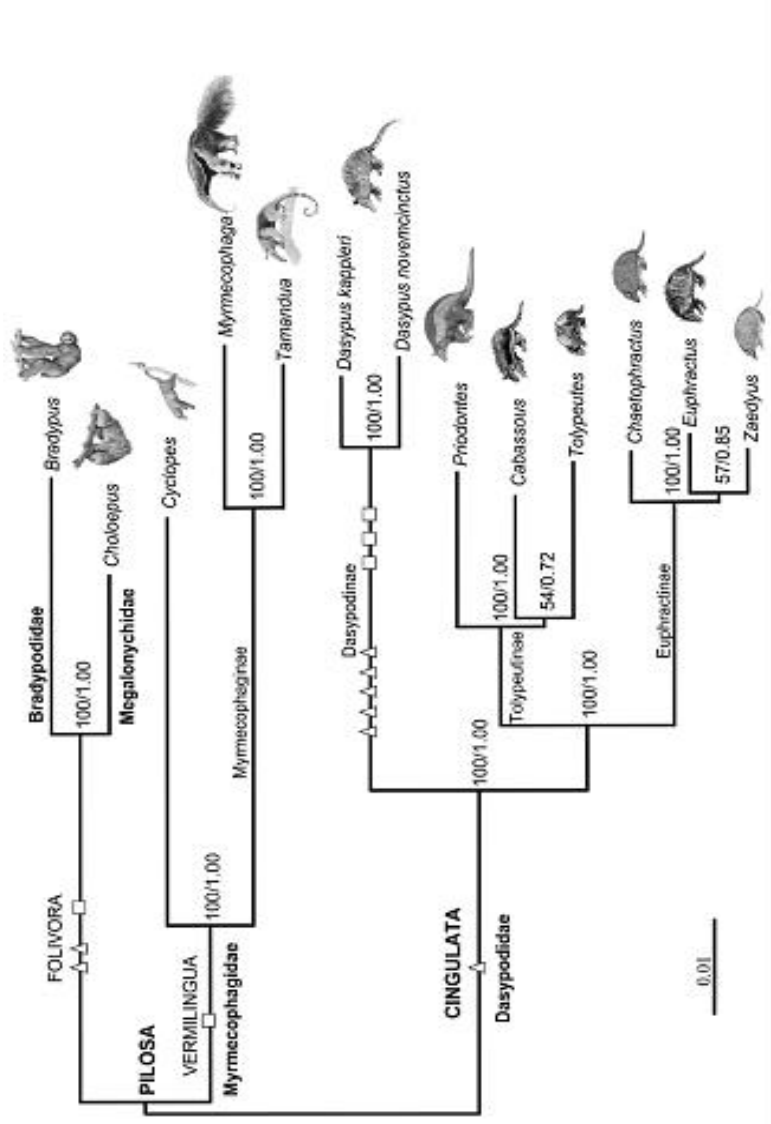


Figura 1: Relações filogenéticas dentro da ordem Xenarthra. Os triângulos mostram deleções de aminoácidos do gene *ADRA2B* e os quadrados deleções do gene *BRCA1*. Esta figura foi extraída de Delsuc *et al.*, 2002.

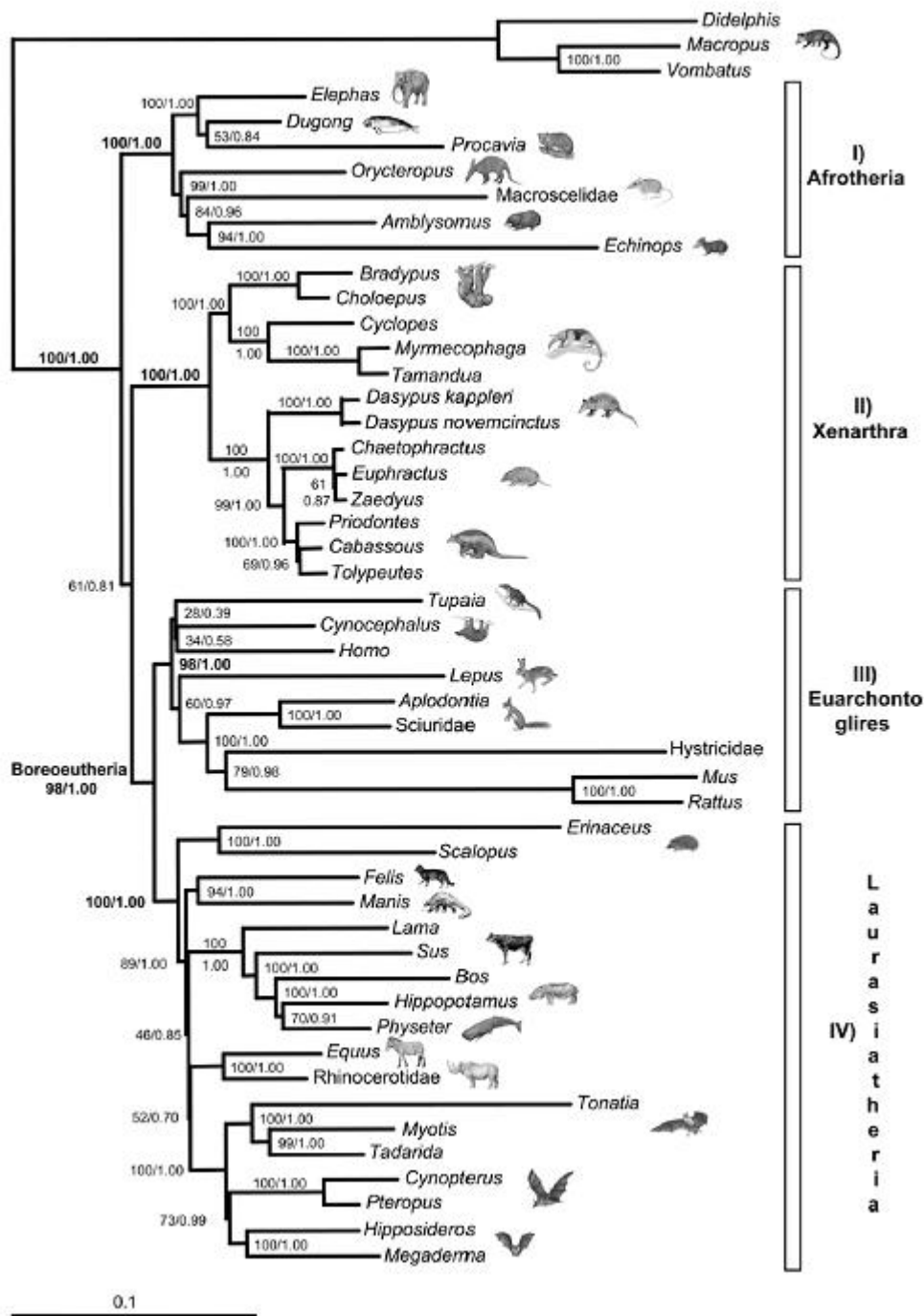


Figura 2: Filogenia da Infra-classe Eutheria e a relação da ordem Xenarthra com as outras ordens de mamíferos. A figura é resultante da hipótese de que o agrupamento Afrotheria é o grupo basal nos placentários. Esta figura foi extraída de Delsuc *et al.*, 2002.



Figura 4: Esquema comparando as vértebras de tatu e as de coelho, mostrando os processos xenártricos, característica que torna o eixo esquelético mais resistente e também dá nome à ordem Xenarthra (figura obtida do site <http://animaldiversity.ummz.umich.edu>).

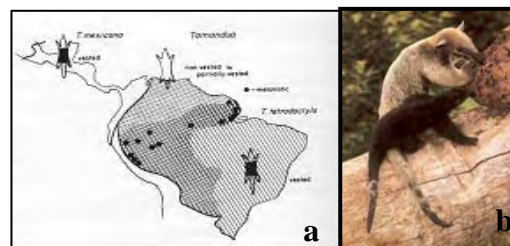


Figura 5: Distribuição geográfica das espécies do gênero *Tamandua* e a variação geográfica da pelagem (a) e fotos mostrando os tipos melanísticos e amelanísticos (b) (Wetzel, 1985a).

Capítulo 1: Chromosomal Studies in Xenarthra

Abstract

We review 80 years (1925 - 2004) of work on xenarthran cytogenetics, showing the importance of chromosomal analysis for the systematic identification of species and in making decisions about reproductive crosses in captive animals. Diploid number, sex chromosome determination, and karyotype evolution are analyzed in the sloths (families Bradypodidae and Megalonychidae), armadillos (family Dasypodidae) and anteaters (families Cyclopedidae and Myrmecophagidae).

Resumen

Se realiza una síntesis de la citogenética del Orden Xenarthra de 1925 a 2004, la que muestra la importancia del análisis cromosómico en la identificación sistemática de las especies teniendo en cuenta el manejo reproductivo y la preservación del patrimonio genético. El número diploide, la determinación cromosómica del sexo y la evolución del cariotipo son analizadas en las especies de perezosos (familias Bradypodidae y Megalonychidae) de armadillos (familia Dasypodidae) y osos hormigueros (familias Cyclopedidae y Myrmecophagidae).

Resumo

Uma revisão de 1925 a 2004 sobre a citogenética na Ordem Xenarthra é realizado, mostrando a importância da análise cromossômica na identificação sistemática das espécies tendo em vista o manejo reprodutivo e a preservação do patrimônio

genético. O número diplóide, a determinação cromossômica do sexo e a evolução do cariótipo são analisados nas espécies de preguiças (famílias Bradypodidae e Megalonychidae) de tatus (família Dasypodidae) e tamanduás (famílias Cyclopedidae e Myrmecophagidae).

Introduction

Cytogenetic studies in wild animals, especially those in danger of extinction, are valuable tools for ecologists and conservationists, who use them for sex determination in animals lacking sexual dimorphism and for surveying genetic problems such as deletions, translocations and inversions that might be attributed to the process of endogamy in small populations, resulting in reduced fertility. In addition, cytogenetic studies allow determination of possible evolutionary relationships among different groups and the separation of species within a genus. In 1969, Benirschke et al. called attention to the importance of cytogenetics for animals kept in zoos. For example, individuals of the same or related species might have different chromosomal numbers. If these animals were kept in the same enclosure and allowed to reproduce, this could jeopardize the offspring. Managing reproduction of wild animals requires correct systematic identification of species such that genetic patrimony is preserved and reproduction is not jeopardized by hybridization or other factors that can reduce population viability.

Traditional and molecular cytogenetics aid these efforts by allowing the global genetic characterization of a species.

A history of xenarthran cytogenetics

The first studies on chromosomes of the Xenarthra were done with nine-banded armadillos (Tatusia [now Dasyopus] novemcinctus) by Newman and Patterson (1910) and Newman (1912). These authors found 31 chromosomes in the spermatogonia and 32 in the oogonia. They attributed the odd number in the male to the existence of an XO/XX mechanism. Painter (1925) found 60 chromosomes in somatic cells of the same species. This discrepancy was not resolved until better techniques became available some 40 years later. In 1962, Beath et al. analyzed peripheral blood of D. novemcinctus to show this species had $2n = 64$ chromosomes. Saez et al. (1964) described Dasyopus hybridus as also having $2n = 64$ chromosomes and with 32 bivalents in the meiotic cells. The latter study further reported differences in the karyotype involving some big metacentric chromosomal pairs and small acrocentric ones between two subspecies of D. hybridus.

The year 1969 was a hallmark due to the publication of the book Comparative Mammalian Cytogenetics by Kurt Benirschke, in which five species of armadillos were analyzed (Benirschke et al. 1969): D. hybridus and D. novemcinctus (both $2n = 64$), Euphractus sexcinctus ($2n = 58$), Chaetophractus villosus ($2n = 60$) and Cabassous centralis ($2n$

= 62). Also in the same year, the remarkable contribution of Corin-Frederic documented the atypical mechanism of gender determination in the sloth Choloepus hoffmanni. Ten animals (6 females and 4 males) from the Lincoln Park Zoo had been captured at different times in Panama, Costa Rica and Ecuador. Both males and females had $2n = 49$ chromosomes. The females had an XO sex chromosome constitution in the somatic cells and males had the material from the Y translocated to an autosome. Meiotic study of males showed normal behavior of the sex chromosomes, suggesting the mechanism of sex determination was normal despite the translocation. The author proposed that females represented the extreme expression of compensation for an inactive X chromosome.

Several years later, Meritt and Benirschke (1973) described the karyotypes of Tolypeutes matacus and Zaedyus pichiy. These authors identified the three-banded armadillo, T. matacus, as the xenarthran with the lowest number of chromosomes ($2n = 38$), and drew attention to the remarkable morphological and karyotypical differences within the order. In 1977, with the advent of banding techniques, Jorge et al. analyzed the C- and G- banding patterns of E. sexcinctus, Cha. villosus, D. novemcinctus, D. hybridus and Z. pichiy. Even though the diploid numbers of these species are similar, comparison of banding patterns indicated karyotype evolution in some groups of autosomes and the X chromosome could be

explained by Robertsonian fusion and pericentric inversion. The same work also described a species of C. hoffmanni with $2n = 50$ chromosomes in both a male and female. The female presented two X chromosomes with different C-band patterns and the male possessed a supposed Y of atypical size, around 50% bigger than the first pair of autosomes. This Y chromosome also presented an atypical C- and G- banding pattern.

In 1980, Sonta et al. described the karyotype of Choloepus didactylus as $2n = 53$ chromosomes for males and females. Females presented a single X chromosome and in males the Y chromosome was translocated to autosome 21.

In 1982, Jorge described the karyotype of Chlamyphorus truncatus, a species restricted to the region of Mendoza, Argentina, as $2n = 58$ chromosomes.

Jorge et al. (1985a) analyzed 26 individuals of the families Bradypodidae (sloths) and Dasypodidae (armadillos). From these, 7 were analyzed with C- and G banding. The authors demonstrated principally that: (1) Sloths of the genus Bradypus have a Robertsonian mechanism of karyotype evolution. The existence of an additional chromosome in some males suggested two mechanisms of sex determination: one with XY (XX/XY) and the other with XYY (XX/XYY) males; (2) Sloths of the genus Choloepus presented a karyotype polymorphism with diploid numbers varying from 49 to 53 and even 64 chromosomes; females were either XO or XX, and males had the Y chromosome

translocated to an autosome; and (3) In all armadillos the sex chromosome mechanism was XX/XY. D. novemcinctus and D. hybridus demonstrated a constant $2n$ number of 64, but with differences in some chromosome pairs. The diploid number in Chl. truncatus ($2n = 58$) was quite similar to that of Euphractini species.

Barroso and Seuánez (1991) analyzed the karyotypes of species in the armadillo genera Dasypus, Euphractus and Cabassous, confirming the data of Benirschke et al. (1969) and Jorge et al. (1985a). In Dasypus they confirmed the diploid number of 64 (D. novemcinctus and D. septemcinctus), although one specimen of D. novemcinctus with $2n = 65$ (due to a supernumerary chromosome) was observed. The results showed some structural differences in karyotypes between D. septemcinctus, D. novemcinctus and D. hybridus. E. sexcinctus and C. uncinatus (tatouay?) had diploid numbers of 58 and 50 respectively, confirming the findings of Benirschke et al. (1969) and Jorge et al. (1977).

Jorge et al. (1985b) and Jorge (2000) analyzed the karyotype of the silky anteater, Cyclopes didactylus, a threatened species of the Amazonian region. This species has $2n = 64$ chromosomes and is cytogenetically distant from anteaters in the family Myrmecophagidae, underlining the remarkable differences between them.

Lastly, and most recently, Dobigny et al. (2005) used the newly developed technique of chromosome painting to analyze patterns of karyotype evolution within the three major lineages of xenarthrans. Their results indicated a relatively low rate of genomic repatterning and may provide clues to the architecture of the ancestral xenarthran karyotype (see also Delsuc and Douzery this volume).

The evolution of the karyotype in the genus Bradypus

Figure 19.1 shows the karyotypes for three of the four extant species in this genus. Further details are provided in Table 19.1. The karyotypes of two species, B. tridactylus and B. variegatus, may have resulted from a mechanism of fusion or fission. In general, fusion consists of the union of two telo/acrocentric chromosomes, making a meta/submetacentric pair, while, alternatively, fission creates a dissociation of two meta/submetacentric chromosomes into two telo/acrocentric chromosomes. It is often difficult to decide which process has occurred. Fusion could have generated the union of pairs 23 and 24 of B. variegatus, resulting in pair 25 of B. tridactylus (Figure 19.1), or fission of pair 25 of B. tridactylus could have led to the origin of pairs 23 and 24 in B. variegatus. According to Holmquist and Dancis (1980), which process actually occurs depends on the presence of

latent telomeres and on the sequence of DNA in the centromeres.

Jorge and Pinder (1990) described the karyotype of the maned sloth B. torquatus. It has the lowest chromosomal number ($2n = 50$), and is substantially different from the other species. B. torquatus is restricted to the coastline forest of Sergipe, Espirito Santo and Rio de Janeiro states (Brazil) and is in danger of extinction (Fonseca et al. 1994). Its phenotype is so different that Wetzel (1985) put the maned sloth into another genus (Scaeopus torquatus), although this has not been widely accepted. Beyond the reduction of the diploid number, structural modifications in chromosome pairs 1, 3, 6, 13 and 20 have occurred. The existence of a low number of chromosomes with a high number of structural rearrangements suggests a larger phylogenetic distance between this species and the others in the genus, possibly justifying a systematic revision of the group.

Goldschmidt et al. (1995) dyed the nuclear organizing regions (NOR) in B. variegatus and marked pair 25 (metacentric) for comparison with B. torquatus. In B. variegatus there was an intercalary localization of NORs on pair 25, while in B. torquatus they were telomeric, suggesting a fusion mechanism of chromosomal evolution.

Bradypus pygmaeus was considered a new species by Anderson and Handley (2001, 2002). This species is found on

the Isla del Escudo in Panama. The insularity of living on an island seems to have promoted a substantial reduction in body size, as has been documented for other island species. Characteristics of hair indicate similarity between animals of the island and the mainland; however, there are no cytogenetic or DNA studies yet to determine the degree of similarity.

Chromosomal determination of sex in Bradypus

Table 19.1 shows that sex determination in Bradypus is of the XX/XY kind, except for B. variegatus. In this species, Jorge et al. (1985a), Goldschmidt (1992) and Goldschmidt and Almeida (1993) found an additional chromosome ($2n = 55$) in some males, interpreted as a second Y or a supernumerary chromosome (Jorge et al. 1985a, see also Figure 19.1C).

The data for B. variegatus just described came from wild populations in Manaus and Rio de Janeiro. In a recent study, (Gonçalves et al. 2003) analyzed a population of B. variegatus located at a public square in the city of Teofilo Otoni, Minas Gerais state, Brazil. According to senior residents, sloths had been living in the area since the founding of the municipality in 1878; however, with increased urbanization they became restricted to the square. Consequently, the population became highly inbred as evidenced by the birth of albino animals, young with other sorts of anomalies, and the premature deaths of some juveniles. In a chromosomal

analysis, two kinds of sex determination were found in this population: females were XX, but males were either XY or XYY. It remains unknown how these two systems have been maintained in three very distant and distinct regions (Manaus, Rio de Janeiro, and Teofilo Otoni). Sloths occur in other public squares in Brazil (e.g., Consentino 2004), but no chromosomal analyses are available yet.

Chromosomal polymorphisms in the genus Choloepus

The phenotypes of two- and three-toed sloths might suggest the separation of the two genera in a not too distant past. However, the work of Patterson and Pascual (1968) indicates a long separation between Bradypus and Choloepus ancestors, a finding reinforced by subsequent studies (Sarich 1985, Webb 1985, Greenwood et al. 2001, Delsuc and Douzery this volume). Although there are no studies of genomic homology as yet, the two Choloepus species (C. hoffmanni and C. didactylus) also differ dramatically from one another in, among other things, geographic distribution (Wetzel 1985), hair color (Meritt 1985), size, weight, age at sexual maturity, pregnancy duration, and inter-birth intervals (Taube et al. 2001).

Karyotypically, two-toed sloths (Choloepus) are characterized by a numerical polymorphism ($2n = 51-53$, Table 19.2). Additional chromosomes with no homologous partners are

interpreted as B chromosomes; there is also female X monosomy and Y autosome translocation (Jorge et al. 1985a). The latter two mechanisms lead to an odd diploid number in both sexes (Table 19.2, Figure 19.2).

Looking in more detail at each species, in C. didactylus Sonta et al. (1980) reported females with X monosomy, while in males the Y chromosome was translocated to the small metacentric autosome number 21. The size and form of the translocated Y was very similar to that described by Corin-Frederic (1969) in C. hoffmanni, except that here autosome 23 was translocated to the Y chromosome. Jorge et al. (1977) described, with G- and C- banding techniques, individuals of C. hoffmanni with $2n = 50$ chromosomes in both sexes. In contrast to other studies, the female in this sample had two X chromosomes with different patterns of C-banding. The male had one atypical Y chromosome, with an exaggerated large size (50% bigger than the first pair of autosomes), and with a region of heterochromatin occupying more than half of the long arm. There was no evidence that the Y chromosome was the result of a translocation with an autosome.

Female monosomy (i.e., XO) may represent an extreme form of dosage compensation, with the total elimination of the inactivated X chromosome. Hayman and Martin (1974) reported this phenomenon in females from four genera of the family Peramelidae (Marsupialia). These authors and Hayman (1990)

proposed that this could be related to the mechanism of X inactivation in mammals. According to Cooper et al. (1993), X elimination has a paternal origin. For example, Johnston et al. (2002) analyzed the inactivation and reactivation of the X chromosome in Isoodon obesulus (Marsupialia: Peramelidae) and concluded that it is the paternal X that is inactivated and eliminated in this species, probably at the beginning of meiosis in females. Whether something similar has occurred in Choloepus remains unknown.

Cytogenetics of the Dasypodidae

All living armadillos are members of the family Dasypodidae (Wetzel 1985). Four subfamilies have been proposed based on ecological and molecular data (Delsuc and Douzery this volume; but see Gardner 2005); we treat each in turn below.

Dasypodinae

This subfamily contains just the genus Dasypus, which in turn contains the largest diversity of species (7) among living xenarthrans. Of these, three have been karyotyped; all exhibit $2n = 64$ chromosomes (Table 19.3). However, the apparent constancy of the diploid number hides considerable diversity in chromosome morphology (Beath et al. 1962, Saez et al. 1964, Benirschke et al. 1969, Barroso and Seuánez 1991). There are 18 pairs of big and medium acrocentric chromosomes,

where no differences are observed among species. However, differences occur in one of the two sets of big submetacentric pairs: D. hybridus has the second most metacentric pair in relation to the other species. Differences also occur in numbers of pairs. D. novemcinctus presents 6 pairs of submetacentric chromosomes (Beath et al. 1962, Benirschke et al. 1969), while D. septemcinctus has 5 submetacentric pairs (Barroso and Seuanez 1991) and D. hybridus exhibits 5 metacentric pairs (Saez et al. 1964). Additionally, D. novemcinctus has 5 pairs of small acrocentric chromosomes; D. septemcinctus and D. hybridus have 6. Finally, the X chromosome is the most metacentric one in D. septemcinctus and D. novemcinctus and the most submetacentric one in D. hybridus.

Euphractinae

The subfamily Euphractinae contains the following genera: Euphractus, Chaetophractus, and Zaedyus (see Gardner 2005 for a different view), all of which present low variation in diploid sets (58 to 62 chromosomes, Table 19.3). Despite the similarity in diploid numbers, chromosomal evolution in this group cannot be explained exclusively by the Robertsonian mechanism of translocation. This is at least partly because of evidence such as the non-correspondence of a huge number of acrocentric chromosomes in Cha. villosus and Z. pichiy with the number of metacentric and submetacentric chromosomes in E. sexcinctus, as well as differences in the fundamental numbers

of each species (Table 19.3). Pericentric inversions might be another mechanism for chromosomal reorganization in the evolution of karyotypes in this group.

Tolypeutinae

This subfamily has seven species, with major differences among the genera. For example, chromosome number exhibits the largest variation of any subfamily, from Tolypeutes matacus ($2n = 38$) to Cabassous centralis ($2n = 62$, Table 19.3). Within Cabassous, two karyotypes have been published (Table 19.3). However, two other specimens (both male) have not been classified yet, and are currently designated as Cabassous sp. (Table 19.3). The karyotype ($2n = 46$) of one of these animals is depicted in Figure 19.3.

Chlamyphorinae

This subfamily contains 2 species in the genus Chlamyphorus (note: Gardner 2005 eliminates this subfamily, placing both species - in separate genera - within the Euphractinae). The karyotype of Chl. truncatus has been described (Table 19.3), but there are few reports about the biology or cytogenetics of the other species, Chl. retusus.

Cytogenetics of the Vermilingua

Living anteaters are comprised of two families. The Myrmecophagidae contains two genera: Myrmecophaga, with only one species (the giant anteater), and Tamandua, with two species of vested anteater. A second family, Cyclopedidae,

contains one species of silky anteater (Cyclopes didactyla). Karyotypes have been published for all species (Table 19.4) and indicate minimal variation across species. The molecular phylogenies proposed by Delsuc et al. (2001, 2002) and Barros et al. (2003) indicate that Cyclopes originated earlier than Tamandua and Myrmecophaga. Therefore, its karyotype could be considered ancestral. One notable trend in the Vermilingua is reduction of the diploid set through fusion events of acrocentric chromosomes.

Cytogenetic data have been critical in describing the systematics of anteaters. Prior to 1975, 2 species of vested anteater were recognized: T. tetradactyla and T. longicaudata. Cytogenetic analyses of these two species showed identical diploid numbers ($2n = 54$, Hsu 1965, Jorge et al. 1977). These results supported data on geographical distribution and morphology obtained by Wetzel (1975) that ultimately led to these species being combined as T. tetradactyla. In 1969, Hsu and Benirschke described the karyotype of a male T. tetradactyla from Chiapas, Mexico with $2n = 54$ chromosomes. However, in 1975 Wetzel divided T. tetradactyla into two species: T. tetradactyla from northern to southern South America, and T. mexicana from central Mexico to the northern portion of South America. Thus, the individual described by Hsu and Benirschke (1969) was actually T. mexicana.

In 2004 Pereira et al. identified a new karyotype in the genus Tamandua with $2n = 56$ chromosomes (Figure 19.4). We have examined a large number of these animals genetically and morphologically. As described below, the data suggest a new species of anteater may have been found (referred to here as Tamandua sp.).

The chromosomal set of Tamandua does not present acrocentric chromosomes (except for the Y), thus standardization of the karyotype follows that of Pereira et al. (2004). Comparison of karyotypes in this genus shows that in group I T. tetradactyla presents 4 pairs of big metacentric chromosomes, T. mexicana 5 pairs, while Tamandua sp. presents only 3 (Pereira et al. 2004). Group II consists of 3 pairs of big submetacentric chromosomes in all species. Group III comprises 7 pairs of medium submetacentric chromosomes in T. tetradactyla, 11 pairs in T. mexicana, and 9 submetacentric ones in Tamandua sp. In Group IV, 7 pairs of metacentric chromosomes of medium size are found in T. mexicana, while T. tetradactyla and Tamandua sp. each possess 12 pairs. The X chromosome is a large metacentric, equivalent to the third pair of autosomes in all species. The Y chromosome is a small acrocentric. These karyotypic differences could be explained by chromosomal fusion or other processes of structural rearrangement. In Tamandua sp., the majority of the autosomes are small metacentrics, possibly originating through fusion of

acrocentric chromosomes found in the other members of the Myrmecophagidae.

In our opinion, the data described above merit revision of the genus Tamandua into three species rather than the two proposed by Wetzel (1975). Whether this taxonomic addition is ultimately approved or not, our work demonstrates that the members of this family require more studies of their taxonomy and cytogenetics.

BIBLIOGRAPHY:

Anderson, R.P. and Handley Jr., C.O. "A new species of three-toed sloth (Mammalia:Xenarthra) from Panama, with a review of the genus *Bradypus*" Proceedings of Biological Society of Washington. v.114, n°01 (2001):1-33.

Anderson, R.P. and Handley Jr., C.O. "Dwarfism in insular sloths:biogeography, selection, and evolutionary rate". Evolution. v. 56 n° 5 (2002):1045-58.

Barros, M.C., Sampaio, I. and Schneider, H. "Phylogenetics analysis of 16S mitochondrial DNA data in sloths nad anteaters." Genetics and Molecular Biology v.26 n°1 (2003): 5-12.

Barroso, C.M.L. B. Estudos cromossômicos nos gêneros *Dasypus*, *Euphractus* e *Cabassous* (Edentata - Dasypodidae) Rio de Janeiro, UFRJ, 1982. (Thesis).

Barroso, C.M.L. and Seunánez, H. "Chromossome studies on *Dasypus*, *Euphractus* and *Cabassous* genera (Edentata: Dasypodidae)." Cytobios. v.68 (1991): 179-96.

Beath, M.M., Benirschke, K., and Brownhill, L.E. "The chromosomes of nine-banded armadillo, *Dasybus novemcinctus*." Chromosoma. v.13 (1962): 27-38.

Benirschke, K., and Wurster, D.H. "The chromossomes of the giant armadillo, *Priodontes giganteus* Geoffroy." Acta Zoologica et Pathologica Antverpensia n°49 (1969): 125-30.

Benirschke, K., Low, R.J., and Ferm, V.H. "Cytogenetic studies of some armadillos." In: *Comparative mammalian cytogenetics*, edited by Benirschke, K., 330-45 New York: Springer-Verlag, 1969.

Consentino, L.N. Aspectos do comportamento da Preguiça Comum, *Bradypus variegatus* (Xenarthra, Bradypodidae) em uma área semi-cativeiro no município de Valença - Rio de Janeiro. Seropédica: UFRRJ, 2004. (Thesis).

Cooper, D.W., Johnston, P.G., Watson, J.M. and Graves, J.A.M. "X inactivation in marsupials and monotremes" Sem Devel Biol vol 4 (1993):117-28

Corin-Frederic, J. "Les formulas gonosomiques dites aberrants chez les mammifères Euterics". Chromosoma v.27 (1969):268-87.

Delsuc, F., Scally, M., Madsen, O., Stanhope, M.J., Jong, W.W., Catzeflis, F.M., Springer, M.S. and Douzery, E.J.P. "Molecular phylogeny of living xenarthrans and the impact of character and taxon sampling on the placental tree rooting." Molecular Biology Evolution v.19 n°10 (2002): 1656-1671.

Delsuc, F., Catzeflis, F.M., Stanhope, M.J. and Douzery, E.J.P. "The evolution of armadillos, anteaters and sloths depicted by nuclear and mitochondrial phylogenies: implications for the status of the enigmatic fossil Eurotamandua." Proceedings of Royal Society of London n°268 (2001): 1605-15.

Dobigny, G., Yang, F., O'Brien, P.C.M., Volobouev, V., Kovács, et al. "Low rate of genomics repatterning in Xenarthra inferred from chromosome painting data." Chromosome Research, v° 13 n° 7 (2005): 651-63.

Fonseca, G.A.B., Rylands, A.B., Costa, C.M.R., Machado, R.B., Leite, Y.L.R. Livro Vermelho dos Mamíferos Brasileiros Ameaçados de Extinção. Fundação BIODIVERSITAS, Belo Horizonte, 1994.

Gardner, A. L. Order Cingulata. v° 1:94-99, in: D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds. Mammal Species of the World, Third

- Edition Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, (2005): 2141.
- Gardner, A. L. Order Pilosa. v° 1:100-103, *in*: D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds. Mammal Species of the World, Third Edition Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, (2005b): 2141.
- Goldschmidt, B. Estudo citogenético em preguiças (*Bradypus variegatus*) Rio de Janeiro, UFRJ, 1992. (Thesis).
- Goldschmidt, B. and Almeida, J.C.C. "Cytogenetic studies in sloths (*Bradypus variegatus*)". Revista Brasileira de Genética. v.16 n°04 (1993):939-48.
- Goldschmidt, B. Almeida, J.C.C and Oliveira, V.L. "Visualization of nucleolar organizer regions in sloths (*Bradypus variegatus* and *Scaeopus torquatus*)". Revista Brasileira de Genética. v.18 (1995): 111-3.
- Gonçalves, A. As preguiças urbanas de Teófilo Otoni - Aspectos citogenéticos e Ecológicos. Belo Horizonte, UFMG, 2003. (Monography).

Greenwood, A.D., Castresana, J. Feldmaier-Fuchs, G., Pääbo, S.

"A molecular phylogeny of two extinct sloths" Molecular Phylogenetics and Evolution v.18, n°1 (2001): 94-103.

Hayman, D.L. "Marsupial cytogenetics" Australian Journal of Zoologic v.37 (1990):331-349.

Hayman, D.L. and Martin, P.G. "Mammalia 1: Monotremata and Marsupialia." In: John B. Ed. *Animal Cytogenetics 4: Chordata*. Gebruder Borntraeger, Berlin, Stuttgart, 1974

Holmquist, G. and Dancis, B.M. A general model of karyotype evolution. Genetica, v.52/53 (1980) 151-63.

Hsu T.C. "Chromosomes of two species of anteaters." Mammalian Chromosomes Newsletter v.15 (1965): 108.

Hsu T.C. and Bernirschke, K. "Tamandua tetradactyla." An Atlas of Mammalian Chromosomes v.3 (1969): 108.

Johnston, P.G., Watson, C.M., Adams, M., and Paull, D.J. "Sex chromosome elimination and reactivation in the southern brown bandicoot *Isodon obesulus* (Marsupialia:Peramelidae)" Cytogenetic and Genome Research v.99 (2002):119-24.

Jorge, W., Meritt, D.A. and Bernirschke, K. "Chromossomes studies in Edentata." Cytobios v.18 (1977): 157-72.

Jorge, W. "Chromosome study in the "Pichiciego Argentino", Chlamyphorus truncatus Harlan (Dasypodidae, Edentata)" Mammalian Chromosomes Newsletter v.23, n°03 (1982):101-7.

Jorge, W., Best, R.C. and Wetzel, R.M. "Chromossomes studies on the silky anteater Cyclopes didactylus L. (Myrmecophagidae: Xenarthra, Edentata)." Caryologia v.38 n°3-4 (1985a): 325-9.

Jorge, W., Orsi-Souza, A.T. and Best, R.C "The somatic chromossomes of Xenarthra." In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas* edited by Montgomery, G.G., 121-9 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985b.

Jorge, W. and Pinder, L. Chromosome study on the maned sloth Bradypus torquatus (Bradypodidae, Xenarthra). Cytobios, v.62 (1990):21-25.

Jorge, W. "Mitotic and meiotic chromossome studies in silky anteater Cyclopes didactylus (Myrmecophagidae: Xenarthra)." Cytobios v.101 (2000): 95-100.

Meritt, Jr. D.A. "The Two-toed Hoffman's sloth, Choloepus hoffmanni " In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas* edited by Montgomery, G.G., 429-438 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985b.1985

Meritt, D. and Benirschke, K. "The chromosomes of Zaedyus pichiy Ameghino, 1889" Mammalian Chromosomes Newsletter v.14 n° 03 (1973):108-109.

Newman, H.H. "The ovum of the nine-banded armadillo. Growth of the oocytes maturation and fertilization". Biological Bulletin v.23 (1912): 359-424

Newman, M.M. and Patterson, J.T. "The development of the nine-banded armadillo from primitive streak stage to birth with special reference to the question of specific polyembryony. Journal of Morphology v.21 (1910):359-424.

Painter, T.S. "Chromosome number in mammals" Science v. 61 (1925): 423-424.

Patterson, B. and Pascual, R. "Evolution of mammals on the southern continents. V. The Fossil mammal fauna of South America." Quaternary Review of Biology v.43, n° 4 (1968): 409-51.

Pereira Jr. H.R.J., Jorge W. and da Costa M.E.L.T. "Chromosome study of anteaters (Myrmecophagidae / Xenarthra) - Preliminary report." Genetics and Molecular Biology v.27 n°3 (2004): 391-94.

Saez, F.A., Drets, M.E. and Brum N. "Chromosomes of the mulita (Dasypus hybridus Desmarest): a mammalian edentate of South America." 163-70 In: *Mammalian cytogenetics and related problems in radiobiology*. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press, 1964.

Sarich, V.M. "Xenarthran systematics: albumin immunological evidence". 77-81 In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas* edited by Montgomery, G.G., 121-29 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985b.

Sonta, S., Hayata, I., Sasaki, M., Kondo, N. "Karyotype and sex-determining in the two-toed sloth, *Choloepus didactylus*." Chromosoma Information Service n° 28 (1980):15-7.

Taube, E., Keravec, J., Vié, J.C., Duplantier, J.M. "Reproductive biology and postnatal development in sloths, *Bradypus* and *Choloepus*: review with original data from the

field (French Guiana) and from captivity." Mammal Review v.31, n°3 (2001): 173-88.

Webb, S.D. "The interrelationships of the tree sloths and ground sloths". In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. Edited by Montgomery, G.G., 105-112 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.

Wetzel, R.M. "The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata)." In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas* edited by Montgomery, G.G., 5-21 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.

Wetzel, R.M. "The species of Tamandua Gray (Edentata, Myrmecophagidae)." Proceedings of the Biological Society of Washington v.88 n°11 (1975): 95-112.

Table 19.1.1. Characterization of species in the genus Bradypus according to diploid number (2n), fundamental number (FN), and sex chromosomes (female/male).

Species	Origin	2n	FN	Sex	References
<u>B. pygmaeus</u>	Boca del Toro, Panama	No data	No data	No data	5,6
<u>B. torquatus</u>	Reserva Poço das Antas, Rio de Janeiro	50	64	XX/XY	3
<u>B. tridactylus</u>	Island of Curari, Manaus, Amazonia	52	56	XX/XY	1,2
<u>B. variegatus</u>	Belem, Para	54	56	XX/XY,	1,2,4
				XX/XY	

Sources: (1) Jorge 1982, (2) Jorge et al. 1985a, (3) Jorge and Pinder 1990, (4) Goldschmidt and Almeida 1993, (5) Anderson and Handley 2001, (6) Anderson and Handley 2002.

Table 19.2. Characterization of the genus Choloepus according to diploid number and sex chromosomes.

Species	Origin	2n	Females	Males	Reference
<u>Choloepus</u> (no species specified)	Brazil - Amazonia and Goiania	51,52 53,64	X monosomy	No homologous partners (B-chromosomes)	4
<u>C. didactylus</u>	Japan Zoo	53	X monosomy	Translocation of Y chromosome to autosome 23	3
	Brazil - Amazonia	53	-	-	5
	Brazil - Belem	53	-	-	4
	Brazil - Manaus	52,64	-	-	4
<u>C. hofmanni</u>	Panama, Costa Rica, Ecuador	49	X monosomy	Translocation of Y chromosome to autosome 21	1
	Colombia, Panama	50	Two X chromosomes	Atypical Y chromosome	2

Sources: (1) Corin-Frederic 1969, (2) Jorge et al. 1977, (3) Sonta et al. 1980, (4) Jorge et al. 1985a, (5) Jorge unpublished data.

Table 19.3. Chromosomal features of armadillo species.

Subfamily	Species	2n	X	Y	Banding	References
Chlamyphorinae	<u>Chl. truncatus</u>	58	-	-	C and G	7
	<u>Chl. retusus</u>	-	-	-	-	No data
Dasypodinae	<u>D. hybridus</u>	64	SM	A	G	2
	<u>D. kappleri</u>	-	-	-	-	No data
	<u>D. novemcinctus</u>	64/65	SM	A	G, NOR and B chromosome	1, 4, 6
	<u>D. pilosus</u>	-	-	-	-	No data
	<u>D. sabanicola</u>	-	-	-	-	No data
	<u>D. septemcinctus</u>	63/64	SM	A	G, NOR and chromosome fusion	8
	<u>D. yepesi</u>	-	-	-	-	No data
Euphractinae	<u>Cha. nationi</u>	-	-	-	-	No data
	<u>Cha. vellorosis</u>	-	-	-	-	No data
	<u>Cha. villosus</u>	60	A	A	C and G	6
	<u>E. sexcinctus</u>	58	SM/A	SM/A	C, G and NOR	6, 8
	<u>Z. pichiy</u>	62	A	A	G	5, 6

Table 19.3. Continuous

Tolypeutinae	<u>Ca. centralis</u>	62	SM	M	-	4
	<u>Ca. chacoensis</u>	-	-	-	-	No data
	<u>Ca. tatouay</u>	50	M	A	-	8
	<u>Ca. unincinctus</u>	46	M	A	-	9
	<u>P. maximus</u>	50	SM	M	-	3
	<u>T. matacus</u>	38	M	A	-	6
	<u>T. tricinctus</u>	-	-	-	-	No data

Sources: (1), Beath et al. 1962 (2) Saez et al. 1964, (3) Benirschke and Wurster 1969, (4) Benirschke et al. 1969, (5) Meritt and Benirschke 1973, (6) Jorge et al. 1977, (7) Jorge 1982, (8) Barroso and Seuánez 1991, (9) Pereira et al. in preparation.

Note: A = acrocentric chromosome, M = metacentric chromosome, NOR = nucleolar organizing region, SM = submetacentric chromosome, SM/A = submetacentric/acrocentric chromosome.

Table 19.4. Karyotypic data for anteater species.

Species	Collection sites	Sex	2n	X	Y	References
<u>T. tetradactyla</u>	Philadelphia Zoo, U.S.A.	M	54	Third pair	Small SM	2
	Colombia	F	54	SM	No data	3
<u>T. mexicana</u>	Chiapas, Mexico	F	54	SM	Small SM	2
<u>Tamandua</u> sp.	"Fundação Zoobotânica", Minas Gerais, Brazil (found in Atlantic Rain Forest, Sao Paulo State, Brazil)	M	56	Third pair M	A	6
<u>C. didactylus</u>	Japura River, Brazil	F	64	No data	No data	4
	Manaus, Brazil	M & F	64	Third pair SM	Smallest chromosome	5
<u>M. tridactyla</u>	Herman Park Zoo, U.S.A.	F	60	No data	No data	1

Sources: (1) Hsu 1965, (2) Hsu and Benirschke 1969, (3) Jorge et al. 1977, (4) Jorge et al. 1985b, (5) Jorge 2000, (6) Pereira Jr. et al. 2004.

Note: See Table 19.3 for definitions of abbreviations.

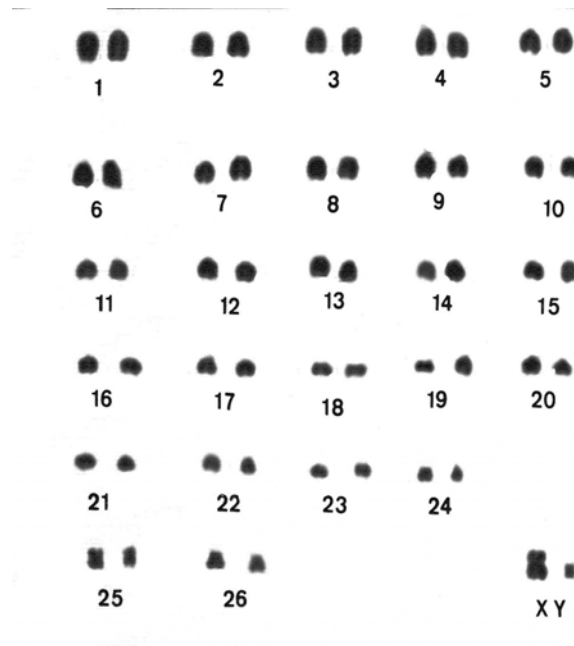


Figure 191.A

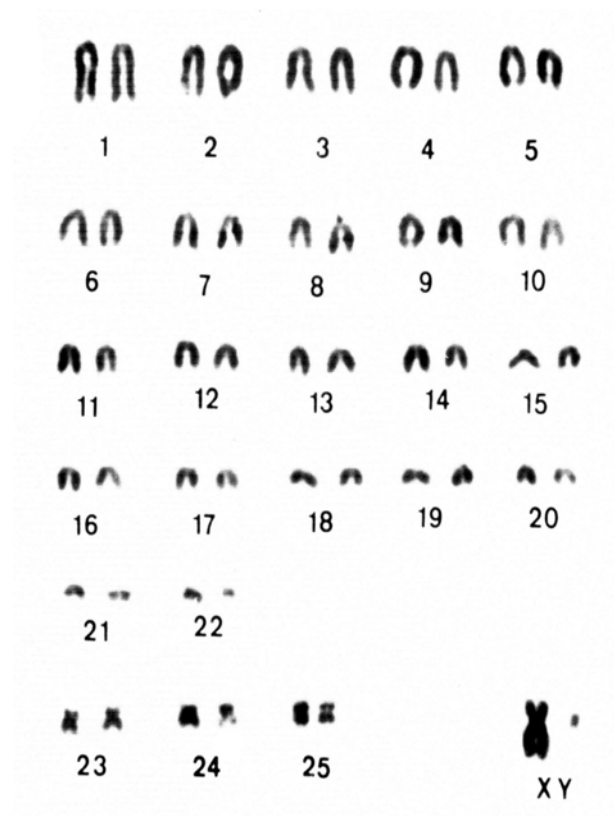


Figure 19.1B

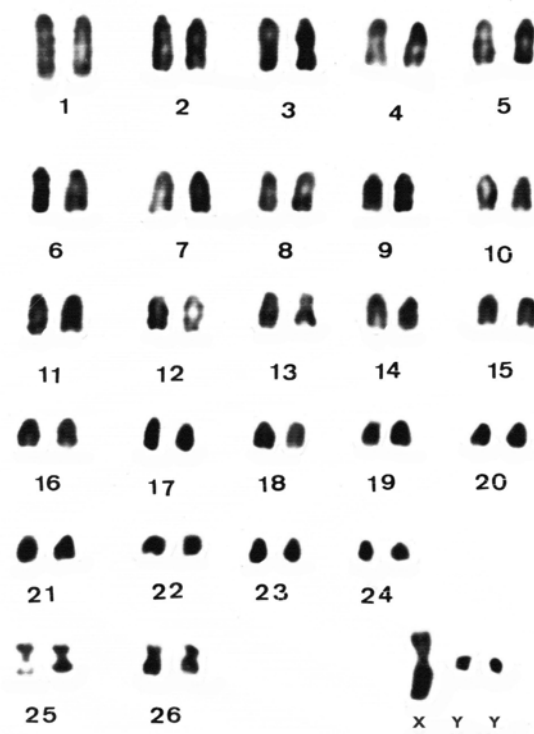


Figure 19.1C

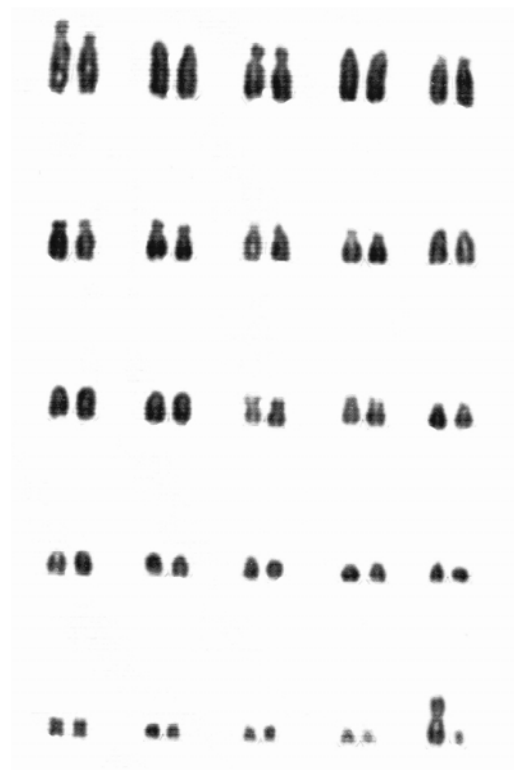


Figure 19.1D

Figure 19.1. Karyotypes of the three-toed sloths (Bradypus). A. B. variegatus. Pairs 23 and 24 may result from fission of pair 25 of B. tridactylus. B. B. tridactylus. The karyotype is very similar to B. variegatus except for the last four pairs. Pair 25 may have resulted from fusion of pairs 23 and 24 of B. variegatus. C. B. variegatus. In this specimen, $2n = 55$; the additional chromosome in some males is interpreted as a second Y (XYY). D. B. torquatus. The karyotype is substantially different from the others in the genus. Reduction of diploid number and structural modifications in pairs 1, 3, 6, 13 and 20 are observed.



Figure 19.2A

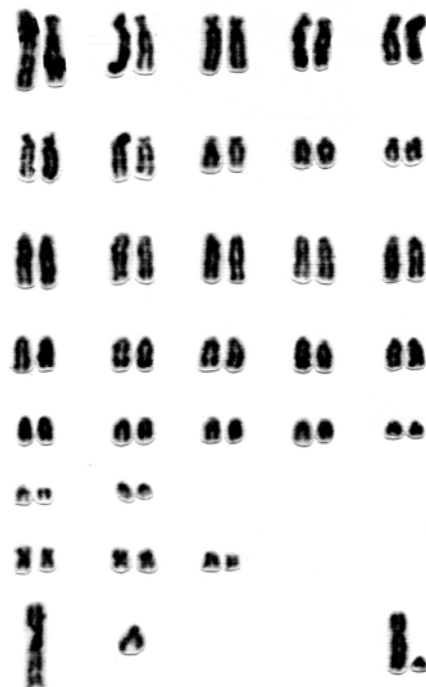


Figure 19.2 B



Figure 19.2C

Figure 19.2. Karyotypes of two-toed sloths (Choloepus). A. Female with X monosomy. B. Male with two supernumerary chromosomes. C. C-banding pattern. Notice the big supernumerary (or B chromosome) with typical banding pattern.

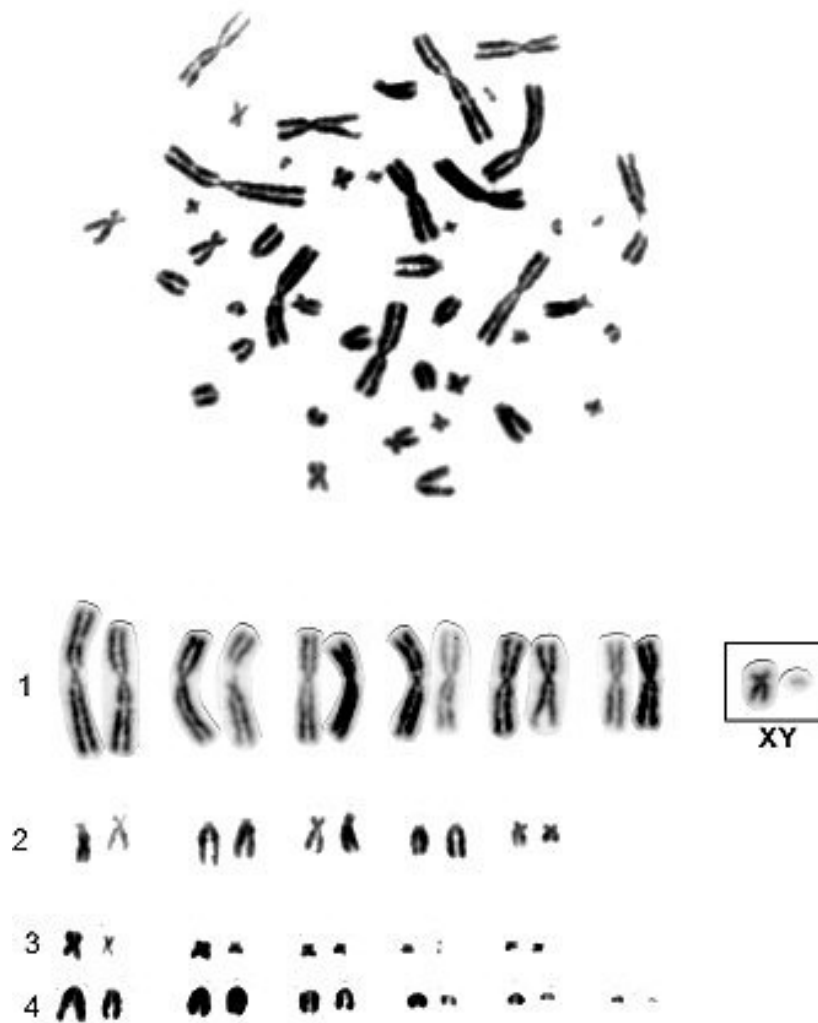


Figure 19.3. Karyotype of *Cabassous* sp. The X chromosome is a medium metacentric, and the Y chromosome is a small acrocentric.



Figure 19.4. Karyotype of Tamandua sp. The X chromosome is a large metacentric, and the Y chromosome is a small acrocentric.

Capítulo 2: Descrição do Cariótipo de *Cabassous unicinctus* e sua
origem

Resumo

Os tatus são mamíferos placentários pertencentes à Ordem Xenarthra, Família Dasypodidae, caracterizados pela presença de estruturas osteo-dérmicas formadoras de bandas de proteção anti-predação e por terem hábito fossorial, fazerem tocas no interior do solo. Esta família possui o maior número de gêneros e espécies (oito e 21 respectivamente) entre os xenartros vivos. Os tatus habitam desde o Centro-Oeste dos Estados Unidos até o sul da Patagônia. Até o momento foram analisadas 16 espécies, com variação no número cromossômico de $2n=38$ cromossomos em *Tolypeutes matacus* a $2n=64$ no gênero *Dasypus*. O gênero *Cabassous*, objeto deste estudo, possui quatro espécies: *C. centralis* com $2n=62$ cromossomos, *C. tautouy* com $2n=50$, *C. unicinctus* e *C. chacoensis* ainda não descritos. Dois indivíduos machos, adultos, da espécie *C. unicinctus* (provenientes da região de Bauru, estado de São Paulo) foram analisados. Foram obtidas amostras de sangue heparinizado. Foi utilizada cultura de linfócitos de sangue total, para obtenção de células em metáfase, que foram submetidos à coloração convencional, bandas C e Ag-NOR. Os dados cromossômicos mostraram uma discrepância com as espécies descritas na literatura. Os espécimes analisados foram mantidos em coleção científica pelo Instituto Lauro de Souza Lima, localizado em Bauru / SP. Os 46 cromossomos distribuíram-se em seis pares de grandes metacêntricos, cinco pares de médios submetacêntricos, cinco pares de médios e pequenos metacêntricos e seis pares de acrocêntricos. O cromossomo Y é o menor acrocêntrico do conjunto. O cromossomo X é um médio submetacêntrico, sendo considerado atípico para os mamíferos, pois o X em geral é um metacêntrico de tamanho grande quando comparado ao restante do cariótipo. A redução e o aumento do número diplóide de 62 para 46 cromossomos pode ser explicado por processos de fusão Robertsoniana e inversão dos cromossomos acrocêntricos ou fissão da região centromérica dos metacêntricos, uma vez que o *C. centralis* possui 23 pares de acrocêntricos, reduzindo para quatorze pares no *C. tautouy* e seis pares na espécie descrita no presente trabalho.

Introdução

Os tatus são mamíferos placentários pertencentes à Ordem Xenarthra, Família Dasypodidae (Wetzel, 1985a; Nowak, 1999). O grupo Cingulata refere-se a três famílias: Pamphtheridae (†), Gliptodontidae (†) e Dasypodidae (formas viventes e extintas) (Engelmann, 1985; Wetzel, 1985a; Nowak, 1999). A Família Dasypodidae, é composta atualmente por 21 espécies distribuídas em quatro subfamílias em oito gêneros (Wetzel, 1985b; Vizcaino, 1995, Nowak, 1999).

O que diferencia os tatus dos outros xenartros viventes (tamanduás e preguiças) é apresentarem o corpo protegido por uma carapaça (Wetzel, 1985a), formada por bandas, compostas de pequenas placas ósseas justapostas de origem dérmica (Benirschke, 1968). Essa estrutura é uma especialização anti-predatória (Benirschke, 1968; Nowak, 1999; Pereira Jr.*et al.* 2003).

As espécies atuais da família Dasypodidae são exclusivas da fauna neotropical (parte da América Central e do Sul), exceção feita para o tatu de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*) que foi introduzido na América do Norte entre os séculos XIX e XX. Hoje a sua distribuição geográfica vai desde o Estreito de Magalhães (Sul da Patagônia) até o Centro-Sul dos Estados Unidos (Wetzel, 1985b; Nowak, 1999). Os tatus são seres de hábito fossorial-terrestre, sociais e crepuscular/noturno. Passam a vida construindo tocas, geralmente subterrâneas e cavoucando o solo à procura de alimentos.

O gênero *Cabassous* é o segundo maior em número de espécies (atrás somente do gênero *Dasypus*). Possui quatro espécies (*C. tautouay*, *C. centralis*, *C. unicinctus* e *C. chacoensis*) (Wetzel, 1980). São conhecidos como tatus de rabo mole, pela pouca dispersão de osteodermos na cauda. Pertence à Tribo Tolypetinae sendo considerado grupo irmão do gênero *Tolypeutes* (Delsuc *et al.*, 2004; 2003). Este gênero possui como hábito alimentar a mirmecofagia, ou seja, se alimentam apenas de formigas e térmitas (Redford, 1985). Estão presentes deste o sudeste do México e Belize até o Uruguai/Argentina. A espécie com maior tamanho é o *C. tautoauy* com aproximadamente 50 centímetros de comprimento (Wetzel, 1980). *C. unicinctus* apresenta a maior distribuição geográfica vindo da região andina próxima a Venezuela até o sudeste do Brasil (Wetzel, 1980). *C. centralis* é a única espécie do gênero que não têm registro de ocorrência em território brasileiro (Wetzel,

1980). Segundo a IUCN (2006) a espécie *C. chacoensis* é a que necessita maior atenção, quanto a sua preservação, pois têm sua distribuição geográfica restrita a áreas alagadiças que forma o Grande Chaco.

O primeiro xenartro a ter seu cariótipo descrito foi o tatu da espécie *Dasypus novemcinctus* em 1962 por Beath *et al.* A Família Dasypodidae apresenta a maior variação cariotípica nos xenartros, a espécie *Tolypeutes matacus* com $2n = 38$ cromossomos, e as espécies do gênero *Dasypus* com $2n = 64$ cromossomos. Até o momento, 16 espécies de tatus já tiveram seu cariótipo descrito e/ou relatado (Tabela I) (Jorge & Pereira Jr capítulo 1, Redi *et al.*, 2005). O gênero *Cabassous* apresenta a maior variação cromossômica intra-genérica com *C. centralis* com o maior número diplóide ($2n=62$ cromossomos) (Benirschke *et al.*, 1969), *C. tautouay* com $2n=50$ (Barroso & Seuanez, 1991). O presente pesquisa tem por objetivo a descrição do cariótipo da espécie *Cabassous unicinctus*.

Material e Métodos

Neste trabalho dois espécimes machos de *Cabassous unicinctus* foram estudados. Os animais foram mantidos na coleção científica do Instituto de Pesquisa “Lauro de Souza Lima”, localizado no município de Bauru, estado de São Paulo, Brasil.

Todos os espécimes são oriundos da reserva natural próxima ao Instituto. Os animais foram anestesiados segundo o protocolo para felinos, pré-medicação com sulfato de atropina (0,04 ml/kg) subcutânea e anestesia com ZOLETIL (tiletamina/zolasepan) 0,2 ml/kg via intramuscular. A punção para coleta de amostra de sangue é feita pela veia subclávia.

Foram coletados 3ml de amostra sanguínea em seringa previamente heparinizada. Testou-se uma série de procedimentos, para padronização das condições de obtenção de cultura e preparação cromossômica (Pereira Jr *et al.*, 2004).

Com as melhores metáfases obtidas foram realizadas técnicas de bandamento C e Ag-NOR, pela primeira vez descrito.

Resultados e Discussão:

O primeiro trabalho de descrição cromossômica realizada neste gênero foi o de Bernischke *et al.* (1969) que descreve o conjunto cromossômico da espécie *C. centralis* com $2n=62$ cromossomos.

Barroso e Seuánez, (1991) descrevem outra espécie do gênero, no qual verificamos um problema na identificação da espécie que teve o cariótipo descrito. Inicialmente os autores descrevem a espécie como *C. uncinctus*, porém durante o decorrer do trabalho, muda para *C. tautouay*. Todavia, a tese de doutorado de Barroso (1982), o cariótipo descrito foi o da espécie *C. tautoauy* com $2n=50$ cromossomos.

No presente trabalho dois espécimes de *C. uncinctus* tiveram seu cariótipos analisados com $2n = 46$ cromossomos, sendo doze acrocêntricos, dez submetacêntricos e 24 metacêntricos. Estes foram divididos em quatro grupos: 1 – grandes metacêntricos, 2 – submetacêntricos médios e pequenos, 3 – pequenos metacêntricos e 4 – acrocêntricos. O cromossomo X é um submetacêntrico de médio porte equivalente ao sétimo par e o cromossomo Y é o menor cromossomo do conjunto cariotípico, sendo considerado puntiforme. (Figura 1)

Em oposição às outras duas espécies descritas o número de cromossomos metacêntricos é maior e o de acrocêntricos é menor (tabela II). Este fato sugere que houve um evento de formação de cromossomos metacêntricos (grupo 1) por fusão de cromossomos acrocêntricos grandes e médios, ou a fissão de metacêntricos (grupo 1) originando acrocêntricos. O cromossomo X mantém sua morfologia estável neste gênero, enquanto que o Y perde ou ganha material transformando se de cromossomo puntiforme (acrocêntrico) nas espécies *C. tautouay* e *C. uncinctus* para cromossomo metacêntrico pequeno em *C. centralis*.

Foram utilizadas duas técnicas de bandamento: C (Jorge *et al.*, 1977) e Ag-NOR (Howell e Black, 1980). Para a observação de regiões Ag-NOR, foram contadas vinte metáfases, com marcações em dois cromossomos diferentes (Figura 2), uma forte região corada num metacêntrico de tamanho médio (seta vasada) e o um terço do braço longo de um submetacêntrico de médio porte (seta cheia). Na marcação de Bandamento C (Figura 3) os cromossomos de grande e médio porte se coram bem, enquanto que os cromossomos

pequenos apresentam fraca marcação. Os dois primeiros pares de grande metacêntricos apresentam marcação centromérica e pericentromérica bem evidente, o que aponta para um processo de fusão cromossômica.

Neste trabalho fez-se a descrição do cariótipo da espécie *Cabassous unicinctus*, $2n=46$ cromossomos, incluindo Bandamentos C e Ag- NOR. Para inferir sobre o processo de evolução cromossômica em *Cabassous* há necessidade de obter os dados cromossômicos da espécie *C. chacoensis* (não descrito), bem como melhorar as preparações cromossômicas das espécies *C. tautouay* e *C. centralis* e por último obter dados filogenéticos sobre as relações no gênero *Cabassous*.

Referência Bibliográfica

- BARROSO, C.M.L. B. **Estudos cromossômicos nos gêneros *Dasybus*, *Euphractus* e *Cabassous* (Edentata - Dasypodidae)** Rio de Janeiro, UFRJ, 1982. (Tese).
- BARROSO, C.M.L. & SEUNÁNEZ, H. Chromosome studies on *Dasybus*, *Euphractus* and *Cabassous* genera (Edentata: Dasypodidae). **Cytobios.** v. 68, p. 179-196, 1991.
- BEATH, M.M., BERNISCHKE, K., & BROWNHILL, L.E. The chromosomes of nine-banded armadillo, *Dasybus novemcinctus*. **Chromosoma.** v. 13, p. 27-38, 1962.
- BENIRSCHKE, K., & WURSTER, D.H. "The chromosomes of the giant armadillo, *Priodontes giganteus* Geoffroy." **Acta Zoologica et Pathologica Antverpensis** n°49, p. 125-30, 1969.
- BENIRSCHKE, K. Why armadillos? **Animal Models for Biomedical Research.** v. 4, p. 45-54, 1968.
- BENIRSCHKE, K., LOW, R.J., & FERM, V.H. Cytogenetic studies of some armadillos. In: **Comparative mammalian cytogenetics**, Springer-Verlag, New York, 1969.
- COOK, J.A., VEGA, F.C. & MOREIRA, C.M. Cariotipo del quirquincho (*Chaetophractus nationi*). **Ecologia em Bolivia**, n° 18, p 21-27, 1991.
- DELSUC F., VIZCAÍNO S. F. & DOUZERY E. J. P. "Influence of Tertiary paleoenvironmental changes on the diversification of South American mammals: a relaxed molecular clock study within xenarthrans." **Evolutionary Biology** v.4 n°11, 2004.

- DELSUC F., STANHOPE M. J. & DOUZERY E. J. P. "Molecular systematics of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae): contribution of maximum likelihood and Bayesian analyses of mitochondrial and nuclear genes." **Molecular Phylogeny and Evolution** v° 28, p. 261-75. 2003.
- ENGELMANN, G.F. The phylogeny of Xenarthra, 51-64. In: MONTGOMERY, G. G. (Ed). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451p.
- HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. **Experiencia**, v.36, p. 1014, 1980
- IUCN **Red List of Threatened Species 2006**. extraído do site <http://www.iucnredlist.org/> em 29 de agosto 2006
- JORGE, W. & PEREIRA Jr, H.R.J. Chapter 19 - Chromosomal studies in the Xenarthra, p 217- 238. In: VIZCAINO, S. F. & LOUGHRY, W. J.eds. **The Biology of the Xenarthra**. University Press of Florida, Gainesville., in press.
- JORGE, W., ORSI-SOUZA, A.T. & BEST, R.C The somatic chromossomes of Xenarthra, 121-129. In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985b. 451 p.
- JORGE, W., MERITT, D.A. & BERNIRSCHKE, K. Chromossomes studies in Edentata. **Cytobios**, v. 18, p. 157-172, 1977.
- LIZARRALDE, M. S., BOLZAN, A. D., POLJAK, S., PIGOZZI, M. I., BUSTOS, J. & MERANI, M. S. Chromosomal localization of the telomeric (TTAGGG)*n* sequence in four species of Armadillo (Dasypodidae) from Argentina: an approach to explaining karyotype evolution in the Xenarthra. **Chromosome Research**, v.13, p 777-784, 2005.
- MERITT, D. & BENIRSCHKE, K. "The chromosomes of *Zaedyus pichiy* Ameghino, 1889" **Mammalian Chromosomes Newsletter** v.14 n° 03 p.108-109, 1973.
- NOWAK, R.M. **Walker's mammals of the world Sixth edition**, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 1999. p. 147-168.
- PEREIRA Jr, H.R.J., BAGAGLI, E & JORGE, W. Por que tatu? **Ciência Hoje**, v. 34, n. 199, p 70-73, 2003.
- PEREIRA Jr, H.R.J., JORGE, W & COSTA, M.E.L.T. Chromosome study of Anteaters (Myrmecophagidae, Xenarthra) – A preliminary report **Genetics and molecular biology**, v. 27, n. 3, p 391-394, 2004.

- REDFORD, K.H. Food habitats of armadillo (Xenarthra:Dasyopodidae), 429-437. In: Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- REDI, C. A., ZACHARIAS, H., MERANI, S., OLIVEIRA-MIRANDA, M., AGUILERA, M., ZUCCOTTI, M., GARAGNA, S. & CAPANNA, E. "Genome Sizes in Afrotheria, Xenarthra, Euarchontoglires, and Laurasiatheria". **Journal of Heredity**, v.96, n.5, 485-49, 2005.
- SAEZ, F.A., DRETS, M.E. & BRUM N. "Chromosomes of the mulita (*Dasypus hybridus* Desmarest): a mammalian edentate of South America." 163-70 In: **Mammalian cytogenetics and related problems in radiobiology**. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press, 1964.
- VIZCAÍNO, S.F. Identificación específica de las "mulitas", género *Dasypus* L. (Mammalia, Dasyopodidae), del noroeste argentino, descripción de una nueva especie. **Mastozoología Neotropical**, v 2 n 1, p 5-13, 1995.
- WETZEL, R.M. Revision of the naked-tailed armadillos, genus *Cabassous* McMurtrie. **Annals of Carnegie Museum**, v 49, artículo 20, p 323-357, 1980.
- WETZEL, R.M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata), 5-21. In: MONTGOMERY, G. G. (Ed). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985a. 451p.
- WETZEL, R.M. Taxonomy and distribution of armadillos, Dasyopodidae, 23-46. In: MONTGOMERY, G. G. (Ed). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985b. 451 p.

Tabela I: Dados cromossômicos de todas as espécies de tatus: número diplóide (2n), morfologia dos cromossomos sexuais (X e Y), bandamento realizados, e referências bibliográficas. As abreviaturas A, SM, M, C, G e NOR significam respectivamente, cromossomos acrocêntricos submetacêntricos, metacêntricos, bandamento C, bandamento G e Bandamento Ag-NOR.

TRIBO	ESPÉCIE	2N	X	Y	BANDAMENTO	REFERÊNCIAS
Chlamyphorinae	<u>Chl. truncatus</u>	58	-	-	C e G	JORGE <i>et al.</i> , 1985
	<u>Chl. retusus</u>	-	-	-	-	Não Analisado
Dasypodinae	<u>D. hybridus</u>	64	SM	A	G	SAEZ <i>et al.</i> , 1964
	<u>D. kappleri</u>	64	-	-	-	REDI <i>et al.</i> , 2005
	<u>D. novemcinctus</u>	64/65	SM	A	G, NOR	BEATH <i>et al.</i> , 1962, BENIRSCHKE <i>et al.</i> , 1969, JORGE <i>et al.</i> , 1977
	<u>D. pilosus</u>	64	-	-	-	REDI <i>et al.</i> , 2005
	<u>D. sabanicola</u>	64	-	-	-	REDI <i>et al.</i> , 2005
	<u>D. septemcinctus</u>	63/64	SM	A	G, NOR	BARROSO e SEUÁNEZ 1991
	<u>D. yepesi</u>	-	-	-	-	Não Analisado
Euphractinae	<u>Cha. nationi</u>	62	SM-	A	-	COOK <i>et al.</i> , 1991
	<u>Cha. vellorosus</u>	62	M	A	-	LIZARRALDE <i>et al.</i> , 2005
	<u>Cha. villosus</u>	60	A	A	C e G	JORGE <i>et al.</i> , 1977
	<u>E. sextcinctus</u>	58	SM/ A	SM/A	C, G e NOR	JORGE <i>et al.</i> , 1977, BARROSO e SEUÁNEZ 1991
	<u>Z. pichiy</u>	62	A	A	G	MERITT & BENIRSCHKE 1973, JORGE <i>et al.</i> , 1977
	<u>C. centralis</u>	62	SM	M	-	BENIRSCHKE <i>et al.</i> , 1969
Tolypeutinae	<u>C. chacoensis</u>	-	-	-	-	Não Analisado
	<u>C. tatouay</u>	50	M	A	-	BARROSO & SEUÁNEZ 1991
	<u>C. unincinctus</u>	46	M	A	C e NOR	Neste trabalho
	<u>P. maximus</u>	50	SM	M	-	BENIRSCHKE & WURSTER 1969
	<u>T. matacus</u>	38	M	A	-	JORGE <i>et al.</i> , 1977
	<u>T. tricinctus</u>	-	-	-	-	Não Analisado

Tabela II: Características cromossômicas do gênero *Cabassous* (BENIRSCHKE *et al.*, 1969; BARROSO & SEUANEZ, 1991).

Espécies	2n	Morfologia cromossômica e quantidade				Referência
		Metacêntrico	Submetacêntrico	Acrocêntrico	X Y	
<i>C. centralis</i>	62	10	4	46	SM M	BENIRSCHKE <i>et al.</i> , 1969
<i>C. taouay</i>	50	8	12	28	SM A	BARROSO & SEUANEZ, 1991
<i>C. unicinctus</i>	46	24	10	12	SM A	Presente trabalho
<i>C. chacoensis</i>	-	-	-	-	- -	Não Analisado

As abreviaturas A, M e SM significam respectivamente, cromossomos acrocêntricos, metacêntricos e submetacêntricos.

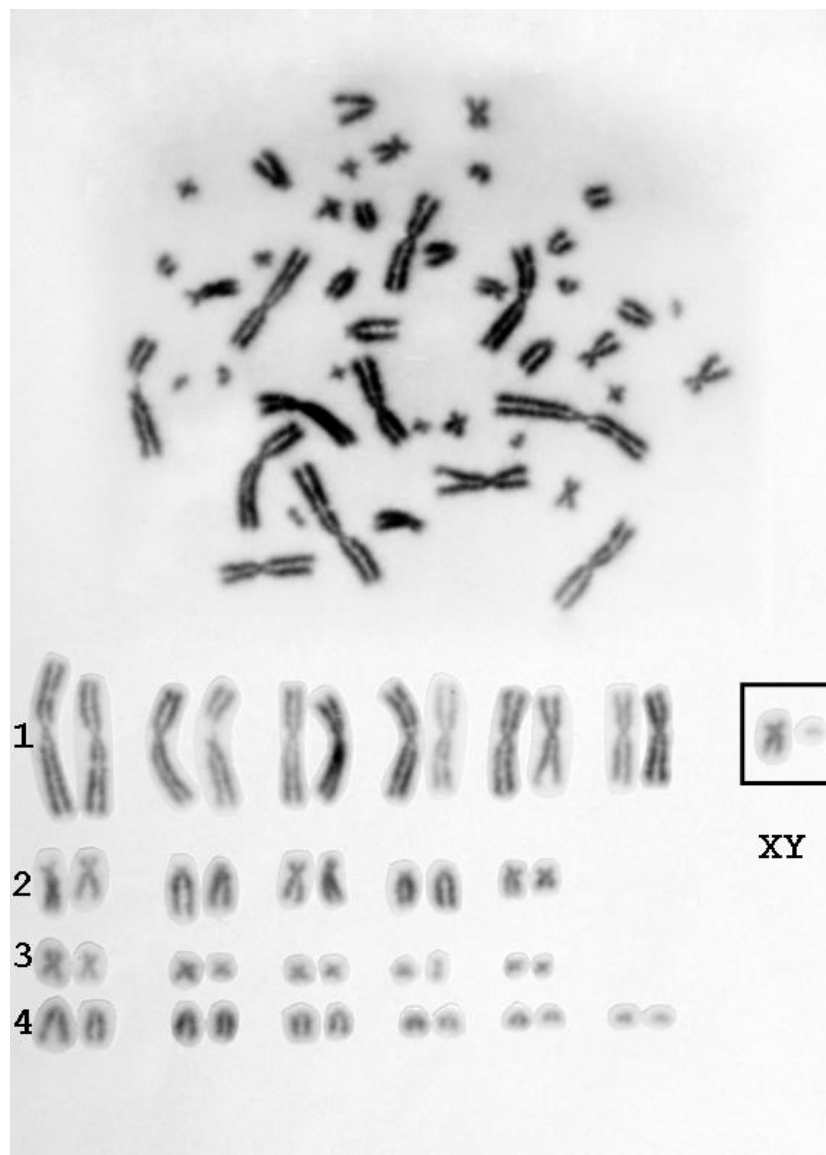


Figura 1: Cariótipo da espécie *Cabassous unicinctus* com $2n=46$ cromossomos. O cromossomo sexual X é um metacêntrico de tamanho de médio e o cromossomo Y é um cromossomo acrocêntrico pequeno, o menor cromossomo do conjunto.

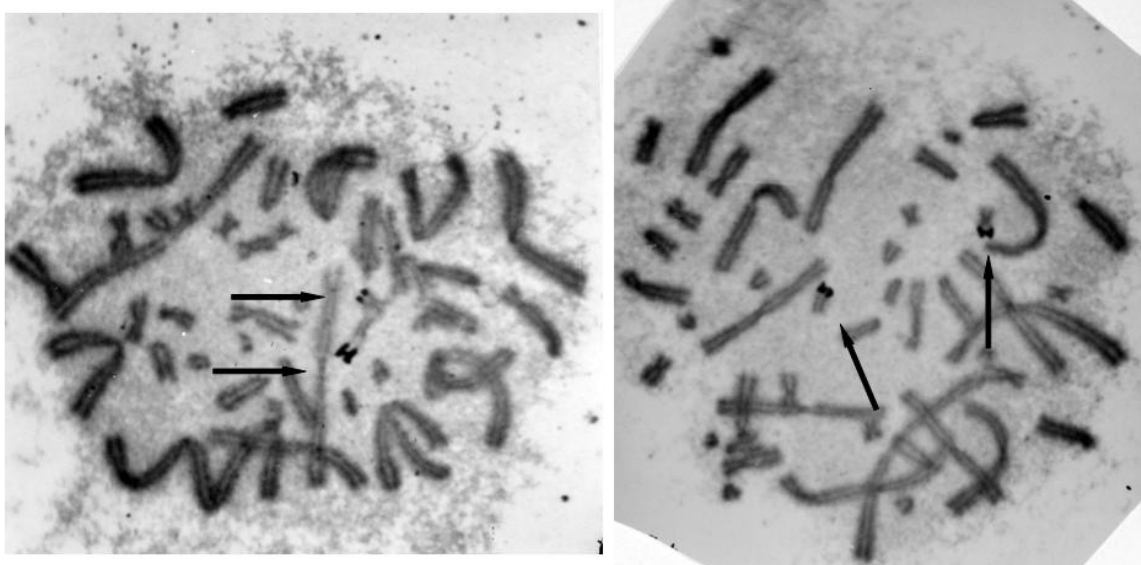


Figura 2: Banda Ag-Nor de *Cabassous unicinctus*, seta pretas indicam as regiões organizadoras de nucléolos.

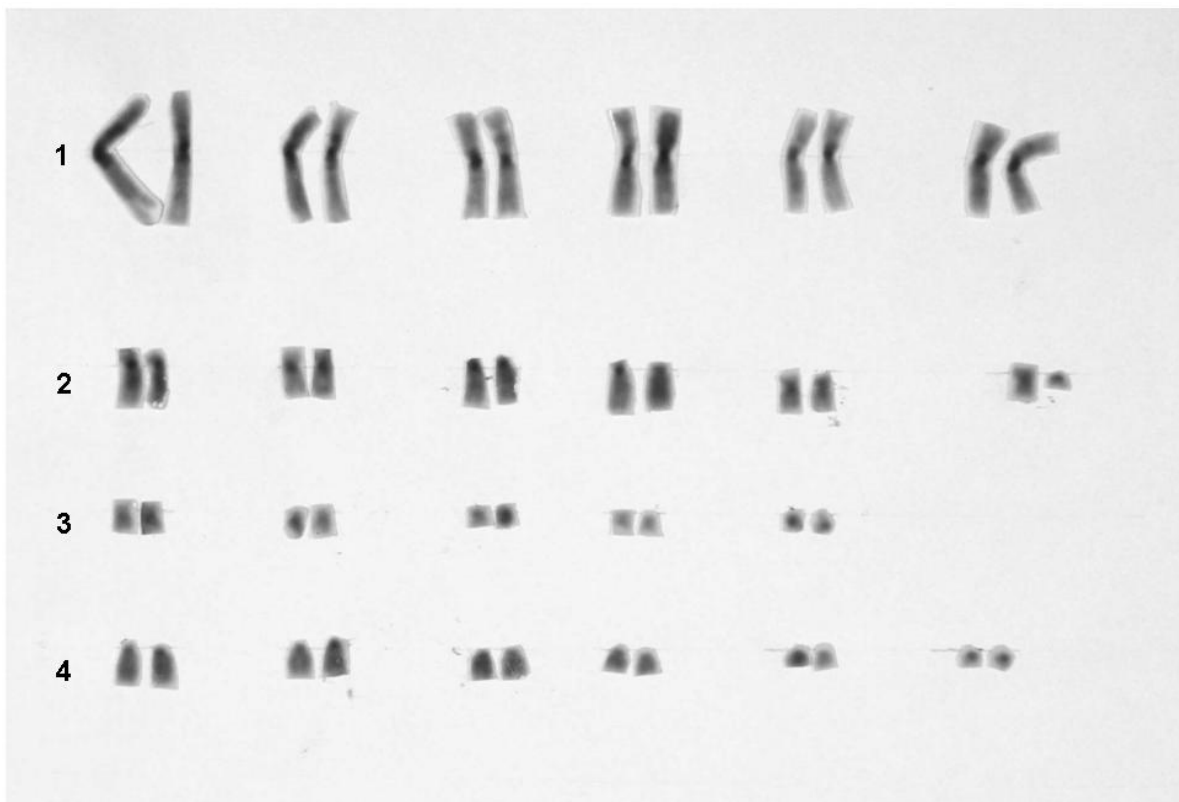


Figura 3: Bandamento C mostrando as marcações centroméricas dos cromossomos. Os cromossomos de menor tamanho quase não apresentam marcações para este bandamento.

Capítulo 3: Uma nova espécie no Gênero *Tamandua*

Resumo:

A família Myrmecophagidae é composta por três gêneros (*Myrmecophaga*, *Cyclopes* e *Tamandua*). O gênero *Tamandua* (tamanduá mirim) apresenta duas espécies (*T. tetradactyla* e *T. mexicana*). A distribuição geográfica se estende desde o México até o sul do Brasil e nordeste da Argentina, sobrepondo-se a sete 'hotspots'. Estas duas espécies tiveram seus cariótipos descritos e com $2n=54$ cromossomos. Um novo cariótipo foi descrito em 2004 ($2n=56$) de animais provenientes Mata Atlântica, região costeira do estado de São Paulo. No presente trabalho foram analisados caracteres morfológicos, cromossômicos e moleculares de cinco espécimes com $2n=56$ cromossomos provenientes da mesma região geográfica e quatro espécimes com $2n=54$ de outras localidades do Bioma Cerrado. Estas análises permitiram diferenciar uma nova espécie no gênero *Tamandua*, sendo que esta espécie até o momento só foi encontrada no bioma Mata Atlântica, um dos mais ameaçados do Brasil, o que gera a necessidade de sua descrição de modo a permitir o início de programas de preservação.

Introdução

Tamandua é um dos três gêneros da família Myrmecophagidae (ordem Xenarthra), os outros dois gêneros são *Myrmecophaga* e *Cyclopes* (Wetzel, 1985). Wetzel (1975) com duas espécies neste gênero (*T. mexicana* – tamanduá mirim do Norte e *T. tetradactyla* – tamanduá mirim do sul). A área de distribuição geográfica inicia-se no México indo até região dos Pampas na América do Sul (Nowak, 1999; Wetzel, 1985). Pode se observar a sobreposição da distribuição geográfica deste gênero com os ‘hotspots’ de 1 a 6 e 9 (tabela 1). Os indivíduos desta família possuem cobertura corporal densa, olhos e orelhas pequenas e cauda longa, sendo que em dois dos três gêneros atuais ela também é preênsil (Nowak, 1999; Wetzel, 1985). Em cada membro há cinco dedos, dos quais três possuem grandes garras utilizadas tanto para a escavação de cupinzeiros/termiteiros, como para escalada, nos grupos de hábito arbóreo (Wetzel, 1985).

Os tamanduás mirins da espécie *Tamandua tetradactyla* vivem em florestas, savanas e cerrados. Sua distribuição se estende desde o leste das Cordilheiras dos Andes até a Venezuela e de Trinidad até o norte da Argentina e sudeste do Brasil, sendo comum no Brasil (Wetzel, 1985; Nowak, 1999). Possuem pelagem dourada e negra, sendo que esta última se dispõe na forma de um “colete” (Nowak, 1999; Eisenberg, 1989). Na região de simpatria com a espécie *T. mexicana* o colete se torna menos diferenciado até a sua completa perda, podendo ser melânico ou não (Wetzel, 1975). O tamanho varia de 47 cm a 77 cm (cabeça-corpo) e mais 40,2 a 67,2 cm de cauda, que em sua maioria é nua e preênsil (Nowak, 1999). Pesa entre 3,4 a 7 Kg (Eisenberg, 1989). Esta espécie possui hábitos tanto noturnos como diurnos, preferindo o dia para descansar, normalmente alojado em buracos nas árvores, assim como hábito

terrícola/arborícola, preferindo o segundo (Nowak, 1999; Wetzel, 1985). Seu “home-range” têm aproximadamente 3,75 Km² (Montgomery, 1985).

Anteriormente aos estudos de Wetzel (1975) eram reconhecidas duas espécies de Tamanduá (*T. longicaudata* e *T. tetradactyla*) esta última com três sub-espécies: *T. t. tetradactyla* espécimes com colete completo, *T. t. nigra* forma melânica e *T. t. quíchua* forma amelânica. Em sua revisão, Wetzel (1975) descreveu duas espécies: *Tamandua mexicana* que são os animais caracterizados pela presença de quatro forames orbitais e *Tamandua tetradactyla* que reúne todas as espécies anteriormente descritas e se caracteriza pela presença de apenas três forames orbitais.

O cariótipo da espécie *T. tetradactyla* foi descrito por Hsu (1965) com $2n = 54$ cromossomos, o que foi confirmado por Hsu e Benirschke em 1969. Estes últimos descrevem o cariótipo de uma fêmea de região desconhecida e o de um macho proveniente da região de Chiapas no México. Somente seis anos depois é que Wetzel (1975) definiria a espécie proveniente do México como *T. mexicana*. Jorge *et al.* (1977) descreveram o cariótipo de um macho da espécie *T. longicaudata*, porém da mesma maneira que o ocorrido com Hsu e Benirschke (1969) este cariótipo pertence a espécie *T. tetradactyla*. Pereira Jr *et al* (2004) descreveram um novo cariótipo ($2n = 56$ cromossomos) no gênero *Tamandua* que difere em número e morfologia dos outros anteriormente descritos. Os animais são endêmicos da Mata Atlântica do Estado de São Paulo e são cromossomicamente diferentes das outras duas espécies (Pereira Jr *et al.*, 2004). O presente trabalho visa verificar a existência de uma nova espécie de Tamanduá analisando dados cromossômicos, morfológicos e moleculares de cinco indivíduos, bem como propõem uma nomenclatura para a mesma.

Material e Métodos

Dados citogenéticos:

Foram colhidas amostras de sangue heparinizado (3ml em média por indivíduo) de dez indivíduos do gênero *Tamandua* provenientes da Fundação Zoológico de São Paulo, São Paulo, Brasil e da Fundação ZooBotânica de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (Tabela 2). Para cultivos de leucócitos foi utilizado o procedimento descrito por Pereira Jr *et al.* (2004). Após a obtenção e preparação das metáfases, foram contadas 40 metáfases em coloração convencional para contagem do número cromossômico. O bndamento G foi realizado segundo a técnica descrita por Jorge *et al.* (1977) e Ag-NOR pela técnica de Reig *et al.* (1980). Destas preparações foram utilizadas 20 metáfases e em seguida procedeu-se a montagem dos cariótipos.

Morfometria tradicional:

Foram obtidas dez medidas de nove espécimes adultos vivos usando uma fita métrica de 2 metros e paquímetros de 300 milímetros (Tabela 3). As medidas a serem tomadas foram baseadas nas obtidas para o tamanduá-mirim (Wetzel, 1975) e outras espécies (Duarte e Jorge, 2003, Sivertsen, 1954; Reppenning *et al.*, 1971; Kerley e Robinson, 1987; Drehmer e Ferigolo, 1997; Oliveira *et al.*, 1999). Nas amostragens foram feitas as medidas 'in vivo' dos seguintes caracteres: comprimento cabeça-corpo (CCACP), comprimento cabeça-cauda (CCACD), comprimento da cauda (CCD), peso (PESO), envergadura (ENV), comprimento da pata posterior direita (CPPD), comprimento da pata posterior direita estendida (CPPDE), comprimento da pata anterior

direita (CPAD), comprimento da pata anterior direita estendida (CPADE), tamanho da mão (TM), circunferência da ponta do focinho (CIRPF), circunferência na altura do olho (CIRHO), circunferência da base da cabeça (CIRBCA), circunferência da base da cauda (CIRBCD), circunferência do pescoço (CIRNECK), circunferência do tórax (CIRTOR), distância entre os olhos (DEO), distância entre as orelhas (DEOR), comprimento da orelha direita (CORD). Porém somente alguns caracteres foram preponderantes na análise e estão amostrados na tabela 3.

Foi utilizada análise univariada (Teste Student) para verificar a existência de diferenças significativas entre as espécies com diferenças cromossômicas (Pereira Jr *et al.*, 2004) e foi testada cada medida individual. Com a Análise de Componentes Principais (PCA – ‘Principal Component Analysis’) através de matriz de variância – covariância de todo o conjunto de dados, foram exploradas as diferenças multivariadas entre as espécies (Neff e Marcus, 1980). Também foram realizadas análises das variáveis canônicas (CVA – ‘Canonical Variates Analyses’) para descrever as diferenças entre as espécies e para confirmar padrões previamente sugeridos pelo PCA. As análises estatísticas da morfometria tradicional foram feitas com o uso do programa SPSS 11.0 (SPSS for Windows, Chicago, IL).

Preparação, Amplificação e Sequenciamento do DNA

Juntamente com o material para citogenética foram colhidas amostras de sangue para análises moleculares (em média 1ml de sangue com EDTA). As extrações foram feitas de acordo com o protocolo proposto por Aljanabi e Martinez (1997) em dois espécimes com o cariótipo de $2n=56$ cromossomos. O resultado das extrações foi verificado por eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo e

visualizado em transluminador de luz ultravioleta. Foram utilizados quatro ‘primers’ para amplificar parte das regiões 12S, tRNA-Val e 16S mitocondrial desenhados por Roca *et al.* (2004) e seguem a nomenclatura utilizada por este autor:

1- “forward” GCAATGCACTGAAAATGCTTAG;

4- “forward” AAAGACGT TAGGTCAAGGTGT;

4- “reverse” TGCTTACCATGTTACGACTT;

6- “reverse” AAGCTCCATAGGGTCTTCTCGT.

A amplificação dos fragmentos seguiu a proposta por Roca *et al.* (2004). Os fragmentos de PCR obtidos foram verificados através de eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídeo, purificados com PEG8000, seqüenciados com o *DYEnamic Et Dye Terminator Sequencing kit* (Amersham) e lidos em um seqüenciador automático MegaBACE 1000 (GE Healthcare). Foi gerada uma seqüência consenso para a espécie a partir das duas seqüências obtidas, que foi comparada com as seqüências de outras espécies de *Xenarthra* já existentes no GenBank (tabela 4).

Análises Filogenéticas

Foi seqüenciado um fragmento que abrange partes das seqüências 12S, tRNA-Val e 16S, num total de 1381pb. Esta seqüência foi inserida no programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), a fim de se obter seqüências desta mesma região em outros xenartros (ver tabela 4). Estas seqüências foram alinhadas através do programa Clustal W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>) e o alinhamento foi conferido manualmente com o auxílio do programa Mega 3.1. A árvore de Máxima Verossimilhança (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967; Felsenstein, 1981) foi inferida com o auxílio do programa PAUP* (Swofford, 1998). Em filogenias feitas a partir deste método, uma seleção

cuidadosa do modelo evolutivo é necessária para aumentar a confiabilidade da árvore. Por isso, foi utilizado o programa ModelTest 3.06 (Posada e Crandall, 1998) que apontou o modelo GTR+G (Rodriguez *et al.*, 1990) como o mais apropriado. Para a obtenção da árvore de máxima verossimilhança, foi feita uma busca heurística iniciada com uma árvore de Neighbor-joining (Saitou e Nei, 1987) e melhorada com o algoritmo TBR (tree-bisection-reconnection). Para estimar a robustez de cada ramo interno da árvore foi utilizado um bootstrap não paramétrico (Efron *et al.*, 1996; Felsenstein, 1985) com 1000 replicações. Esta análise também foi feita com o auxílio do programa PAUP* (Swofford, 1998). Para verificar se a divergência do fragmento estudado evoluiu em uma taxa constante em *Xenarthra*, duas inferências de Máxima Verossimilhança foram feitas com os modelos já descritos, uma livre e a outra forçando o relógio molecular. O Likelihood ratio test (McLachlan, 1987) foi aplicado de modo a verificar se as duas árvores são ou não significativamente diferentes. Em caso negativo, a árvore com taxas constantes pode ser utilizada para a datação dos eventos de divergência tendo como base nos pontos de calibração obtido por Delsuc *et al* (2004). O nó de datação que foi utilizado é o ponto em que os tatus divergem dos outros xenartros, por volta de 65 milhões de anos, no limite Cretáceo/Terciário.

Resultados

Dos espécimes amostrados, observou-se a presença dos dois conjuntos cromossômicos relatados por Pereira Jr *et al.* (2004). Seguiu-se a mesma padronização proposta por Pereira Jr *et al.* (2004) para a montagem dos cariótipos em coloração convencional (figura 1). Também foram realizadas técnicas de bandamento G e Ag-NOR para os indivíduos das duas espécies (figuras 2 e 3).

As estatísticas descritivas para cada população estudada são apresentadas na tabela 5. Os resultados do teste t demonstraram que apenas a medida CIRNECK (circunferência na base do pescoço) das dez medidas estudadas foi estatisticamente diferentes entre as populações estudadas ($P < 0,005$, $t = 4,827$ ver tabela 5). Na figura 4 está representada a média da medida CIRNECK no intervalo de 95% CI das populações.

Na árvore que foi gerada (Figura 5), estão representados duas espécies do Gênero *Dasybus*, duas do gênero *Choloepus* e as espécies que representam a família Myrmecophagidae, incluindo a nova espécie do gênero *Tamandua*. As espécies de *Dasybus* e de *Choloepus* se agruparam como esperado (*D. novemcinctus* com *D. kaplerri* e *Cho. hoffmanni* com *Cho. didactylus*) e o tempo de divergência entre elas foi de 8,3 milhões de anos em *Dasybus* e 6,7 milhões de anos entre os *Choloepus*. As estimativas de tempo de divergência entre os membros da família Myrmecophagidae apresentam tempos estimados diferentes dos observados por Delsuc *et al* (2004) e Barros *et al* (2003). *Cyclopes* e os outros tamanduás se agrupam formando um único clado e a divergência entre *Cyclopes* e os outros tamanduás se deu por volta de 46 milhões de anos atrás, enquanto Delsuc *et al* (2004) aponta para estes um tempo de divergência de aproximadamente 40 milhões de anos e Barros *et al* (2003) 32 milhões de anos. *Tamandua* se agrupou com *Myrmecophaga* e o tempo de divergência entre eles é de 16 milhões de anos, sendo que no observado por Delsuc *et al*. (2004) este tempo é de aproximadamente 11 milhões de anos, enquanto que em Barros *et al* (2003) foi estimado uma divergência de 12,9 milhões de anos. As duas espécies do gênero *Tamandua* agrupou-se formando um único clado que apresenta um tempo de divergência de 1,4 milhões de anos.

Discussão

Tanto as espécies de *Tamandua tetradactyla* (tamanduá-mirim do sul) e *Tamandua mexicana* (tamanduá mirim do norte) descritos por Hsu, 1965; Hsu e Bernischke, 1969; Jorge *et al.*, 1977 apresentam número diplóide de 54 cromossomos. Recentemente, Pereira Jr *et al.* (2004) descreveram um terceiro cariótipo do gênero *Tamandua* – *T. sp* com $2n=56$ cromossomos (figura 3). Na ordem Xenarthra tem se observado uma estabilidade cromossômica (Jorge *et al.*, 1985; Pereira Jr *et al.*, 2004; Dobigny *et al.*, 2005; Jorge e Pereira Jr. capítulo 1) diferentemente da observada em roedores (Yonenaga-Yassuda, 2004), em que foi observado uma grande variação cromossômica dentro das espécies analisadas. O gênero *Tamandua* com os dados cromossômicos atuais sugeri-se que tenha três espécies, ao invés de duas como citado por Wetzel (1975).

Até 1975 a espécie *T. tetradactyla* era dividida em duas outras *T. tetradactyla* (Lineu, 1758) e *Tamandua longicaudata*, (Wagner, 1844) citados por Wetzel (1975). Este último autor analisando caracteres cranianos sugeriu que as espécies *T. tetradactyla* e *T longicaudata* eram uma única. Hsu (1965) descreveu o cariótipo de *T. tetradactyla* com $2n=54$ cromossomos e Jorge *et al.* (1977) descreveu o cariótipo de *T. longicaudata* com $2n=54$ cromossomos, ambos os resultados corroboram os obtidos por Wetzel (1975). Por outro lado, Hsu e Benirschke (1969) descreveram o cariótipo de *T. tetradactyla* com $2n=54$. Todavia este indivíduo descrito era proveniente da Região de Chiapas, no México. O conjunto cromossômico do gênero *Tamandua* não apresenta cromossomos acrocêntricos, exceção do cromossomo Y. A padronização dos cariótipos deste gênero seguirá a proposta de Pereira Jr *et al* (2004). A comparação dos cariótipos deste gênero, mostra que no grupo I, a espécie *T. tetradactyla* apresenta quatro pares de

metacêntricos grandes, o *T. mexicana*, cinco pares, enquanto o *Tamandua sp* apenas três. O grupo II é constituído de três pares de submetacêntricos grandes em ambas. O grupo III é constituído de sete pares de submetacêntricos médios no *T. tetradactyla*, onze pares em *T. mexicana* e nove submetacêntricos em *Tamandua sp*. O IV grupo é formado por sete pares de metacêntricos de tamanhos médios a pequenos em *T. mexicana* e doze pares nas outras espécies. O cromossomo X é um grande metacêntrico equivalente ao terceiro par de autossomos em ambas as espécies. O Y é um pequeno acrocêntrico. Estas diferenças podem ser explicadas por processos de fusão cromossômica e/ou outros processos de rearranjo estrutural. Na espécie com $2n=56$, a maioria dos autossomos são metacêntricos de pequeno tamanho. Estes podem ter surgido por fusões de acrocêntricos, que são encontrados em outros gêneros da família.

A análise dos resultados de componentes principais (morfometria) demonstraram que os cinco primeiros componentes explicariam mais de 96% da variância observada. Nesta análise o primeiro componente principal é usualmente definido como o tamanho (Jolicoeur e Mosimann, 1960), e explicou a maior parte da variância dos dados (42,642%), enquanto que o segundo explicou 22,928% da variância total. As medidas que mais contribuíram para o primeiro componente foram CCACD, PESO, CIRBCA, e CIRNECK; e para o segundo foram CPAD e CPPDE. Todas as medidas apresentaram autovetores positivos, demonstrando novamente a forte influência do tamanho neste componente. De acordo com a figura 6 (PC1/PC2) existe uma tendência a formação de grupos “a priori” ao longo do eixo do PC2 (sendo este componente conhecido como por ser uma mistura de tamanho e forma (Jolicoeur & Mosimann, 1960), exceto por dois espécimes (um do grupo $2n=56$ cromossomos e outro do grupo $2n=54$) que apresentaram medidas que os põem para fora do conjunto analisado.

Os resultados da análise de componentes principais demonstraram que existe uma variação de forma dentro das populações, o que pode ser observado ao longo do eixo do segundo componente principal e que os espécimes das diferentes populações se separam parcialmente em dois grupos “a priori”, principalmente ao longo do eixo do segundo componente principal (Figura 6). Estes grupos indicam a existência de duas formas geográficas, uma formada pelos indivíduos portadores da forma cromossômica $2n=56$ cromossomos que ocorrem na região de Mata Atlântica do Estado de São Paulo e outra pelo grupo de espécimes portadores do cariótipo $2n=54$ cromossomos da região de Cerrado e com ampla distribuição. Os resultados da análise de variáveis canônicas não evidenciaram diferenças significativas entre as populações (λ de Wilks = 0,055; GL = 7; Quis quare = 10,133).

Em síntese, a morfometria tradicional sugeriu a separação das amostras em dois grandes grupos, através da diferença significativa na média da Circunferência da Base do Pescoço (CIRNECK) e também através da análise multivariada de componentes principais. Contudo, não há uma medida que diferencie esses dois grupos de espécies. Além disso, há sobreposição das medidas entre algumas espécimes (3 e 6 – tabela 3) estudados, o que sugere apenas uma separação parcial entre os grupos e a necessidade da continuidade destes estudos através de maior amostragem dessas espécies. É possível visualizar a separação das amostras em dois grupos ao longo do primeiro eixo canônico: o grupo de Mata Atlântica em São Paulo, e o grupo com origem no bioma Cerrado.

As análises moleculares mostram que o tempo de divergência entre as duas formas cromossômicas ainda é pequeno, 1,4 Milhões de anos (figura 6), em relação a outros pares de espécies presentes, gênero *Dasybus* 8,3 Milhões de anos e *Choloepus* 6,7 milhões de anos. Porém o principal argumento para a separação destas duas espécies é que a forma cromossômica $2n=56$ (Pereira jr *et al.* 2004) somente é encontrada na

região do Bioma Mata Atlântica (hostspots 3 - Mittermeier *et al.*, 2005) do Estado de São Paulo, enquanto que forma $2n=54$ cromossomos ocorre no restante da distribuição, sendo diferenciada efetivamente apenas pela medida da circunferência do pescoço (CIRNECK) e pelo cariótipo ($2n=56$ cromossomos). Duarte e Jorge (2003) estudando o gênero *Mazama* observaram que nesta os espécimes provenientes desta região geográfica não pertenciam às espécies já descritas. Estes espécimes eram pertencentes a uma nova espécie *M. bororo*. No presente trabalho é relatada a existência de uma nova espécie dentro do gênero *Tamandua* ("*T. atlântica*") com base em dados cromossômicos ($2n=56$), dados morfológicos (medida da circunferência do pescoço) e dados moleculares. Esta espécie pode estar sob risco de extinção, uma vez que reside no mais ameaçado Bioma brasileiro. Faz-se necessário melhor amostragem de espécimes, pois a população de estudo utilizada neste trabalho foi de cinco indivíduos. É preciso melhores estudos sobre a distribuição geográfica, pois este grupo ainda está restrito a Mata Atlântica do Estado de São Paulo, Brasil, podendo ser que ocorra em outras localidades da Mata Atlântica.

Referências Bibliográficas

- Aljanabi, S.M. e Martinez, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research**, v° 25, n°. 22, p. 4692–4693, 1997.
- Barros, M.C., Sampaio, I. e Schneider, H. Phylogenetic analysis of 16S mitochondrial DNA data in sloths and anteaters **Genetics and Molecular Biology** v. 26 n°1, p: 5-11, 2003
- Cavalli-Sforza, L.L. e Edwards, A.W.F. Phylogenetic Analysis: Models and Estimation Procedures. **Evolution**, v° 21, n° 3, p. 550-570, 1967
- Delsuc F., Vizcaíno S. F. e Douzery E. J. P. “Influence of Tertiary paleoenvironmental changes on the diversification of South American mammals: a relaxed molecular clock study within xenarthrans.” **Evolutionary Biology** v.4 n°11, 2004.
- Drehmer, C.J. e Ferigolo J. Osteologia craniana comparada entre *Arctocephalus australis* e *A. tropicalis* (Pinnipedia, Otariidae). **Iheringia Série Zoologia**, (83): 137 – 149, 1997.
- Dobigny, G., Yang, F., O’Brien, P.C.M., Volobouev, V., Kovács, *et al.* “Low rate of genomics repatterning in Xenarthra inferred from chromosome painting data.’ **Chromosome Research**, v° 13, n° 7, p. 651-663, 2005.
- Duarte, J.M.B e Jorge, W. Morphologic and cytogenetic description of the Small Red Brocket (*Mazama bororo*, Duarte, 1996) in Brazil. **Mammalia**, v° 67, n°3, p. 403-410, 2003.
- Efron, B. Halloran, E. e Holmes, S. Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees **Proc. Natl. Acad. Sci.** v° 93, p. 13429-13429, 1996.
- Eisenberg, J.F. Cap. 3 Order Xenarthra (Edentata), 50-67. In: **Mammal of the Neotropics – The Northern Neotopics V. 1**. The Univ. of Chicago Press, London, 1989. 449p.
- Felsenstein, J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. **Journal of Molecular Evolution**. v° 17, n° 6, p. 368-376, 1981.
- Felsenstein, J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap **Evolution**, v° 39, n° 4, p. 783-791. 1985.
- Hsu T.C. Chromosome of two species of anteaters. **Mammalian Chromosomes Newsletter**, n. 15, p. 108, 1965.
- Hsu T.C. e Bernirschke, K. Tamandua tetradactyla. **An Atlas of Mammalian Chromosomes** v. 3: folio 108, 1969.
- Jolicoeur, P. e Mosimann, J.E. Size and shape variation in the painted turtle. A principal component analysis. **Growth**, v° 24, p. 339-354. 1960.

- Jorge, W., Meritt, D.A. e Bernirschke, K. Chromosomes studies in Edentata. **Cytobios**, v. 18, p. 157-172, 1977.
- Jorge, W., Orsi-Souza, A. T. e Best, R. C. "The somatic chromosomes of Xenarthra." In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 121-9 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Jorge, W. e Pereira Jr, H.R.J. Chapter 19 - Chromosomal studies in the Xenarthra, p 217- 238. In: Vizcaino, S. F. e Loughry, W. J.eds. **The Biology of the Xenarthra**. University Press of Florida, Gainesville., in press. (Capitulo 2 desta tese)
- Kerley, G.I.H. e Robinson, T.J. Skull morphometrics of male Antarctic and Subantarctic fur seals, *Arctocephalus gazella* and *A.tropicalis*, and their interspecific hybrids, 121-131. In: J.P. Croxall, e R.L Gentry (Eds), **Status, Biology and Ecology of Fur Seals, Proceedings of an International Symposium and Workshop**, Cambridge, Inglaterra, 1987.
- McLachlan, G.J. On Bootstrapping the Likelihood Ratio Test Statistic for the Number of Components in a Normal Mixture **Applied Statistics**, v° 36, n° 3, p. 318-324. 1987.
- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamoureaux, J. e Fonseca, G.A.B. "**Hotspots Revisited. Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions.**" Edited CEMEX, Sierra Madre, 2004.
- Montgomery, G.G. Moviments, foraging and food habits of the four extant species of neotropical vermilinguas (Mammalia: Myrmecophagidae), 219-232. In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.
- Neff, N.A. e Marcus, L.F. **A survey of multivariate methods for systematics**. American Society of Mammalogy. 1980.
- Nowak, R.M. **Walker's mammals of the world Sixth edition**, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, p. 147-168. 1999.
- Oliveira, L.R.; Malabarba, L.R. e Majluf, P. Variação geográfica em crânios do lobo-marinho sul-americano *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) das populações do Brasil e Peru. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS**, v° 12, p. 179-192. 1999B.
- Pereira, H.R.J., Jorge, W. e da Costa, M.E.L.T. Chromosome study of anteaters (Myrmecophagidae/Xenarthra) – Preliminary report. **Genetics and Molecular Biology** v.27 n°3, p: 391-94, 2004
- Posada D e Crandall KA. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics** v° 14, n° 9, p: 817-818, 1998.

Reig, O.A., Aguilera, M., Barros, M.A. e Useche, M. "Chromosomal speciation in rassenkreis of venezuelan spiny rats (Genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae)." **Genetica** v°52/53, p. 291-312. 1980.

Repenning, C. A.; Peterson, R. S. e Hubbs, C.L. Contributions to the systematics of the southern fur seals, with particular reference to the Juan Fernández and Guadalupe species.. **In:** W.H. Burt (Ed.) "**Antarctic Pinnipedia**", *Antarctic Research*, v°18, 1-34. American Geophysical Union. 1971.

Roca, A.L., Bar-Gal, G.K., Eizirik, E., Helgen, K.M., Maria, R., Springer, M.S., O'Brien, S.J. e Murphy, W.J. Mesozoic origin for West Indian insectivores, **Nature**, v° 429, n°10, p.649 -651, 2004.

[Rodriguez, F.](#), [Oliver, J.L.](#), [Marin, A.](#) e [Medina, J.R.](#) The general stochastic model of nucleotide substitution. **J Theor Biol.** v° 22;n°142(4), p.485-501, 1990

Saitou, N. e Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, v°4, n°4, p. 406-425, 1987.

Sivertsen, E. **A survey of the eared seals (family Otariidae) with remarks on the Antarctic seals collected by M/K Norvegia in 1928-1929.** Oslo: Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo (Scientific Results of the Norwegian Antarctic Expeditions 1927-1928 et sqq, no. 28). 1954.

Swofford, D.L. **PAUP* Phylogenetic Anlysis Using Parsimony (*and others methods).** Version 4. Sinauer Associates, Suderland. 1998.

Yonenaga-Yassuda, Y. Contribuições da FISH à citogenética de mamíferos e répteis, 89-114. In Guerra, M. (Ed.) **FISH conceitos e aplicações na citogenética**, Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 2004. 184 p.

Wetzel, R.M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata), 5-21. **In:** Montgomery, G. G. (Ed.). **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1985. 451 p.

Wetzel, R.M. The species of *Tamandua* Gray (Edentata, Myrmecophagidae) **Proceedings of the Biological Society of Washington** v. 88, n° 11, p: 95-112. 1975

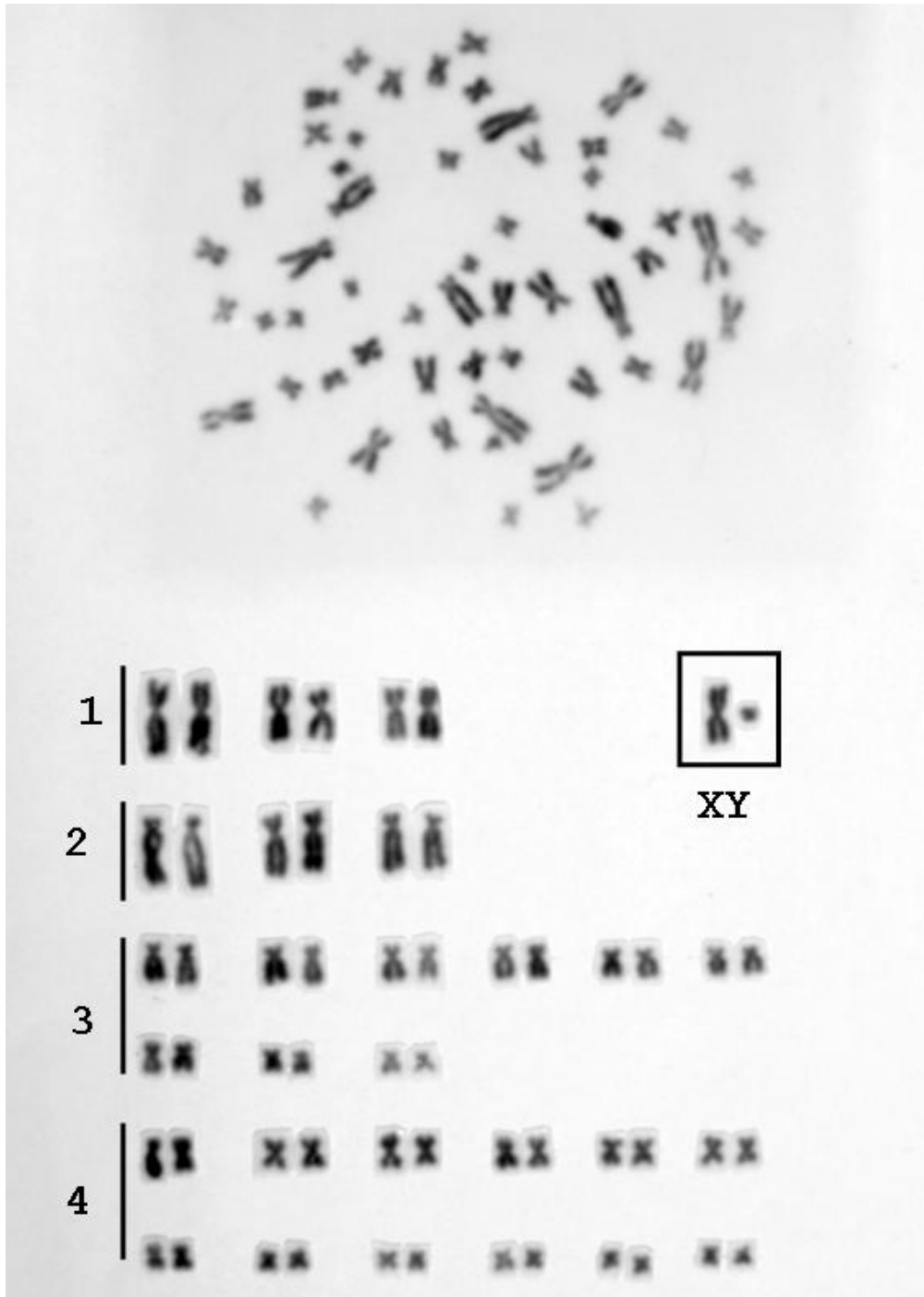


Figura 1: Cariótipo coloração convencional da espécie *Tamandua atlantica* com $2n=56$ cromossomos, organizado segundo Pereira Jr *et al.* (2004). O cromossomo sexual X é um grande cromossomo metacêntrico e o cromossomo Y é pequeno cromossomo acrocêntrico.

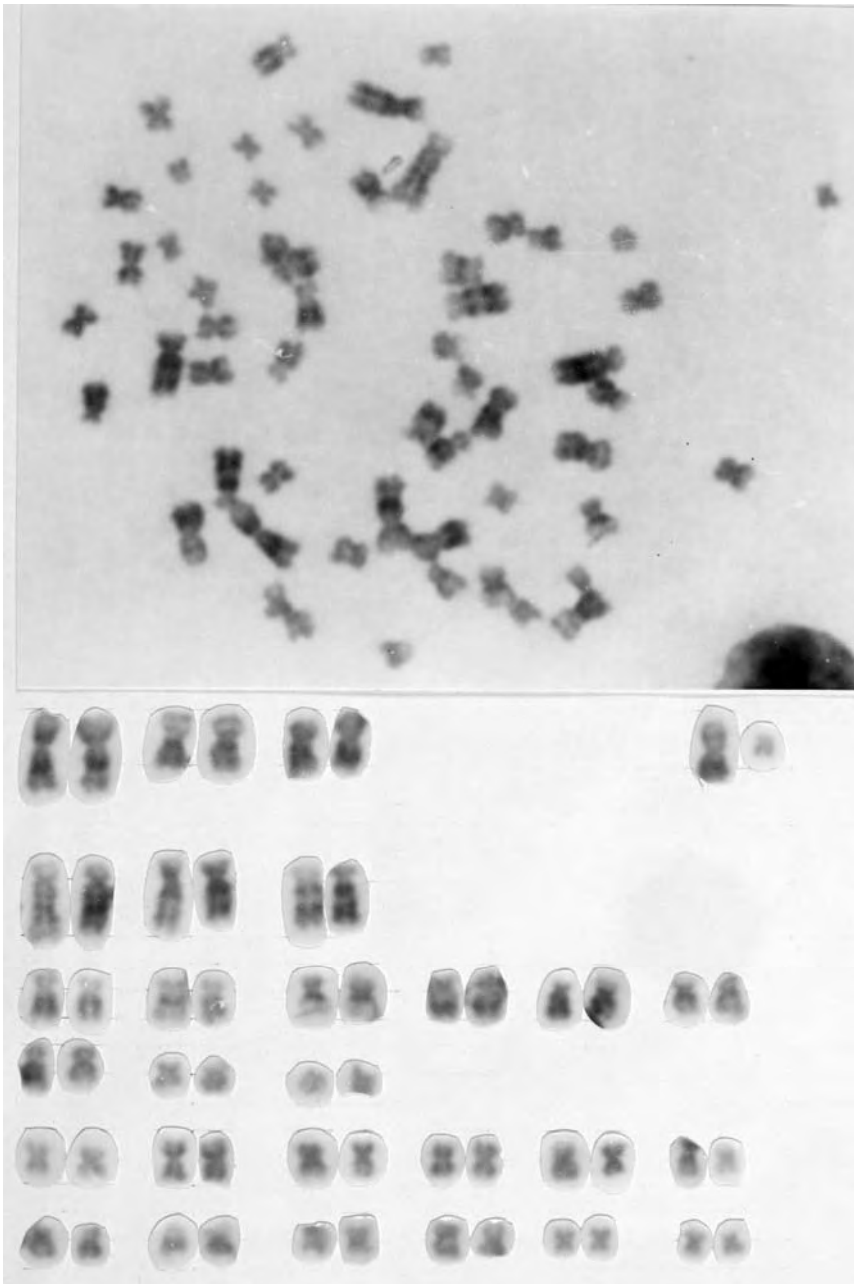


Figura 2: Cariótipo bandamento G da espécie *Tamandua atlantica* com $2n=56$ cromossomos, organizado segundo Pereira Jr *et al.* (2004). Mostrando a marcação de blocos eucromáticos.

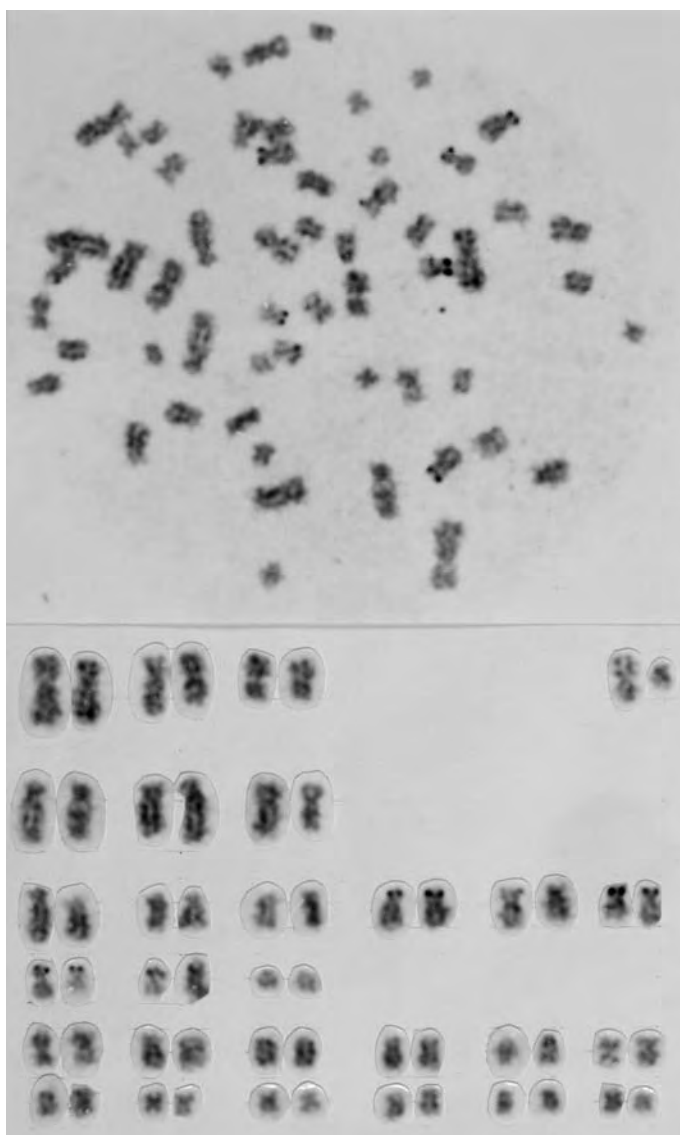


Figura 3: Cariótipo bandamento Ag-NOR da espécie *Tamandua sp* com $2n=56$ cromossomos, organizado segundo Pereira Jr *et al.* (2004). O terceiro, quinto e sexto par do grupo 3 mostram evidentes marcações nos braços curtos.

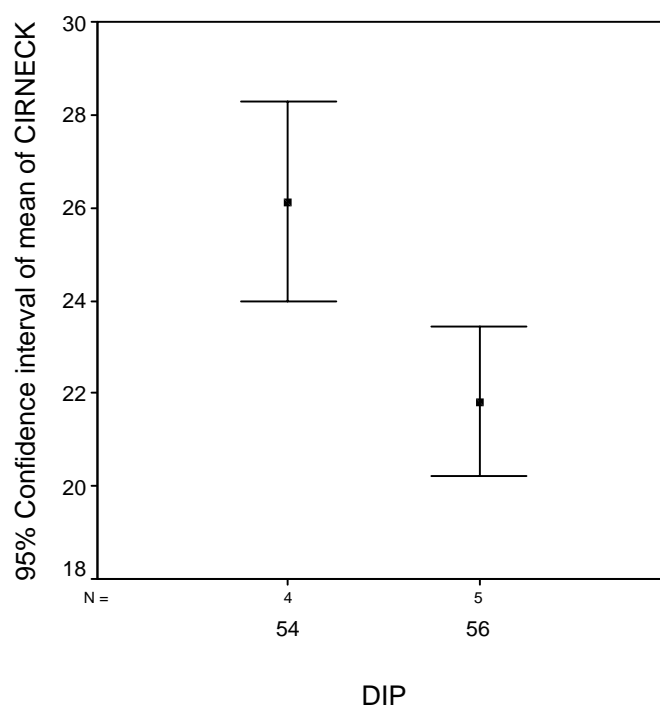


Figura 4: Média e intervalo de confiança de 95% da medida CIRNECK, das duas espécies cromossômica ($2n=54$ cromossomos é a espécie *Tamandua tetradctyla* e $2n=56$ é da espécie *Tamandua sp.*).

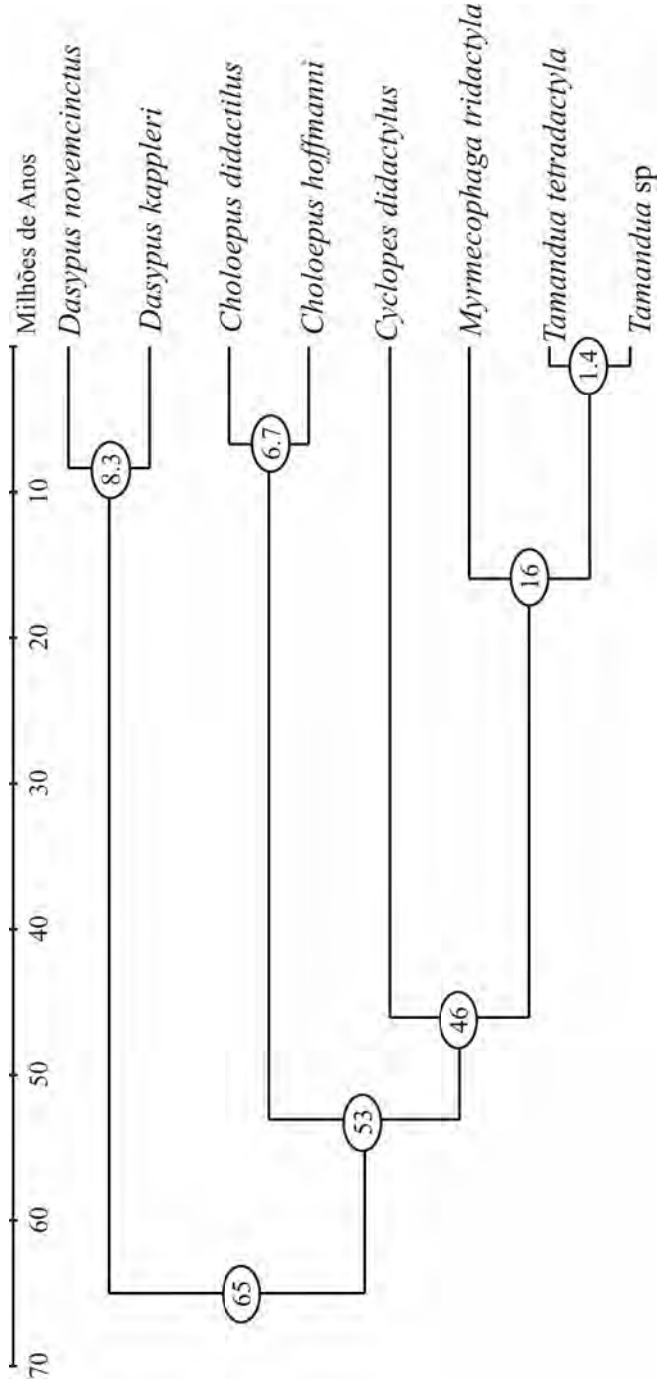


Figura 5: árvore filogenética construída a partir do alinhamento das seqüências 12S até 16S mitocondrial. Os tamanhos dos ramos são proporcionais ao tempo de divergência.

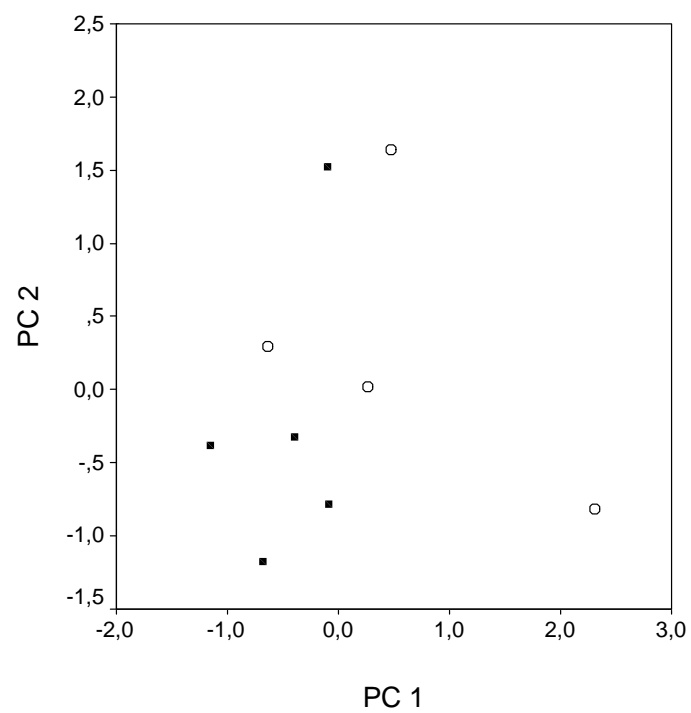


Figura 6: Score dos espécimes de *Tamandua* no primeiro e segundo eixo das análises de componentes principais. (○) espécimes com $2n=54$ cromossomos oriundos do Cerrado; (■) espécimes com $2n=56$ da Mata Atlântica.

Tabela 1: numeração e identificação das áreas de ‘hotspot’ sobre as quais a área de distribuição geográfica do gênero *Tamandua* se sobrepõe. São importantes áreas endemismo. (Extraído de Mittermeier *et al.*, 2005).

Numeração	Identificação do Hostposts
1	Andes Tropical
2	Tumbes-Chocó-Magdalena (Panamá, Colômbia, Equador, Peru)
3	Mata Atlântica (Brasil, Paraguai, Argentina)
4	Cerrado
5	Florestas Valdivias (Chile central)
6	Meso-Américas (Costa Rica, Nicarágua, Honduras El Salvador, Guatemala, Belize, México)
9	Florestas de Pinho-Encimo de Sierra Madre (México, EUA)

Tabela 2: Lista com dados de espécie, numeração de identificação dos zoológicos de origem e os locais de origem dos espécimes do gênero *Tamandua* que foram amostrados para o estudo.

Espécie	Numero de identificação dos Zoológicos	Região de Origem
<i>T. tetradactyla</i>	iso 00060009d8	Sete Lagoas MG
<i>T. sp.</i>	iso 0006000992	DEPAV mata atlântica SP
<i>T.sp</i>	iso 200001105726	DEPAV mata atlântica SP
<i>T. tetradactyla</i>	cad 20679 - 702837	região de Bauru /SP
<i>T. tetradactyla</i>	cad 20979 - 769728	Doação "Bahia" - 11/11/1993
<i>T. sp</i>	cad 28949 - 070005312	Iguapé/SP 15/04/2005
<i>T. sp</i>	cad 28948 - 0700091293	Cema mata atlântica 15/04/2005
<i>T. sp</i>	cad 23855 - 1034811	Mata atlântica Lorena/SP
<i>T. tetradactyla</i>	cad 22442 - 705137	região de Bauru /SP
<i>T. tetradactyla</i>	cad 28869 -070057304	nascido zoo-sp
<i>T. tetradactyla</i>	cad 28639 070124032	nascido zoo-sp

Tabela 3: Dados de Biometria baseada em Wetzel (1975) dos espécimes de tamanduás mirins pertencentes às Fundações: Zoológico de São Paulo de São Paulo/São Paulo e Zootécnica de Belo Horizonte/Minas Gerais. Todos os dados foram medidos em centímetros, exceto peso que foi medido em quilogramas.

Espécie	Sexo	2n	Número de identificação	Medidas										
				A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	♀	54	Cad 20679-702837	114,4	8,940	60	29,7	23,6	9,4	14,6	22,2	19,9	25,6	
<i>Tamandua sp</i>	♀	56	Cad 28949-070005312	109,4	7,250	54,4	24,6	20,6	8,6	13,8	18,3	20,1	20,2	
<i>Tamandua sp</i>	♂	56	Cad 28948-0700091293	106,6	7,105	52,2	26,1	22,6	8,6	13,9	18,7	17,4	20,9	
<i>Tamandua sp</i>	♂	56	Cad 23855-1034811	109,4	19,81	53,7	25,6	21,7	8,8	13,7	19,6	18,5	23,3	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	♀	54	Cad 22442-705137	110,4	6,680	55,5	27,1	22,9	9,5	13,5	18,3	19,4	24,6	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	♀	54	Cad 28869-070057304	98,2	4,960	49,7	23,3	20,3	8,5	11,5	18,5	16,5	20,8	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	♂	54	Cad 28639 070124032	94,6	7,835	46,8	24,8	19,8	8,5	12,7	20,2	19,8	23,1	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	♂	54	Iso 000600009d8	110,2	7,700	59,5	21,0	23,5	7,5	18,4	19,3	18,3	26,5	
<i>Tamandua sp</i>	♂	56	Iso 00060000992	109,2	9,700	60,6	27,4	26,0	9,7	17,5	19,5	18,0	22,9	
<i>Tamandua p</i>	♀	56	Iso 200001105726	107,1	6,700	61,7	26,3	18,7	7,3	16,4	20,4	19,1	21,8	

Medidas: **A**- Comprimento cabeça-cauda, **B** Peso, **C**- Envergadura, **D**- Comprimento da pata posterior direita estendida, **E**- Comprimento da pata anterior direita, **F**- Tamanho da mão, **G**- Circunferência na altura do olho, **H**- Circunferência da base da cabeça, **I**- Circunferência da base da cauda, **J**- Circunferência do pescoço.

Tabela 4: Espécies e número de acesso da sequência de aminoácido no Genbank:

espécie	Numero de acesso no Genbank
Dasyopus kaplerri	AJ505825
Dasyopus novencinctus	U67286
Cyclopes didactylus	AY057981.
Mymercophaga tridactyla	AY012098.
Tamandua tetradactyla	AY012097.
Choloepus hoffmanni	AY012094.
Choloepus didactylus	AY012093.

Tabela 5: Media e desvio padrão das medidas (milímetros) obtidas em animais vivos de nove indivíduos do gênero *Tamandua*, e resultados de teste *t* para diferenciação entre as espécies cromossômicas.

medidas	n	média 56	desvio	n	média 54	desvio	t	d.f.	P
CCACD	5	108,340	,614	4	115,225	3,687	2,078	7	,076
PESO	5	7,948	,587	4	9,066	1,373	,812	7	,444
ENV	5	56,520	1,931	4	58,275	1,009	,743	7	,482
CPPDE	5	26,000	,457	4	26,350	1,387	,264	7	,799
CPAD	5	21,920	1,210	4	22,575	,774	,428	7	,682
TM	5	8,600	,383	4	8,700	,471	,167	7	,872
CIRHO	5	15,060	,792	4	16,125	1,222	,761	7	,471
CIRBCA	5	19,300	,367	4	20,250	,886	1,077	7	,317
CIRBCD	5	18,620	,464	4	20,325	1,174	1,473	7	,184
CIRNECK	5	21,820	,584	4	26,125	,680	4,827	7	,002

Capítulo 4: Evolução Cromossômica na Ordem Xenarthra: uma
Abordagem Filogenética

Resumo

A Ordem Xenarthra é composta por 33 espécies, organizada em treze gêneros e agrupadas em quatro famílias: Dasypodidae, Myrmecophagidae, Megalonychidae e Bradypodidae, cujas relações filogenéticas estão parcialmente resolvidas. 25 espécies de xenartros tiveram seus cariótipos descritos e apresentam grande variação no número diploíde ($2n = 38$ a $2n = 64$). Trabalhos recentes que utilizam técnicas de citogenética molecular sugerem que a evolução cromossômica se deu por redução no número e na estrutura cromossômica. No presente trabalho, 36 seqüências protéicas foram concatenadas de forma a gerar uma filogenia molecular com base no método de máxima parcimônia. Esta topologia, somada a dados anteriores foi utilizada para a elaboração de uma hipótese filogenética utilizada como base para o cálculo de contrastes independentes, com o objetivo de inferir caracteres cromossômicos ancestrais. Ao contrário dos trabalhos anteriores, estes resultados sugerem que não há uma tendência geral a aumento ou diminuição do número cromossômico na Ordem, como um todo. A importância dos tamanhos de ramos da árvore na inferência dos caracteres cromossômicos é uma questão ainda em aberto, que requer a construção de filogenias mais completas.

INTRODUÇÃO

A Ordem Xenarthra é um dos quatro principais agrupamentos monofiléticos dentro dos mamíferos placentários (Eizirik *et al.* 2001, Murphy *et al.* 2001a; b; Delsuc *et al.* 2002; 2003; 2004). Representantes desta Ordem são encontrados desde a região centro-sul e sudeste da América do Norte até o sul da América do Sul, sendo a maioria das espécies endêmica da região neotropical (Wetzel, 1985a; b; Nowak, 1999). Postula-se que os xenartros surgiram há mais ou menos 100 milhões de anos (Springer *et al.*, 2003; Delsuc *et al.*, 2004) e que a diversificação das espécies teria se iniciado entre 80 e 65 milhões de anos atrás. A Ordem é atualmente composta por 33 espécies (tabela 1) agrupadas em quatro famílias: Dasypodidae (tatus), Bradypodidae (preguiças de três dedos), Megalonychidae (preguiças de dois dedos) e Myrmecophagidae (tamanduás) (Wetzel, 1985a; b). Recentemente, na Terceira edição do livro “Mammal species of the world” uma nova proposta de classificação ainda controversa foi apresentada por Gardner (2005 a; b), na qual as Sub-Ordens foram elevadas a Ordens, dividindo os Xenarthra em duas novas ordens: Cingulata que compreende as espécies com carapaça osteodérmica (tatus) e Pilosa, que agrupa as formas com pêlos (preguiças e tamanduás). Nesta nova classificação, o gênero *Cyclopes* (tamanduá) foi retirado da família Myrmecophagidae e situado em uma família monogenérica à parte, denominada Cyclopidae.

Estudos moleculares em xenartros com enfoque filogenético e evolutivo vêm sendo realizados desde meados da década de 1980 (De Jong *et al.*, 1985; Sarich, 1985). As filogenias moleculares propostas até então para a Ordem, utilizando tanto genes mitocondriais quanto nucleares, sugerem que a classificação taxonômica do grupo envolve sub-ordens, famílias e gêneros monofiléticos (Arnason *et al.*, 1997; Waddell *et*

al., 1999; Murphy *et al.*, 2001a; b; Eizirik *et al.*, 2001; Delsuc *et al.*, 2001; 2002; 2003; 2004), o que está de acordo com os estudos baseados em dados morfológicos (Patterson *et al.* 1992) e ecológicos (Redford, 1985).

Outra grande fonte de dados a respeito dos Xenarthra provém dos estudos em citogenética. Jorge e Pereira Jr (*in press – capítulo 1*) fizeram uma completa revisão, desde o trabalho de Beath *et al.* em 1962 até os trabalhos de Svartman *et al.* em 2005. Nesta revisão, são detalhadas as informações cromossômicas das 25 espécies cariotipadas, além de uma discussão sobre características cromossômicas da Ordem. A evolução cromossômica na Ordem Xenarthra começou a ser discutida por Jorge *et al.* (1985), sendo retomada em 2004 com o artigo de Pereira Jr *et al.*, que descreveram um novo cariótipo no gênero *Tamandua* e fizeram uma breve discussão sobre a evolução cromossômica na Família Myrmecophagidae, chegando à conclusão que houve uma tendência à redução do número cromossômico nesta família. Lizarralde *et al.* (2005), baseados nos resultados de distribuição de seqüências teloméricas na família Dasypodidae, discutiram a evolução cromossômica da Ordem Xenarthra e inferiram um processo de diminuição do número cromossômico na Ordem, como um todo. Através de estudos envolvendo a técnica de pintura cromossômica, Dobigny *et al.* (2005) e Svartman *et al.* (2006) forneceram evidências de rearranjos cromossômicos ao longo da evolução da Ordem. De fato, os mecanismos de evolução cromossômica mais freqüentemente registrados em placentários são as translocações Robertsonianas, inversões e eventos de fusão e fissão (Reig *et al.*, 1980, Jorge *et al.*, 1985; Pereira Jr *et al.*, 2004), com especial ênfase nestes dois últimos mecanismos (Weinberg, 2004). Estes mecanismos tem sido inferidos por estudos de morfologia cromossômica simples ou por técnicas de bandamento (Ag-NOR, C e G) como relatam Wurster e Benirschke (1968a; b), Wurster-Hill e Gray (1975), Bush *et al.* (1977) Howell e Black (1980) e Reig *et al.*

(1980). Nos últimos anos, o desenvolvimento de técnicas de citogenética molecular como FISH (Pardue e Gall, 1969), ZOO-FISH (Scherthan *et al.* 1994) e mapas de hibridação, vêm permitindo uma melhor visualização e compreensão dos mecanismos envolvidos no rearranjo dos cromossomos ao longo da evolução (Nilsson, 1973; Nadeau, 1989; Reid *et al.*, 1993; Bengtsson *et al.*, 1993; Scherthan *et al.*, 1994; Ehrlich *et al.*, 1997; Volleth *et al.*, 1999; Burt *et al.*, 1999; Murphy *et al.*, 2005).

O presente trabalho visa aliar os dados moleculares e de citogenética disponíveis para a Ordem Xenarthra, através do uso de métodos comparativos. Para isso, foi utilizado o maior número de seqüências moleculares possível dentre as existentes no GenBank, para a elaboração de uma hipótese filogenética, que foi utilizada para mapear todas as características dos complementos cromossômicos das espécies de cariótipos descritos.

Material e Métodos

Seqüências Utilizadas

Uma vez que estudos envolvendo métodos comparativos requerem o uso de uma hipótese filogenética, foi feita uma busca por todas as seqüências de espécies de *Xenarthra* disponíveis no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). 25 espécies de *Xenarthra* tiveram o cariótipo descrito, sendo que apenas treze delas estão presentes na melhor filogenia até então apresentada (Delsuc *et al.* 2004). Em alguns destes genes, só estão disponíveis as seqüências protéicas de depósitos relativamente antigos no GenBank. Para que a análise fosse mais inclusiva possível, foram utilizadas apenas as seqüências codificadoras de proteínas e as análises foram feitas com as seqüências de aminoácidos. A tabela 2 lista as 36 partições gênicas utilizadas, com seus respectivos números de acesso no GenBank. Como a melhor filogenia até então apresentada (Delsuc *et al.* 2004) foi feita com base em três dos 36 genes presentes na tabela 2, as análises também foram realizadas utilizando apenas os 33 genes restantes, de forma a estimar o quanto do sinal filogenético é devido exclusivamente a estes três genes.

Dados Citogenéticos

A tabela 3 contém os dados cariotípicos de 23 espécies de *Xenarthra*, que inclui o número diplóide, o número fundamental de cromossomos e a morfologia cromossômica como parâmetros de análise. Estes dados foram obtidos da literatura e compreendem todas as publicações referentes a espécies do grupo. Algumas das informações a respeito dos cariótipos são conflitantes e o cariótipo de cada espécie foi escolhido caso a caso em função da exclusão de cariótipos raros e/ou com informações imprecisas da literatura.

Construção da árvore filogenética

Como pode ser observado na tabela 2, nem todos os genes foram seqüenciados em todas as espécies incluídas nesta árvore. Diante disso, os genes foram alinhados e a árvore filogenética foi inferida através de uma abordagem de super-matriz, com os genes concatenados. O uso de dados faltantes na construção de filogenias é controverso, mas há indícios de que dados faltantes não interferem no resultado final da filogenia, além de apresentar a vantagem de poder incluir mais OTUs à inferência (Wiens, 2006), o que no caso do presente trabalho é um ponto importante para aumentar o número de espécies presentes na filogenia.

O método escolhido para construir a hipótese filogenética foi o de Máxima Parcimônia (MP). Como há controvérsias quanto ao uso de diferentes métodos em filogenias, principalmente entre métodos de verossimilhança e de parcimônia, a árvore de máxima verossimilhança (MV) também foi construída. A construção da árvore de MV requer inferência de um modelo de substituição que descreva todas as seqüências, o que foi feito com o programa ProtTest (Abascal *et al.* 2005). Como há 36 genes de diferentes genomas e com taxas de substituição diferentes na matriz de dados, é bem possível que a inferência de um modelo único não seja apropriada. Isso poderia gerar erros na filogenia, já que métodos de verossimilhança são sensíveis a modelos não apropriados (Chang, 1996; Bruno e Halpern, 1999). Além disso, alguns autores mostraram que quando há um número suficientemente grande de dados, todos os métodos tendem a gerar filogenias iguais, ou equivalentes (Nei e Kumar, 2000), o que para o propósito deste trabalho é o suficiente.

A árvore de máxima parcimônia foi construída com o auxílio do programa PAUP* (Swofford, 1998), utilizando o algoritmo de branch-and-bound, com 5000

replicações de bootstrap. A árvore de máxima verossimilhança foi construída com o programa PHYML, com 500 replicações de bootstrap.

Métodos Comparativos

O objetivo do uso de métodos comparativos neste trabalho foi o de inferir os valores dos nós ancestrais da árvore, de forma a tentar delinear como se deu a evolução cromossômica em *Xenarthra* e tentar detectar tendências de aumentos e diminuições no número total de cromossomos e no número fundamental, que podem estar correlacionadas a fusões de acrocêntricos ou submetacêntricos ou fissões de metacêntricos, bem como inversões nos cromossomos.

Para inferir os estados ancestrais dos diferentes caracteres cromossômicos, foi preciso calcular os contrastes filogenéticos de Felsenstein (1985). O cálculo dos contrastes filogenéticos requer que os tamanhos de ramos da árvore sejam dados em unidades de variância de modificações. Em teoria, uma boa estimativa destes tamanhos de ramos é a fornecida pelos tempos de divergência entre as espécies. Esta estimativa foi feita por Delsuc *et al.* (2004) e está disponível para 12 das 25 espécies cujos cariótipos foram descritos. Outra estimativa de tamanhos de ramos que pode ser utilizada é a que atribui valores unitários (=1) para todos os ramos da árvore. Como o cálculo de contrastes filogenéticos admite a existência de politomias “*soft*” na árvore (politomias devidas ao desconhecimento das relações filogenéticas em alguns ramos), foram incluídas 23 das 25 espécies com cariótipo conhecido que pertencem aos gêneros representados na árvore de MP. Os contrastes filogenéticos foram inferidos com o programa PDTREE do pacote PDAP (Garland Jr. *et al.* 1992). A inferência dos valores ancestrais foi feita com o programa ANCMML (Ludwig e Schluter 1997).

Resultados

Árvore Filogenética

A figura 1 mostra a árvore filogenética encontrada com a super-matriz de 36 genes e feita com o método de máxima parcimônia. Após a separação dos grupos de fora, Xenarthra (BT=100%) se separa em dois grandes grupos, o primeiro contendo a sub-ordem Cingulata (BT=100%) e o segundo contendo a sub-ordem Pilosa (BT=100%). Dentro do grupo contendo os cingulatos, o gênero *Dasypus* (sub-família Dasypodinae, família Dasypodidae) (BT=100%) aparece como grupo irmão de um cluster (BT=94%) que reúne as sub-famílias Tolypeutinae (gêneros *Tolypeutes*, *Cabassous* e *Priodontes*) (BT=100%) e Euphractinae (gêneros *Chaetophractus*, *Euphractus* e *Zaedyus*) (BT=100%).

O grupo que contém a sub-ordem Pilosa apresenta a família Myrmecophagidae (gêneros *Myrmecophaga*, *Tamandua* e *Cyclopes*) (BT=100%) como grupo irmão de um cluster que contém as famílias Bradypodidae (gênero *Bradypus*) (BT=100%) e Megalonychidae (gênero *Choloepus*) (BT=100%). Esta hipótese filogenética está de acordo com as filogenias anteriores apresentadas para a Ordem e reforça a idéia de que os gêneros, famílias e subfamílias são taxa monofiléticos, o que é evidenciado pelos altos valores de “bootstrap” encontrados mesmo com o uso de uma grande quantidade de dados faltantes na matriz de seqüências de aminoácidos.

A figura 2 mostra a árvore de MP que inclui apenas os 33 genes não incluídos na análise de Delsuc *et al.* (2004). A topologia é essencialmente a mesma, com exceção da posição de *Chaetophractus villosus*, que ao invés de estar agrupado com *E. sexcinctus* e *Z. pichiy*, formou um cluster com *T. matacus*, *P. maximus* e *C. uncinctus* (BT = 60%). Os valores de “bootstrap” desta árvore foram menores que a da topologia que inclui os 36 genes.

A figura 3 mostra a árvore obtida com o método de máxima verossimilhança. O modelo de substituição de aminoácidos inferido pelo programa ProtTest foi o JTT (Jones *et al.* 1992), com correções para o parâmetro gamma. O principal ponto de divergência entre esta árvore e a inferida por MP é a inclusão de um dos “out-groups”, *E. dorsatum* entre as preguiças (formou um cluster com *B. variegatus*, com bootstrap=82%).

Inferência dos cariótipos ancestrais

Como foi dito em material e métodos, a inferência de caracteres ancestrais pelos contrastes filogenéticos de Felsenstein (1985) requer um ajuste adequado dos tamanhos de ramos. Uma árvore com n OTUs (“Operation taxonomic units” - Unidades taxonômicas operacionais) contém $n - 1$ contrastes independentes. Intuitivamente, a melhor estimativa de tamanhos de ramos é dada pelos tempos de divergência. Se a evolução dos caracteres se deu por movimento Browniano, no qual aumentos e/ou diminuições do caráter ocorrem ao acaso e independentemente do valor do caráter, então os tempos de divergência entre as espécies devem ser usados. Para testar se os tempos de divergência das espécies fornecem uma estimativa adequada dos tamanhos de ramos para o estudo de caracteres cromossômicos, foi utilizada a filogenia obtida por Delsuc *et al.* (2004). Uma maneira de testar se um conjunto de tamanhos de ramos pode ser utilizado para inferir a evolução de um caráter é medindo a correlação entre o valor absoluto de cada contraste independente e seu desvio padrão, que corresponde à raiz quadrada da soma dos tamanhos de ramos. Qualquer tendência linear ou não no gráfico com significância estatística indica que os contrastes não foram corretamente padronizados, ou seja, que os efeitos de escala dos tamanhos de ramos não foram efetivamente removidos (Garland Jr *et al.* 1992).

A tabela 3 mostra as correlações entre contrastes filogenéticos e a raiz quadrada da soma dos tamanhos de ramos nas 12 espécies presentes na árvore de Delsuc *et al.* (2004). Dos cinco caracteres avaliados, apenas o correspondente à evolução do número de cromossomos metacêntricos não pôde ser corretamente avaliado pelos tamanhos de ramos baseados em tempos de divergência, posto que os valores mostraram correlação significativa ($P=0,049$). Isto significa que a quantidade de modificações nos outros caracteres: 2N, NF, submetacêntricos e acrocêntricos foi proporcional ao tempo decorrido desde a separação dos ancestrais. A figura 4 mostra a inferência dos caracteres ancestrais destes caracteres na árvore cujos tamanhos de ramos são proporcionais aos tempos de divergência.

Apesar dos tempos de divergência terem se mostrado apropriados para quatro dos cinco caracteres, é necessário ressaltar que esta árvore tem um número muito limitado de espécies, que certamente não refletem toda a variabilidade cromossômica da Ordem. Com isso, a adequação dos tamanhos de ramos também pode ser devida ao número reduzido de OTU's ou à quantidade reduzida de variabilidade nos caracteres observados. Como os cálculos de contrastes podem ser aplicados em filogenias que contenham politomias, foi testada uma topologia que contém 23 das 25 espécies com cariótipo descrito. Esta topologia de 23 espécies foi construída com base na classificação taxonômica das espécies de Xenarthra (espécies do mesmo gênero foram situadas no mesmo cluster como politomias). As árvores filogenéticas das figuras 1, 2 e 3 sugere que os gêneros *Bradypus* e *Choloepus* podem ser considerados monofiléticos. Além disso, o único ramo não resolvido na figura 1, que envolve espécies dos gêneros *Tolypeutes*, *Cabassous* e *Priodontes*, foi resolvido da mesma maneira apresentada em Delsuc *et al.* 2004. Portanto, a topologia utilizada para inferir caracteres ancestrais é uma mistura de topologias bem resolvidas e caracteres morfológicos que levaram à

classificação taxonômica. Apesar de ser uma boa hipótese filogenética para a Ordem, esta filogenia ainda precisa ser testada. Além disso, foi testada uma hipótese de tamanhos de ramos iguais em todos os ramos (tamanhos de ramos = 1). A tabela 4 mostra as correlações dos contrastes filogenéticos e a raiz quadrada da soma dos tamanhos de ramos da árvore com 23 espécies. Estes resultados mostram que todos os contrastes dos cinco caracteres aqui estudados podem ser calculados com base nesta árvore. A figura 5 mostra a inferência dos estados ancestrais dos cinco caracteres cromossômicos.

Discussão

A filogenia apresentada na figura 1 é essencialmente a mesma mostrada por Delsuc *et al.* (2004), com exceção da adição de duas novas espécies, uma do gênero *Bradypus* e outra de do gênero *Choloepus*, fornecendo mais uma evidência de que estes gêneros sejam monofiléticos. As semelhanças destas árvores podem se dever ao fato de que todos os genes apresentam um mesmo sinal filogenético, que leva à construção da topologia da figura 1. Alternativamente, pode ser que somente os genes utilizados por Delsuc *et al.* (2004) realmente tenham sinal filogenético, e que a inclusão dos demais genes é desnecessária. Para tentar visualizar apropriadamente a situação, foi construída uma árvore com todos os genes concatenados, exceto os três incluídos no trabalho de Delsuc *et al.* (2004). O resultado apresentou poucas diferenças na topologia, mas todas elas em ramos com baixos valores de “bootstrap” (abaixo de 70%), indicando que boa parte do sinal filogenético da árvore construída com o “set” completo de genes reside nos três genes utilizados por Delsuc *et al.* (2004). Por outro lado, a árvore de máxima verossimilhança (figura 3) resultou em uma topologia bem diferente de todas as hipóteses anteriores, e o único ponto de divergência é a inclusão de *E. dorsatum* entre as preguiças (*Bradypus* e *Choloepus*). Como o método de MV é muito sensível ao modelo de substituição utilizado, certamente o modelo não é o mais apropriado para inferir esta filogenia. Como se trata de um conjunto de 36 genes diferentes concatenados, é provável que a escolha de um único modelo de substituição nunca seja apropriada, seja qual for o modelo escolhido. Análises posteriores, utilizando a combinação das árvores ao invés dos genes concatenados podem ajudar a elucidar este problema.

Os resultados mostram que a melhor árvore que pode ser obtida com os dados utilizados neste trabalho é a árvore de MP mostrada na figura 1. Além de apresentar os

maiores valores de “bootstrap”, está de acordo com hipóteses anteriores, formuladas tanto com marcadores morfológicos quanto moleculares.

Apesar de ter sido construída com um método diferente (máxima parcimônia, ao invés de máxima verossimilhança) e tendo como base seqüências de aminoácidos ao invés de seqüências nucleotídicas, a árvore representada na figura 1 é basicamente a mesma mostrada por Delsuc *et al.* (2004) o que, de certa forma, evidência o alto sinal filogenético ainda encontrado nos genes de *Xenarthra*. Esta semelhança também pode significar que apenas os três genes utilizados naquele trabalho (tabela 2) são suficientes para recuperar a mesma filogenia obtida com os 36 genes aqui utilizados, o que dá uma perspectiva otimista para os próximos trabalhos envolvendo espécies de *Xenarthra*: a de seqüenciar apenas estes três genes quando novas amostras estiverem disponíveis, de modo a reduzir o esforço amostral inicial a ser feito na construção de uma hipótese filogenética contendo todas as espécies viventes.

As inferências dos cariótipos ancestrais mostradas nas figuras 4 e 5 mostram estimativas distintas. A primeira árvore (figura 4) mostra a evolução de quatro de cinco caracteres cromossômicos em relação ao tempo de divergência entre as espécies. O fato dos contrastes filogenéticos poderem ser inferidos com estes tamanhos de ramos é uma evidência de que os rearranjos cromossômicos podem ocorrer aleatoriamente ao longo do tempo, e que quanto mais tempo se passa, mais diferenças se acumulam. Por outro lado, o pequeno número de espécies incluídas na árvore pode ter enviesado este resultado. Já a segunda árvore (figura 5) contém um maior número de espécies e portanto uma porção maior da variabilidade cromossômica, que é muito grande na Ordem, a ponto de espécies de um mesmo gênero apresentarem cariótipos muito distintos. A favor da segunda árvore também está o fato de que tamanhos de ramos

iguais a 1 são apropriados para o cálculo de contrastes de todos os caracteres aqui estudados.

Considerando a segunda árvore (figura 5) como a melhor hipótese de trabalho, nota-se que não houve qualquer direcionamento na evolução cariotípica em Xenarthra, como havia anteriormente sido sugerido por Lizzaralde *et al.* (2005). No entanto, é possível inferir diversos eventos de rearranjos cromossômicos nos diferentes clados. No ramo que compreende a Família Myrmecophagidae (Wetzel, 1985a) há um padrão que sugere a ocorrência de rearranjos do tipo fusão/fissão cêntrica, sem apresentar qualquer tendência à diminuição do número de cromossomos em Myrmecophagidae, conforme foi sugerido em Pereira Jr *et al.* (2004). De fato, nas espécies dos gêneros *Tamandua*, *Myrmecophaga* e *Cyclopes* foram inferidos tanto aumentos quanto diminuições do número de cromossomos acrocêntricos em relação ao ancestral inferido, correlacionados negativamente com diminuições ou aumentos no número de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. Este mesmo processo foi observado no gênero *Tapirus* (Houck, *et al.*, 2000), no qual ocorre uma variação no número cromossômico (*T. indicus* $2n=52$; *T. pinchaque*, $2n=76$ e *T. bairdii* e *T. terrestris* $2n=80$), também explicada por eventos de fusão ou fissão cromossômica, já que as espécies com maior número diplóide possuem mais cromossomos acrocêntricos em relação as espécies que possuem menor número diplóide. Assim sendo, não se pode afirmar que haja um padrão de diminuição do conjunto cromossômico, como foi sugerido por Pereira Jr, *et al.* (2004).

No clado do gênero *Dasypus*, pode-se observar outro padrão de rearranjo cromossômico, a inversão centromérica. Este fato é comprovado pela estabilidade do número diplóide ($2n = 64$ cromossomos) em todas as espécies e pela divergência no número fundamental, que varia de $NF=76$ em *D. septemcinctus* a $NF=86$ em *D.*

hybridus. Neste caso, observa-se um aumento/redução na relação entre as quantidades de cromossomos acrocêntricos, metacêntricos e submetacêntricos, de maneira semelhante ao observado na comparações entre *Loxodonta africana* (elefante africano) e *Elephas maximus* (elefante asiático) (Houck *et al.* 2001), onde observou-se que ambas as espécies possuem $2n=56$ cromossomos diferindo apenas no número fundamental que é $NF=58$ em *L. africana* e $NF = 60$ em *E. maximus*. Dentro dos gêneros *Bradypus*, *Cabassous* e *Chaetophractus* observa-se a existência de eventos concomitantes de fusão/fissão e inversão cêntrica, sendo que os primeiros são mais comuns no gênero *Bradypus* e o segundo mais comum no gênero *Chaetophractus*. No gênero *Cabassous* não foi possível inferir qual dos eventos de rearranjo cromossômico foi preferencial.

Este trabalho, além de reforçar a hipótese filogenética corrente para a Ordem Xenarthra (Delsuc *et al.*, 2002; 2003; 2004; Murphy *et al.*, 2001a; b), sugere a ocorrência de diversos eventos de fissão/fusão e inversões cromossômicas, sem apresentar qualquer tendência geral a aumentos ou diminuições nos números cromossômicos. Resta ainda definir se estes eventos ocorreram com frequência proporcional ao tempo de divergência entre as espécies (evolução gradual), ou se ocorreram concomitantemente aos eventos de especiação dentro da Ordem (Mayr, 1970), num modelo de equilíbrio pontuado (Eldredge e Gould, 1972) de evolução. Para chegar a uma resposta mais conclusiva, será necessária a construção de uma hipótese filogenética mais inclusiva, que permita a inferência dos tempos de divergência dentro dos gêneros de Xenarthra, que apresentam apreciável variação cariotípica. A partir desta nova árvore, será possível comparar as inferências de cariótipos ancestrais obtidas com diferentes tamanhos de ramos e assim tentar estabelecer como se deu a evolução cromossômica em Xenarthra.

Referências Bibliográficas

- Abascal F, Zardoya R, Posada D. “ProtTest: Selection of bestfit models of protein evolution.” *Bioinformatics*, v° 21, p. 2104-2105, 2005
- Anderson, R. P. e Handley Jr., C. O. “A new species of three-toed sloth (Mammalia: Xenarthra) from Panama, with a review of the genus *Bradypus*” **Proceedings of the Biological Society of Washington**. v° 114, n° 1,;p 1-33. 2001
- Arnason, U., Gullberg, A. e Janke, A. Phylogenetic analyses of mitochondrial DNA suggest a sister group relationship between Xenarthra (Edentata) and ferungulates. **Mol. Biol. Evol.** V. 14, n° 7, p. 762-768, 1997.
- Beath, M.M., Bernischke, K., e Brownhill, L.E. The chromosomes of nine-banded armadillo, *Dasypus novemcinctus*. **Chromosoma**. v. 13, p. 27-38, 1962.
- Bengtsson, B.O., Levan, K.K. e Levan, G. “Measuring genome organization from synteny data.” **Cytogenet. Cell Genet.** n° 64, p. 198-200, 1993.
- Bruno, W.J. e Halpern, A.L. “Topological Bias and Inconsistency of Maximum Likelihood Using Wrong Models”. **Mol. Biol. Evol.** v°16, n°4, p. 564–566. 1999
- Burt, D.W., Brulley, C., Dunn, I.C., Jones, C.T., Ramage, A., et al. “The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals.” **Nature**, n° 402, p. 411-413, 1999.
- Bush, G.L., Case, S.M., Wilson, A.C. e Patton, J.L. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 74, n.99, p. 3942-3946, 1997
- Chang, J.T. “Inconsistency of evolutionary tree topology reconstruction methods when substitution rates vary across characters.” **Math. Biosci.** v°134, p. 189–215, 1996.
- De Jong, W. W.; Zweers, A.; Joysey, K. A.; Gleaves, J. T.; Boulter, D. “Protein sequence analysis applied to Xenarthran and Pholidote phylogeny.” In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G.G., 65-76 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Delsuc F., Stanhope M. J. e Douzery E. J. P. “Molecular systematics of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae): contribution of maximum likelihood and Bayesian analyses of mitochondrial and nuclear genes.” **Molecular Phylogeny and Evolution** v° 28, p. 261-75. 2003.
- Delsuc F., Vizcaíno S. F. e Douzery E. J. P. “Influence of Tertiary paleoenvironmental changes on the diversification of South American mammals: a relaxed molecular clock study within xenarthrans.” **Evolutionary Biology** v.4 n°11, 2004.
- Delsuc, F., Catzeflis, F. M., Stanhope, M. J. e Douzery, E. J. P. “The evolution of armadillos, anteaters and sloths depicted by nuclear and mitochondrial phylogenies:

- implications for the status of the enigmatic fossil Eurotamandua.” **Proceedings of Royal Society of London** n°268, p. 1605-15. 2001.
- Delsuc, F., Scally, M., Madsen, O., Stanhope, M. J., de Jong, W. W., Catzeflis, F. M., Springer, M. S. and Douzery, E. J. P. “Molecular phylogeny of living xenarthrans and the impact of character and taxon sampling on the placental tree rooting.” **Molecular Biology Evolution** v°19, n°10, p. 1656-1671. 2002.
- Dobigny, G., Yang, F., O’Brien, P.C.M., Volobouev, V., Kovács, et al. “Low rate of genomics repatterning in Xenarthra inferred from chromosome painting data.” **Chromosome Research**, v° 13, n° 7, p. 651-663, 2005.
- Ehrlich, J., Sankoff, D. e Nadeau, J.H. “Synteny conservation and chromosome rearrangements during mammalian evolution.” **Genetics**, v° 147, p. 289-296, 1997.
- Eizirik, E., Murphy, W.J. e O’Brien, S.J. “Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation.” **J Hered** v°92, p. 212–219, 2001.
- Eldredge N. e Gould, S. J. "Punctuated Equilibria: An Alternative to Phyletic Gradualism," p. 82-115. In: T. J. M. Schopf, ed., **Models of Paleobiology**, San Francisco, CA: Freeman, Cooper and Co., 1972.
- Felsenstein, J. “Phylogenies and the Comparative Method.” *American Naturalist*, v° 125, p. 1-15, 1985
- Gardner, A. L. Order Cingulata. v° 1:94-99, *in*: D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds. **Mammal Species of the World, Third Edition** Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2141 pp. 2005a.
- Gardner, A. L. Order Pilosa. v° 1:100-103, *in*: D. E. Wilson and D. M. Reeder, eds. **Mammal Species of the World, Third Edition** Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 2 Volumes, 2141 pp. 2005b.
- Garland Jr, T.; Harvey, P. H. e Ives, A. R. “Procedures for the analysis of comparative data using phylogenetically independent contrasts.” **Syst. Biol.** v 41, n °1, p. 18-32, 1992
- Houck, M.L., Kingswood, S.C. e Kumamoto, A.T. “Comparative cytogenetics of tapir, genus *Tapirus* (Perissodactyla, Tapiridae).” **Cytogenetic Cell Genet.** v° 89, p. 110-115, 2000.
- Houck, M.L., Kumamoto, A.T., Gallagher Jr, D.S., e Benirschke, K. “Comparative cytogenetics of african elephant (*Loxodonta africana*) and asiatic elelphant (*Elelphas maximus*).” **Cytogenetic Cell Genet.** v° 93, p. 249-252, 2001.
- Howell, W.M. e Black, D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v.36, p. 1014, 1980.

- Jones, D.T., Taylor, W.R., and Thornton, J.M. 1992. "The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences" **Bioinformatics**. v 8, p. 275-282,1992
- Jorge, W. e Pereira Jr, H.R.J. Chapter 19 - Chromosomal studies in the Xenarthra, p 217- 238. In: VIZCAINO, S. F. e LOUGHRY, W. J.eds. **The Biology of the Xenarthra**. University Press of Florida, Gainesville., in press. (Capítulo 1 desta tese)
- Jorge, W., Orsi-Souza, A. T. e Best, R. C. "The somatic chromosomes of Xenarthra." In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 121-9 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Lizarralde, M.S., Bolzán, A.D., Poljak, K., Pigozi, M.I. Bustos, J. and Merani, M.S. "Chromosomal localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in four species of armadillos (Dasypodidae) from Argentina: an approach to explaining karyotype evolution in Xenarthra." **Chromosome Research**, v° 13, n°8, p. 777-784, 2005.
- Ludwig D e Schluter D. "ANCML (Ancestor states using maximum likelihood 1.0) . <http://www.zoology.ubc.ca/~schluter/ancml.html>. 1997.
- Mayr, E. "**Populations, species and evolution.**" Harvard university press, Cambridge, Massachussets, 1970.
- Murphy, W.J., Eizirik, E., Johnson, W.E., Zhang, Y.P., Ryder, O.A., et al. "Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals." **Nature** v°409, p. 614–618, 2001a.
- Murphy, W.J., Eizirik, E., O'Brien, S.J., Madsen, O., Scally, M., et al. "Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics." **Science**, v°, 294, p. 2348–2351, 2001b.
- Murphy, W.J., Larkin, D.M., Everts-VanDer Wind, A., Bourque, G., Tesler, G., et al. "Dynamics of mammalian chromosome evolution inferred from multispecies comparative maps." **Science**, v° 309, p. 613-617, 2005.
- Nadeau, J.H. "Maps of linkage and synteny homologies between mouse and man." **Trends Genet.** n° 5, p. 82-86, 1989.
- Nadler, C.F. "Chromosomal evolution in rodents", p. 277-309. In: **Comparative mammalian cytogenetics**, edited by Benirschke, K., New York: Springer-Verlag, 1969.
- Nei, M. and S. Kumar. "**Molecular Evolution and Phylogenetics.**" Oxford University Press, New York. 2000.
- Nilsson, M.N. "A bibliography of literature concerning chromosome identification – with special reference to fluorensce and Giemsa staining techniques." **Hereditas**, v. 73 p. 259-270. 1973.

- Nowak, R. M. **Walker's mammals of the world 6th edition**, Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1999.
- Pardue, M.L. e Gall, J.G. "Molecular hybridization to radioactive DNA to the DNA of cytological preparations." **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 64, n.2 p. 600-604. 1969.
- Patterson, B., Segall, W., Turnbull, W. D., e Gaudin, T. J. "The ear region in xenarthrans (=Edentata, Mammalia). Part II. Sloths, anteaters, palaeonodonts, and a miscellany." **Fieldiana: Geology New Series.** v° 24, p. 1-79, 1992.
- Pereira, H. R. J., Jorge, W. e da Costa, M. E. L. T. "Chromosome study of anteaters (Myrmecophagidae/Xenarthra) – Preliminary report." **Genetics and Molecular Biology** v°27, n°3, p. 391-94, 2004.
- Redford, K.H. Food habitats of armadillo (Xenarthra:Dasypodidae). In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 429-437 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Reid, T., Arnold, N., Ward, D.C. e Weinberg, J. "Comparative high-resolution mapping of human and primate chromosomes by fluorescence in situ hybridization." **Genomics**, n° 18, p. 381-386, 1993.
- Reig, O.A., Aguilera, M., Barros, M.A. e Useche, M. "Chromosomal speciation in rassenkreis of venezuelan spiny rats (Genus Proechimys, Rodentia, Echimyidae)." **Genetica** v°52/53, p. 291-312. 1980.
- Sarich, V. M. "Xenarthran systematics: albumin immunological evidence". 77-81 In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 77-81 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985.
- Scherthan, H., Cremer, T., Arnason, U., Weier, H.U., Lima-de-Faria, A. et al., "Comparative chromosome painting discloses homologous segments in distantly related mammals." **Nature Genet.** n°6, p.342-347, 1994.
- Springer, M.S., Murphy, W.J. Eizirik, E. and O'Brien, S.J. "Placental mammal diversification and the the cretaceous-tertiary boundary." **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** v° 100, p. 1056-1061, 2003.
- Svartman M, Stone G e Stanyon R "The ancestral Eutherian karyotype is present in Xenarthra." **PLoS Genet.** v° 2 n°7: e109. p. 1006-1011 DOI: 10.1371/journal.pgen.0020109, 2006.
- Swofford, D.L. **PAUP* Phylogenetic Anlysis Using Parsimony (*and others methods)**. Version 4. Sinauer Associates, Suderland. 1998.
- Vizcaino, S.F. Identificacion especifica de las "mulitas", genero Dasypus L.(Mammalia, Dasypodidae), del noroeste argentino. Descripcion de una nueva especie. **Mastozoologia Neotropical.** v. 2, n° 1, p. 5-13, 1995.

- Volleth, M., Klett, C., Kollak, A., Dixkens, C., Winter, Y., Just, W., Vogel, W. and Hameister, H. "Zoo-FISH analysis in a species of the order Chiroptera: *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae)." **Chromosome Research**, n° 7, p. 57-64, 1999.
- Waddell, P.J., Cao, Y., Hauf, J. e Hasegawa, M. Using novel phylogenetic methods to evaluate mtDNA, including amino acid-invariant sites-logDet plus sites stripping, to detect internal conflicts in the data, with special reference to the positions of hedgehog, armadillo end elephant. **Systematic Biology**. v. 48, n° 1, p. 31-53, 1999.
- Weinberg, J. The evolution of eutherian chromosomes. **Current Opinion in Genetics & Development**. v.14, p.657-666, 2004.
- Wetzel, R. M. "The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata)." In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 5-21 Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985a.
- Wetzel, R. M. "Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae." In: **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas** edited by Montgomery, G. G., 23-50. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1985b.
- Wiens JJ "Missing data and the design of phylogenetic analyses." **Journal of Biomedical Informatics**, v° 39, n° 1, p. 34-42, 2006.
- Wurster, D.H. e Benirschke, K. "Chromosome studies in the superfamily Bovoidea." **Chromosoma** v° 25, p. 152-171, 1968a.
- Wurster, D.H. e Benirschke, K. "Comparative cytogenetic studies in the Order Carnivora." **Chromosoma** v° 24, p. 336-382, 1968b.
- Wurster-Hill, D.H. e Gray, C.W. "The interrelationships of chromosome banding patterns in procyonids, viverrids, and felids." **Cytogenet. Cell Genet.** v° 15, p. 306-331, 1975.

Tabela 1: Classificação da Ordem Xenarthra segundo Wetzel (1985a;b), incluindo a espécie *Bradypus pigmaeus* Anderson e Handley (2001), *Dasyopus yepesi* Vizcaíno *et al.* (1995) e *Tamandua atlantica* Pereira Jr. *et al.* (Capítulo 3).

Família	Gênero	Espécie	Nome popular	
Myrmecophagidae	<i>Myrmecophaga</i>	<i>M. tridactylus</i> L.	Tamanduá bandeira	
		<i>Tamandua</i>	<i>Tam. tetradactyla</i> L.	Tamanduá colete, Tamanduá mirim do sul, Melete
		<i>Tam. sp</i> (Pereira Jr <i>et al.</i>)	Tamanduá mirim da Mata Atlântica	
		<i>Tam. mexicana</i> (Saussure)	Tamanduá mirim do norte	
Bradypodidae	<i>Cyclopes</i>	<i>Cyc. didactylus</i> L.	Tamanduái	
	<i>Bradypus</i>	<i>B. variegatus</i> (Schinz)	Preguiça de três dedos	
		<i>B. tridactylus</i> L.	Preguiça-de-Bentinho, Aí	
		<i>B. pygmaeus</i> (Anderson)	Preguiça pigmeu	
Megalonychidae	<i>Choloepus</i>	<i>B. torquatus</i> (Desmarest)	Preguiça de coleira	
		<i>Cho. hoffmanni</i> (Peters)	Preguiça de dois dedos, preguiça-real	
		<i>Cho. didactylus</i> L.	Unau, Preguiça real, Preguiça de dois dedos	
Dasypodidae	<i>Euphractus</i>	<i>E. sexcinctus</i> L.	Tatu peludo	
	<i>Zaedyus</i>	<i>Z. pichiy</i> (Desmarest)	Pichi	
		<i>Chaetophractus</i>	<i>Cha. villosus</i> (Desmarest)	quirquinho
			<i>Cha. Vellerosus</i> (Gray)	Tatu peludo grande
			<i>Cha. nationi</i> (Thomas)	Tatu peludo andino
			<i>Priodontes</i>	<i>P. maximus</i> (Kerr)
	<i>Tolypeutes</i>		<i>Tol. tricinctus</i> L.	Tatu bola
			<i>Tol. matacus</i> (Desmarest)	Tatu bola
	<i>Chlamyphorus</i>		<i>Chl. truncatus</i> (Burmeister)	Pichiciego menor, Clamíforo truncado
			<i>Chl. retusus</i> (Harlan)	Pichiciego maior
	<i>Cabassous</i>		<i>Cab. uncinatus</i> L.	Tatu de rabo mole
			<i>Cab. centralis</i> (Miller)	Tatu de rabo mole
			<i>Cab. chacoensis</i> (Wetzel)	Tatu de rabo mole
	<i>Dasyopus</i>		<i>Cab. tatouay</i> (Desmarest)	Tatu de rabo mole
			<i>D. novemcinctus</i> L.	Tatu galinha, Tatu de nove bandas
			<i>D. septemcinctus</i> L.	Tatuetê
			<i>D. hybridus</i> (Desmarest)	Mulita
<i>D. sabanicola</i> (Mondolfi)			Tatu de savana	
		<i>D. kappleri</i> (Krauss)	Tatu galinha grande	
		<i>D. yepesi</i> (Vizcaino)	Tatu galinha	
		<i>D. pilosus</i> (Fitzinger)	Tatu galinha peludo	

Tabela 2: Seqüências de aminoácido usadas no presente trabalho, com número de acesso do Genbank e espécies já obtidas. Estão presentes nesta tabela as seis espécies usadas como grupo externo *Macroscelides proboscideus* (insetívoro afrotróide), *Loxodonta africana* (elefante africano), *Orycteropus afer* (aardvark), *Erethizon dorsatum* (porco espinho norte americano), *Talpa europea* (toupeira europeia) e *Ceratotherium simum* (rinoceronte branco).

Espécies	adenosine A3 receptor	alpha adrenergic receptor 2B *	alpha-A crystallin chain	amyloid beta precursor protein	apolipoprotein B	ATP synthase F0 subunit 6	ATP synthase F0 subunit 8	ATP7A	beta-2 adrenergic receptor	brain-derived neurotrophic factor
<i>B. tridactylus</i>		CAC16683	CAA10028			YP_220672	YP_220671			
<i>B. variegatus</i>			P02487							
<i>Cab. uncinatus</i>		CAD20476	CAA10023					AAG47415	AAG35415	AAG47478
<i>Cha. villosus</i>	AAG35118	CAC86999		AAG47351	AAP50766					
<i>D. kappleri</i>		CAD20472								
<i>D. novemcinctus</i>		CAD20471	CAA10026			NP_007464	NP_007463	AAG47414		
<i>E. sexcinctus</i>	AAG35117	CAD20473		AAG47350						
<i>P. maximus</i>		CAD20477								
<i>Tol. matacus</i>		CAD20475								
<i>Z. pichiy</i>		CAD20474								
<i>Cho. didactylus</i>	AAG35116	CAD20480	CAA10021	AAG47349		YP_220685	YP_220684	AAG47413	AAG35413	AAG47476
<i>Cho. hoffmanni</i>	AAG35115		P02486	AAG47348				AAG47412	AAG35412	AAG47475
<i>Cyc. didactylus</i>		CAC87007	CAA10022					AAG47417		
<i>M. tridactyla</i>	AAG35120	CAD20478		AAG47353				AAG47416	AAG35416	AAG47479
<i>Tam. tetractyla</i>	AAG35119	CAD20479	CAA10027	AAG47352	AAP97382	NP_659381	NP_659380			
<i>M. proboscideus</i>	AAG35129	O19025		AAG47362.	AAP50770.	NP_659305.	NP_659304.	AAL47252.		AAG47487.
<i>L. africana</i>	AAG35128.	AAF12752.		AAG47361	AAP97362	AAP97362	NP_009283.	AAG47425.	AAG35424.	AAG47486.
<i>O. afer</i>	AAG35130.	O19032.	P02501.		AAP97365.	NP_008580.	NP_008579.	AAG47427.	AAG35426.	AAG47489.
<i>E. dorsatum</i>	AAG35139	CAD20308		AAG47373	AAP50756			AAG47435	AAG47435	AAG47498
<i>T. europaea</i>		O19091.			AAP50761.	NP_037654.	NP_037653.			
<i>C. simum</i>	AAG35168.		P02479.	AAG47402.		NP_007438	NP_007437.	AAG47465.	AAG35464.	AAG47527.

* marca os genes utilizados por Delsuc *et al.* (2004)

Continuação da tabela 2

Espécies	BRCA1 *	cAMP responsive element moderator	cannabinoid receptor 1	cytochrome b	cytochrome c oxidase subunit I	cytochrome c oxidase subunit II	cytochrome c oxidase subunit III	dopamine receptor type 1a	EDG1	growth hormone receptor	Hemoglobin alpha subunit
<i>B. tridactylus</i>	AAK15589			AAX50161	YP_220669	YP_220670	YP_220673	AAO39737			P14525
<i>B. variegatus</i>				AAK13061							
<i>Cab. uncinctus</i>	AAL79924			AAK13064							
<i>Cha. villosus</i>	AAK15587	AAG47540	AAG37726						AAK01958		
<i>D. kappleri</i>	AAL79919										
<i>D. novemcinctus</i>	AAL79918				O21327	CAA72526	O21331	AAO39738	AAK01957		P01964
<i>Tol. matacus</i>	AAL79920	AAG47539	AAG37725	ABB18125							
<i>Z. pichiy</i>	AAL79921			ABB18131							
<i>Cho. didactylus</i>	AAL79923										
<i>Cho. hoffmanni</i>	AAL79922										
<i>Cyc. didactylus</i>	AAL79925	AAG47538	AAG37724	AAK13060	YP_220682	YP_220683	YP_220686		AAK01956		
<i>M. tridactyla</i>		AAG47537	AAG37723								
<i>Tam.</i>	AAL79927										
<i>tetradactyla</i>											
<i>M. proboscideus</i>	AAL79928	AAG47542	AAG37728	AAX82571	NP_659378	NP_659379	NP_659382		AAK01960	AAM71142	
<i>L. africana</i>	AAL79926	AAG47541	AAG37727	Q8LWN0	NP_659378	NP_659379	NP_659382		AAK01959	AAK71887	
<i>O. afer</i>		AAG47551	AAG37736	AAG50429	NP_659302	NP_659303	NP_659306		AAK01968	AAK71890	
<i>E. dorsatum</i>	AAK15608	AAG47550	AAG37735	AAK00854	NP_009281	NP_009282	NP_009285		AAK01967	AAK71888	P01955
<i>T. europaea</i>	AAK15617	AAG47552	AAG37738	NP_008587	NP_008577	NP_008578	NP_008581	AAO39736	AAK01970	AAM71159	
<i>C. sinum</i>	AAN77210	AAG47559	AAG37747						AAK01977	AAO73201	

* marca os genes utilizados por Delsuc *et al.* (2004)

Continuação da tabela 2

Espécies	Hemoglobina beta subunit	NADH dehidrogenase subunit 1	NADH dehidrogenase subunit 2	NADH dehidrogenase subunit 4	NADH dehidrogenase subunit 4L	NADH dehidrogenase subunit 5	NADH dehidrogenase subunit 6	NADH oxidoreductase chain I	Prepro-nociceptin	von Willebrand factor *	zinc finger protein ZFX
<i>B. tridactylus</i>	P14526	YP_220667 <u>7</u>	YP_220666 <u>8</u>	YP_220677 <u>5</u>	YP_220677 <u>5</u>	YP_220677 677	AAX50163			AAB51545	
<i>B. variegatus</i>		BAA32110						O78701			
<i>Cab. uncinatus</i>		BAA32109						O78700		CAC39204	
<i>Cha. villosus</i>		CAD44382								AAC32846	AAG38780
<i>D. kappleri</i>		CAD44380						Q70Y27		CAD20466	
<i>D. novemcinctus</i>	P02087	O21325	O21326	NP_00746 <u>8</u>	CAA72524	O21335	O21336			CAC39206	
<i>Tol. matacus</i>		CAD44381						Q70Y26		CAD20469	AAG38779
<i>Z. pichy</i>		CAD44385						Q70Y22		CAD20468	
<i>Cho. didactylus</i>		CAD44384						Q70Y23		CAD20467	
<i>Cho. hoffmanni</i>		CAD44383						Q70Y24		CAD20470	
<i>Cyc. didactylus</i>		YP_220680 <u>0</u>	YP_22068 <u>1</u>	YP_22068 <u>9</u>	AAX50177	YP_220690 90	YP_22069 <u>1</u>	Q70Y30	AAG38258	CAC39203	
<i>M. tridactyla</i>		CAD4437						Q70Y28	AAG38257	CAC39202	
<i>Tam. terradactyla</i>		CAD44378						Q70Y29	AAG38260	CAC39210	
<i>M. proboscideus</i>		NP_65937 <u>6</u>	NP_65937 <u>7</u>	CAD13416	NP_65938 <u>4</u>	CAD13418	CAD13419	O78699	AAG38259	CAC39215	AAG38781
<i>L. africana</i>		NP_65930							AAG38267	AAP86452	AAG38789
<i>O. afer</i>		NP_00927 <u>9</u>	NP_00928 <u>0</u>		NP_00928 <u>7</u>	NP_0092 89	NP_00929 <u>0</u>		AAG38266	AAB51552	AAG38788
<i>E. dorsatum</i>	P02085	CAB41621 <u>4</u>	CAB41622 <u>4</u>		CAB41629 <u>4</u>	CAB41631	CAB41632 <u>4</u>		AAG38269	AAB51554	AAG38791
<i>T. europaea</i>									AAG38277	CAC20150	AAG38799

* marca os genes utilizados por Delsuc *et al.* (2004)

Tabela 3: Representação das espécies com seus respectivos dados cromossômicos (Jorge e Pereira Jr., in press).

Espécies	2N Número diploíde	NF Número fundamental	M Metacêntrico	SM Submetacêntrico	A Acrocêntrico
<i>Euphractus sexcinctus</i>	58	104	34	14	14
<i>Zaedyus pichiy</i>	62	90	20	10	30
<i>Chaetopharctus villosus</i>	60	90	16	10	32
<i>Chaetopharctus vellorosus</i>	62	88	6	22	32
<i>Chaetopharctus nationai</i>	62	90	22	8	30
<i>Cabassous centralis</i>	62	78	10	4	46
<i>Cabassous tautouay</i>	50	68	8	12	28
<i>Cabassous unicinctus</i>	46	86	24	10	12
<i>Tolypeutes matacus</i>	38	76	36	0	0
<i>Priodontes maximus</i>	50	80	26	0	24
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	64	78	14	6	42
<i>Dasyopus septemcinctus</i>	64	76	8	6	48
<i>Dasyopus hybridus</i>	64	86	14	10	38
<i>Tamandua mexicana</i>	54	108	38	14	0
<i>Tamandua tetradactyla</i>	54	108	32	20	0
<i>Tamandua atlantica</i>	56	112	15	12	0
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	60	108	26	22	10
<i>Cyclopes didactylus</i>	64	100	20	26	16
<i>Bradypus infuscatus</i>	54	56	4	0	48
<i>Bradypus torquatus</i>	50	64	8	10	30
<i>Bradypus tridactylus</i>	52	56	6	0	44
<i>Bradypus variegatus</i>	54	58	4	0	50

Tabela 4: Correlações dos contrastes filogenéticos com a raiz quadrado da soma dos tamanhos de ramos (equivalentes aos tempos de divergência) das 12 espécies presentes na árvore apresentada em Delsuc *et al*, (2004). O valor de P foi calculado com 9 graus de liberdade.

	correlação	t-test	P
2n	0,037	0,114	0,9
NF	-0,100	-0,314	0,76
Acro	-0,380	-1,23	0,24
Meta	-0,600	-2,27	0,0494*
Submeta	-0,030	-0,092	0,92

Tabela 5: Correlações dos contrastes filogenéticos com a raiz quadrada da soma dos tamanhos de ramos (todos os tamanhos de ramos iguais a 1) de 23 das 25 espécies com cariótipo descrito. O valor de P foi calculado com 16 graus de liberdade (o número de graus de liberdade foi diminuído devido às politomias).

	correlação	t-test	P
2n	0,089	0,4	0,69
NF	0,140	0,67	0,51
Acro	-0,051	-0,229	0,82
Meta	-0,150	-0,714	0,48
Submeta	-0,042	-0,19	0,85

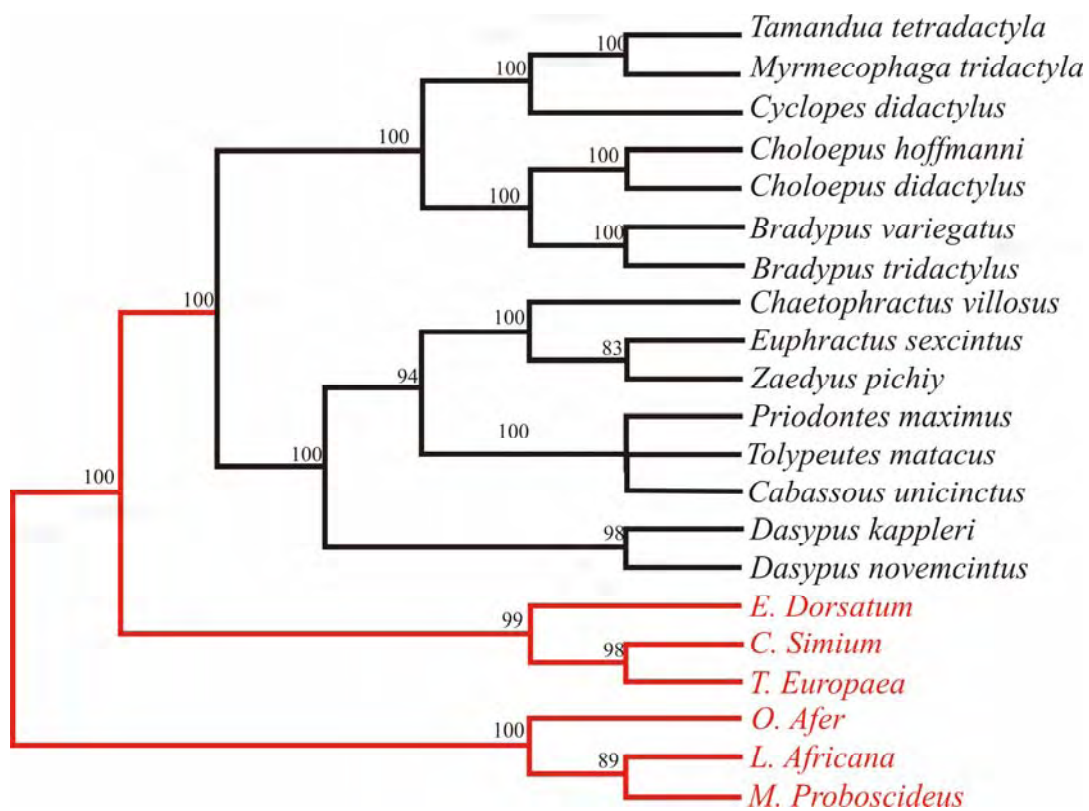


Figura 1: Árvore de máxima parcimônia dos 36 genes concatenados (tabela 2). Os valores ao lado dos ramos correspondem ao Bootstrap, com 5000 replicações.

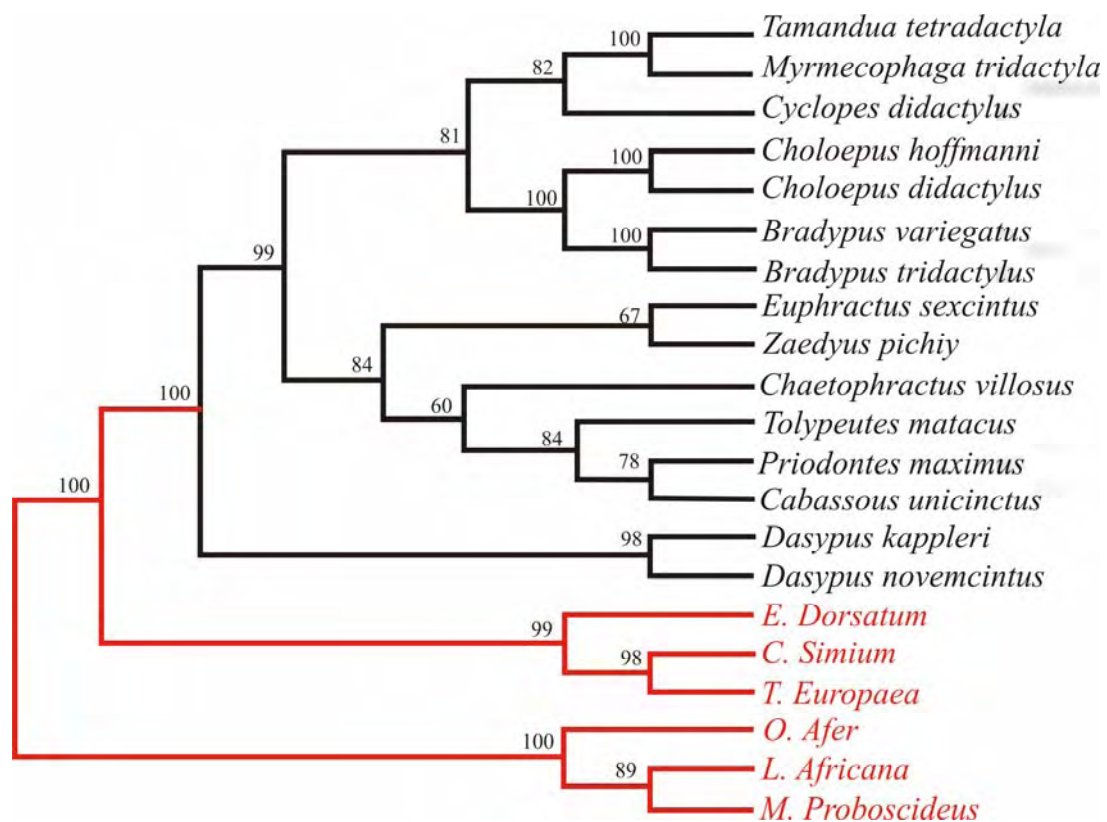


Figura 2: Árvore de máxima parcimônia de 33 dos 36 genes concatenados. Foram excluídos os 3 genes utilizados em Delsuc et al (2004) (*ADRA2B* – gene codificante do receptor adrenérgico α 2, *vWF* – gene codificante do Fator de von Willebrand, *BRCA1* – gene marcador de susceptibilidade ao câncer de mama.) para verificar o sinal filogenético dos demais genes. Os valores ao lado dos ramos correspondem ao Bootstrap, com 5000 replicações.

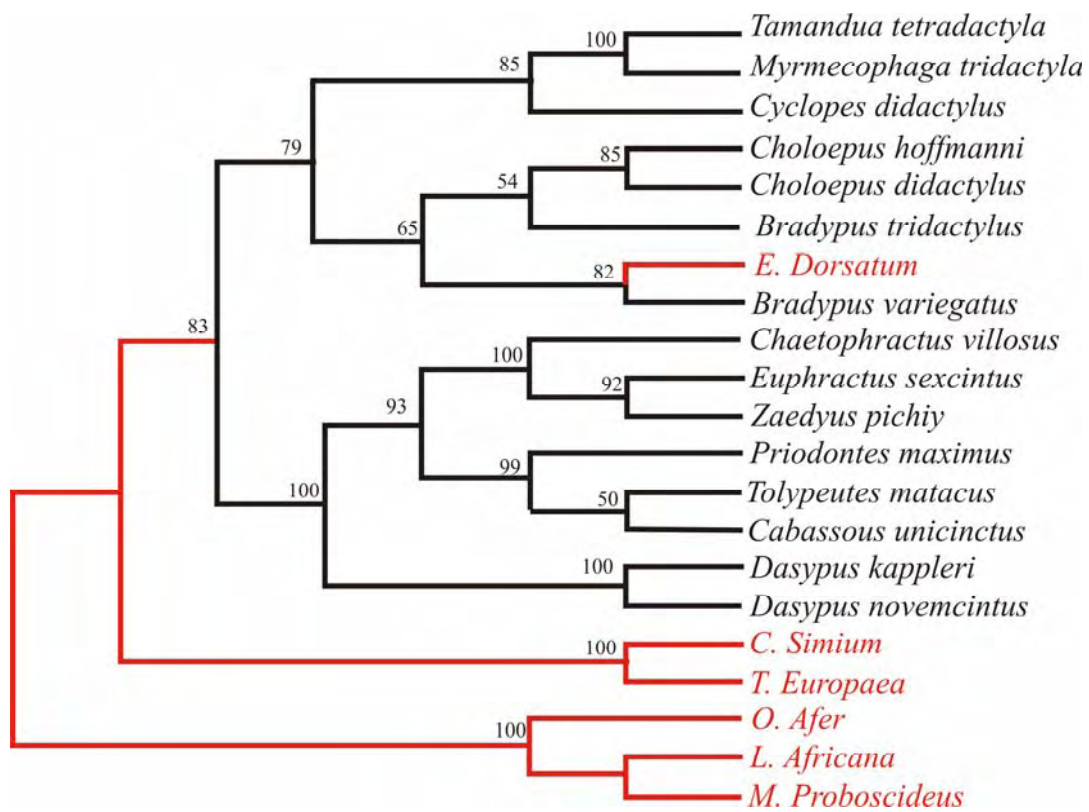


Figura 3: Árvore de máxima verossimilhança dos 36 genes concatenados (tabela 2). O modelo utilizado foi o JTT, com correção do parâmetro gama. Os valores ao lado dos ramos correspondem ao Bootstrap, com 500 replicações.

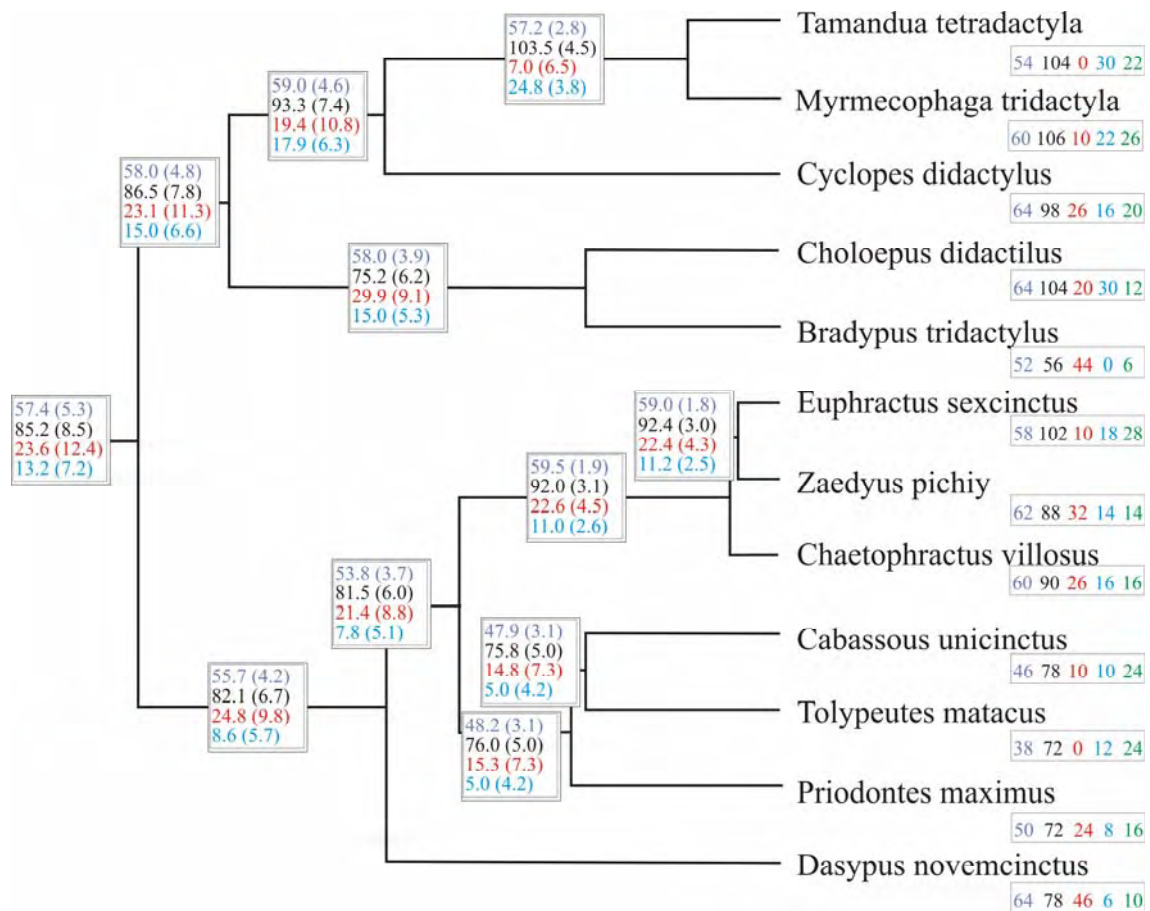


Figura 4: Inferência dos valores ancestrais do número cromossômico (2N, em azul escuro), número fundamental (em preto), número de cromossomos acrocêntricos (em vermelho) e número de cromossomos sub-metacêntricos (em azul claro), baseada em tamanhos de ramos correspondentes aos tempos de divergência. Esta árvore contém 12 das 13 espécies estudadas em Delsuc *et al.* (2004).

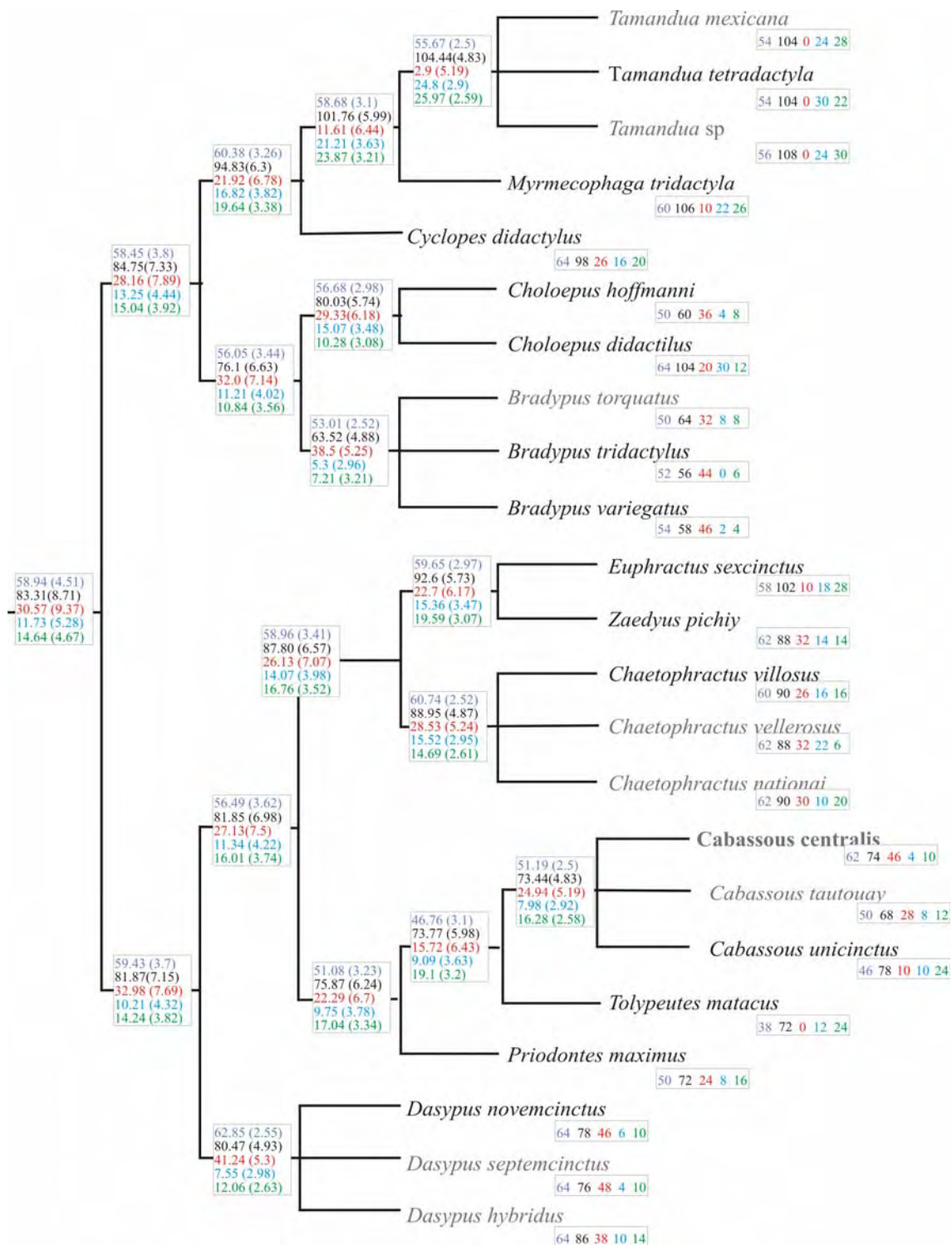


Figura 5: Inferência dos valores ancestrais do número cromossômico (2N, em azul escuro), número fundamental (em preto), número de cromossomos acrocêntricos (em vermelho), número de cromossomos sub-metacêntricos (em azul claro) e número de cromossomos metacêntricos (em vermelho), baseada em tamanhos de ramos = 1. Esta árvore contém as 15 espécies representadas na figura 1, mais 9 espécies (em cinza) incluídas em ramos politômicos contendo outras espécies do mesmo gênero.

A introdução, revisão bibliográfica, capítulo 3 e 4 seguem as normas de publicação do periódico *Current Biology*. Este é a primeira parte do anexo.

O capítulo 2 segue as normas para publicação do periódico *Genetic and Molecular Biology*. Este é a segunda parte do anexo.

O capítulo 1 por se tratar de um capítulo de livro no prelo, segue as normas da Editora University of Florida Press. Estas normas não estão presentes no anexo.

Information for Authors

Current Biology is a general journal that publishes original research across all areas of biology together with an extensive and varied set of editorial sections. A primary aim of the journal is to foster communication across fields of biology, both by publishing important findings of general interest from diverse fields and through highly accessible editorial articles that explicitly aim to inform non-specialists.

Aims and Scope

Current Biology publishes papers reporting findings in any area of biology that have sufficient claim to be of general interest – this could be, for example, because the advance is important for a specific field, or because it is intrinsically of wide interest to biologists generally. We have several formats for publishing original research – see below for details.

Presubmission and Status Inquiries

The editors strongly encourage authors who are interested in submitting work for potential publication in *Current Biology* to send a presubmission inquiry prior to any formal manuscript submission. Presubmission inquiries should include a clear abstract and a cover note explaining the significance of the advance and the potential general interest to the broad readership of *Current Biology*. All presubmission inquiries should be sent by e-mail to cbiol@current-biology.com. We shall quickly let you know our thoughts on your paper's potential suitability for *Current Biology*. We will usually reply within 24 hours, though in some cases we may seek specialist advice. In the event of a positive response, we would invite you at that point to submit your manuscript online to *Current Biology*'s Editorial Manager site (see below).

Editorial Manager identifies the status of a manuscript as “with editor” until a decision is made. If you would like more information about the status of your submitted manuscript, please email current-biology@cell.com.

Editorial Process

As mentioned above, the editors strongly encourage authors who are interested in submitting work for potential publication in *Current Biology* to send a presubmission inquiry prior to any formal manuscript submission. We shall quickly let you know our thoughts on your paper's potential suitability for *Current Biology*. We will usually reply within 24 hours, though in some cases we may seek specialist advice.

Editorial timeline

All submissions and presubmission inquiries are initially evaluated by the scientific editors. Submissions that do not conform to the general criteria for publication will be returned to the authors, without detailed review, typically within 3-5 days. Otherwise, manuscripts will be sent to reviewers who have agreed in advance to assess the paper rapidly. The Editors will make every effort to reach decisions on these papers within 3 weeks of the submission date. If revisions are a condition of publication, we generally allow two months for revisions and consider only one revised version of the paper. Accepted papers will be published within 3 months of acceptance. Any major changes after acceptance are subject to review and may delay publication.

Transfer of papers between Cell Press journals

Each Cell Press journal is editorially independent. Cell Press has developed a manuscript transfer policy designed to provide maximal flexibility, efficiency and control for the authors. If a paper is reviewed and rejected at one Cell Press journal, the Editor of that journal can, upon the author's request, make the reviews and reviewer identities available to the Editor of another Cell Press journal. Authors interested in pursuing this option should email the Editor of the second Cell Press journal directly. In many cases the second Editor will be able to reach a decision based on the advice of these reviewers. In some cases he/she may need to seek comments from additional reviewers. The authors are also free to submit the paper to another Cell Press title without mentioning the first review process, in which case the manuscript will be evaluated by the Editor and, as appropriate, reviewed independently without reference to the original reviews.

Cosubmission

In the limited number of instances where a paper is potentially appropriate in scope for the readership of two different Cell Press titles, the Cell Press journals also offer authors a unique opportunity not provided by any other journal group to submit a manuscript for joint consideration at two journals at the same time. Authors interested in pursuing this option should please contact the Editors of both journals for further information.

Editorial Policies

Manuscripts are considered with the understanding that no part of the work has been published previously in print or electronic format and the paper is not under consideration by another publication or electronic medium. All in-press or submitted works that are pertinent to the manuscript under consideration by the journal must accompany the submission. Related manuscripts that have

been submitted elsewhere during the period of revision, must accompany revised manuscripts. Failure to provide copies of related manuscripts under consideration elsewhere may be grounds for rejection. Under no circumstances will any paper be considered that contains any data that have been submitted for publication elsewhere.

Authorship

The corresponding author is responsible for ensuring that all appropriate contributors are listed as authors and that all authors have agreed to the manuscript's content and its submission to *Current Biology*. In a case where we become aware of an authorship dispute, authorship must be approved in writing by all of the parties.

Conflict of interest

Current Biology requires all authors to disclose any financial conflict of interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript. Authors must declare any such conflict in the cover letter accompanying the manuscript and in the Acknowledgments section of the manuscript itself. The corresponding author will be asked to sign a form on behalf of all the authors regarding potential conflicts of interest at the time of acceptance. As a guideline, any affiliation associated with a payment or financial benefit exceeding \$10,000 p.a. or 5% ownership of a company or research funding by a company with related interests would constitute a conflict that must be declared. This policy applies to all submitted research manuscripts and review material. Examples of statement language include: AUTHOR is an employee and shareholder of COMPANY; AUTHOR is a founder of COMPANY and a member of its scientific advisory board; This work was supported in part by a grant from COMPANY.

Studies involving humans and animals

For manuscripts reporting studies involving human subjects, statements identifying the committee approving the studies and confirming that informed consent was obtained from all subjects must appear in the Experimental Procedures section. All experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be performed in accordance with relevant institutional and national guidelines and regulations. In the manuscript, a statement identifying the committee approving the experiments and confirming that all experiments conform to the relevant regulatory standards must be included in the Experimental Procedures section. The editors reserve the right to seek comments from reviewers or additional information from authors on any cases in which concerns arise.

Distribution of materials and data

One of the terms and conditions of publishing in *Current Biology* is that authors be willing to distribute any materials and protocols used in the published experiments to qualified researchers for their own use. Materials include but are not limited to cells, DNA, antibodies, reagents, organisms, and mouse strains or if necessary the relevant ES cells. These must be made available with minimal restrictions and in a timely manner, but it is acceptable to request reasonable payment to cover the cost of maintenance and transport of materials. If there are restrictions to the availability of any materials, data, or information, these must be disclosed in the cover letter and the experimental procedures section of the manuscript at the time of submission. Where conclusions are supported by large primary datasets that are not accommodated in the paper, and for which there exist public databases generally accepted by the field, these datasets should be deposited in such databases. For example, nucleic acid and protein sequences, macromolecular structures determined by X-ray crystallography (along with structure factors), and microarray data must be deposited in the appropriate public database and must be accessible without restriction from the date of publication. An entry name or accession number must be included at the last paragraph of the Experimental Procedures section in the final version of the manuscript. Microarray data should be MIAME compliant (for guidelines see <http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html>). In addition to the information that must be deposited in public databases as detailed above, authors are encouraged to contribute additional information to the appropriate databases. Authors are also encouraged to deposit materials used in their studies to the appropriate repositories for distribution to researchers.

Open Archive

Cell Press papers are freely available starting 12 months after publication.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to transfer copyright. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information. A form facilitating transfer of copyright will be provided upon acceptance of the manuscript. After transfer of copyright, authors retain rights as discussed below.

Authors' rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use;

- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to known research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not for commercial purposes as described below);
 - post a revised personal version of the final text (including illustrations and tables) of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or your institutional website or server, with a link (through the relevant DOI) to the article as published, provided that such postings are not for commercial purposes as described below;
 - present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such meeting;
 - for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g. training);
 - retain patent and trademark rights and rights to any process or procedure described in the article;
 - include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially);
 - use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of the article in the journal); and
 - prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal.
- All copies, print or electronic, or other use of the paper or article must include the appropriate bibliographic citation for the article's publication in the journal. However you should not indicate in the citation that the version that you are reproducing or posting is the final published version as published in the journal. As an example, it may be appropriate to indicate "This paper has been submitted to *Current Biology* for consideration". Commercial purposes include: the posting by companies or their employees for use by customers (e.g. pharmaceutical companies and physician-prescribers); commercial exploitation such as associating advertising with such posting (including the linking to advertising by search engines); the charging of fees for document delivery or access; or the systematic distribution to others via e-mail lists or list servers (to parties other than known colleagues), whether for a fee or for free.

US National Institutes of Health (NIH) voluntary posting policy

Cell Press facilitates author posting in connection with the voluntary posting request of the NIH (referred to as the NIH "Public Access Policy", see <http://publicaccess.nih.gov/>) by submitting the peer-reviewed author's manuscript directly to PubMed Central on request from the author, immediately after final publication. Please e-mail us at NIHauthorrequest@elsevier.com that your work has received NIH funding (with the NIH grant/project number(s), as well as name and e-mail address of the Principal Investigator(s)) and that you intend to respond to the NIH request. Upon such confirmation, Elsevier will submit to PubMed Central on your behalf a version of your manuscript that reflects changes made in the peer review process, for public access posting 12 months after the final publication date. This will ensure that you will have responded fully to the NIH request policy. There will be no need for you to post your manuscript directly to PubMed Central.

Permissions

If excerpts from other copyrighted works are included in your manuscript, you must obtain written permission from the copyright owners and credit the sources in the article. To obtain permission to use material from Cell Press and Elsevier journals and books, e-mail permissions@elsevier.com. If you have adapted a figure from a published figure, please check with the copyright owners to see if permission is required and include a complete citation/reference for the original article. Obtaining permissions can take up to several weeks. As lack of appropriate permissions can delay publication, we recommend that you request permission at the time of submission.

Prepublication Publicity

Work intended for submission to *Current Biology*, currently under consideration at *Current Biology*, or in press at *Current Biology* may not be discussed with the media before publication. Providing preprints, granting interviews, discussing data with members of the media, or participating in press conferences in advance of publication without prior approval from the *Current Biology* editorial office may be grounds for rejection. With regards to the scientific literature, papers in press in *Current Biology* should not be discussed in reviews elsewhere prior to the date of publication. Authors are welcome to present and discuss material intended for publication in *Current Biology* at scientific meetings; however, we do require that they refrain from discussing the findings with members of the press beyond those included in the formal presentation. In addition, we encourage meeting organizers to contact our editorial office in advance of a meeting if they have any questions regarding this policy. Any questions or issues regarding prepublication publicity should be directed to the Press Officer of Cell Press, Heidi Hardman (hhardman@cell.com).

Interaction with members of the press for papers in press

Authors are free to talk with the press starting on the Tuesday of the week before publication and to release information provided that its use is embargoed until noon Eastern Time on the day of online publication. We also allow authors to discuss their work in press with other scientific journals for purposes of coverage in review material. Please refer any inquiries from other journals to us. If your press office wishes to issue a press release, they should contact us in advance for final embargo information. Any questions or issues regarding interaction with the press should be directed to the Press Officer of Cell Press, Heidi Hardman (hhardman@cell.com).

Online Submission of Research Papers

Overview

All original research papers – Articles, Reports, and Correspondence – are handled through our online submission system, Editorial Manager, at <http://www.edmgr.com/cb/>. Information regarding the organization of Articles, Reports, and Correspondence may be found in the appropriate sections below.

Please note that all editorial contributions to *Current Biology*, including Reviews and Dispatches, are typically commissioned and are handled outside the Editorial Manager system. Questions regarding editorial contributions should be directed to the editors at cbiol@current-biology.com.

Manuscript submission to Editorial Manager

Current Biology requests that authors submit research manuscripts via Editorial Manager (<http://www.edmgr.com/cb/>). An author tutorial regarding online submission is available at this Editorial Manager website. Authors may contact the editorial office for assistance (currentbiology@cell.com, or by phone at +44 20 7611 4184 or +1 617 397 2851). If you are unable to submit your manuscript online, a copy of the manuscript may be sent to Editor, *Current Biology*, Elsevier London, 84 Theobald's Road, London WC1X 8RR, UK. Please include a CD with electronic files of text and figures in the acceptable formats (see below).

Editorial Manager will prompt you to upload the individual components of your manuscript (cover letter, text, figures, supplemental data, etc.) as separate files. Upon completion of this step, the website will build a composite PDF file of your entire manuscript that will contain links for the editors and reviewers to download the individual high-resolution files of each component. Please note that the version of the PDF file that is accessible to referees does not contain the cover letter; any information therein will remain confidential.

Please be aware that Editorial Manager will send all communications about the paper (including the request for final approval and the confirmation of submission) to the person who is checked off as corresponding author during the submission process, or if no name is designated, to the person whose account is used to submit the manuscript. If you wish to specify a different author for editorial correspondence after submission please contact the editorial assistant at current-biology@cell.com.

Cover letter

Each submission should be accompanied by a cover letter, which should contain a brief explanation of what was previously known, the conceptual advance provided by the findings, and the significance of the findings to a broad readership. The cover letter may contain suggestions for appropriate referees and up to three requests for referee exclusions. The cover letter is confidential to the editors and will not be seen by referees.

Movies

Please note that Editorial Manager cannot support submission of movie files. If movies accompany your manuscript, please upload them to our FTP site:

Host name: <ftp.eslo.co.uk>

username: [eslondon](#)

password: [elsevier](#)

Directory: [/incoming/cbiol](#)

After uploading the movies by FTP, please send an e-mail to our editorial office at currentbiology@cell.com to confirm that the files have been sent. Please let us know the file name and folder name where you have dropped your movies.

Submission of revised manuscripts

In addition to the manuscript, figures, and cover letter, revised manuscripts must also contain a detailed point-by-point response to the comments of the referees and/or editors. This response will be visible to the referees. The cover letter, which will be visible only to the editors, should briefly summarize how the revised manuscript addresses these comments. In general, revised manuscripts will be considered only if resubmitted within two months of the date of the original decision.

Research Paper Formats

Current Biology publishes original, peer-reviewed research in two main papers formats: Articles and Reports (but original findings that can be presented very concisely may also be considered as Correspondence – see under Magazine section below). Papers in all formats should be written in a style that is accessible to the broad readership of *Current Biology*.

The organization of Articles and Reports is outlined below; this is followed by additional style guidelines and instructions for specific manuscript sections.

Articles

Articles present conceptual advances of unusual significance regarding a biological question of wide interest. Articles are typically limited to 10 journal pages. Non-essential information may be published online as Supplemental Data at the discretion of the editor. Manuscripts of

Articles should be divided into: Title page, Summary, Introduction, Results, Discussion, Conclusions, Experimental Procedures, Acknowledgments, References, Figure legends, and Tables.

Title page: should list names and addresses for all authors and should indicate the corresponding author. A running head of not more than 50 characters, including spaces, should be provided.

Summary: should not exceed 250 words, should contain no references, and must be structured into separate sections headed Background, Results, and Conclusions.

Introduction: must be written from the standpoint of biologists without special knowledge, must clearly state the background to the research and its aims, and should end with a brief statement of what has been achieved.

Results: should be broken into subsections with short informative subheadings.

Discussion: must discuss clearly the main conclusions of the research and give clear explanations of their importance and relevance. A separate short Conclusions section may also be included if useful.

Experimental Procedures: should be divided into subsections.

Acknowledgments: should be kept to a minimum.

References: must be cited by number consecutively in square brackets in the text. Any references that occur only in the tables or legends should be at the end of the reference list. Only papers that have been published or are in press may be included in the reference list; submitted manuscripts, personal communications (which can be included only with permission), abstracts and unpublished data should not be cited in the reference list, although they may be included in the text. Journal abbreviations follow *Index Medicus*/Medline. Up to ten authors, followed by et al. if there are more than ten authors, should be listed. References should be in *Current Biology* style, examples of which are included below. They will be typeset from disk only if they precisely follow this style. If not, they will be retyped and will require proofreading.

Figure legends: should start with a title and should not exceed one page of text.

Tables: should be titled and should not include vertical rules.

Units: should be SI throughout (except liter and molar).

Reports

Current Biology Reports present findings of broad biological interest in a concise, to-the-point style. Reports are typically limited to 5 journal pages. Non-essential information may be published online as Supplemental Data at the discretion of the editor. Please note that the organization of Reports differs somewhat from that of Articles.

Manuscripts of Reports should be divided into: Title page, Summary (unstructured), Results and Discussion, Experimental Procedures, Acknowledgments, References, Figure legends, and Tables.

Title page: should list names and addresses for all authors and should indicate the corresponding author. A running head of not more than 50 characters, including spaces, should be provided.

Summary: this should not be structured but should be written as a single paragraph that summarizes, in no more than 200 words, the background to the work, the new results to be reported and their implications; references should be cited in this paragraph. Please note that for Reports, all essential background information should be included in the summary, and that the Results and Discussion section should begin with a presentation of the new findings.

Results and Discussion: may be combined or kept separate and may be broken into subsections with short informative subheadings. The final paragraph should summarize the main findings of the research and their implications.

Experimental Procedures: should be divided into subsections. A separate section may not be necessary in a Report if methods can be described concisely and adequately in the text and figure/table legends.

Acknowledgments: should be kept to a minimum.

References: must be cited by number consecutively in square brackets in the text. Any references that occur only in the tables or legends should be at the end of the reference list. Only papers that have been published or are in press may be included in the reference list; submitted manuscripts, personal communications (which can be included only with permission), abstracts and

unpublished data should not be cited in the reference list, although they may be included in the text. Journal abbreviations follow *Index Medicus*/Medline. Up to ten authors, followed by et al. if there are more than ten authors, should be listed. References should be in *Current Biology* style, examples of which are included below. They will be typeset from disk only if they precisely follow this style. If not, they will be retyped and will require proofreading.

Figure legends: should start with a title and should not exceed one page of text.

Tables: should be titled and should not include vertical rules.

Units: should be SI throughout (except liter and molar).

Style Guidelines for All Formats

Gene symbols should be italicized; protein products of the loci are not italicized. Nonstandard abbreviations should be defined when first used in the text. Use of abbreviations should be kept at a minimum.

Manuscript file types that we can accept for submission include Word, RTF, and TXT.

Please note that the text should be double-spaced and pages should be numbered. Although summaries need to be submitted as text files separate from the body of the manuscript, they should also be included within the manuscript file as usual.

Manuscripts that do not conform to the format guidelines may be returned to the authors for reformatting.

Instructions for the Preparation of Specific Sections

Title

Titles can occupy no more than three lines of type. Each line should contain no more than 38 characters, including spaces. The title should convey the conceptual significance of the paper to a broad readership.

Authors/Affiliations

Author names should be spelled-out rather than set in initials. Authors should be footnoted to corresponding affiliations. Affiliations should contain the following core information: department(s)/subunit(s); institution; city, state/region, postal code; country.

Contact

The contact line should include the email address and phone/fax numbers of the corresponding author. One corresponding author is preferred, but two are allowed.

Additional footnotes

Footnotes are only allowed on page 1 of the text (and in tables). They may include a present address or statement of equal contribution to the manuscript.

Running title

The text should include a running title of no more than 50 characters including spaces.

Experimental Procedures

The Experimental Procedures section needs to include sufficient detail so that readers can understand how the experiments were done, and so that all procedures can be repeated, in conjunction with cited references. This section should also include a description of any statistical methods employed in the study. A more detailed version of the procedures and details such as oligo sequences, strains, and specifics of how constructs were made can be included in Supplemental Data.

References

Please use the following style for references:

Journal

1. Holmes, S., and Watson, J. (1993). Identification of the function of the moriarty gene product. *Curr. Biol.* 3, 121-129.

Journal supplement

2. Holmes, S., and Watson, J. (1993). Identification of the function of the moriarty gene product. *Curr. Biol. Suppl.* 2, 121-129.

Book

3. Doyle, A.C. (1991). *Biological Mysteries Solved*, Second Edition, (London: Science Press).

Book chapter

4. Holmes, S., and Watson, J. (1991). Identification of the function of the moriarty gene product. In *Biological Mysteries Solved*, A.C. Doyle, ed. (London: Science Press), pp. 56-62.

Acknowledgments

This section may acknowledge contributions from non-authors, list funding sources, and should include a statement of any conflict of interests. Please check this section carefully, as we are unlikely to make amendments or publish corrections post publication. This section may be used to list the contributions of individual authors.

Figure legends

Legends should be included in the submitted manuscript as a separate section. Each figure legend should have a brief title that describes the entire figure without citing specific panels, followed by a description of each panel. For any figures presenting pooled data, the measures should be defined in the figure legends (for example, data are represented as mean \pm SEM).

Tables

When creating a table, please use the Microsoft Word table function and do not place an Excel table in a Word document. Word tables should not be tab or space delineated and should not use color. Tables should include a title, and footnotes and/or legend should be concise. Include tables in the submitted manuscript as a separate section. Tables not created using the Microsoft Word table function will need to be revised by the author.

Supplemental Data

Supplemental data are restricted to items that are directly pertinent to the conclusions of the paper. Editors reserve the right to limit the scope and length of Supplemental Data. Supplemental Data should be provided with the original submission. Please follow the digital figure guidelines below for preparing figures. In general, supplemental files (movies, databases, tables, etc.) must each be less than 5 MB. All figures and tables should have titles and legends. In general, every attempt should be made to submit the Supplemental Data in a composite Word file.

Movies

Acceptable movie formats include .avi, .mpg, .mov, .qt, and .gif. Each movie should have a title and legend. Movie files should not exceed 5 MB each.

Figure organization, formats, and style

Figures must conform to the following guidelines or authors will be asked to revise them. For figures that have multiple panels, the labels should be set in uppercase Helvetica or Arial letters and should not contain periods or parentheses. Please be sure to embed all fonts. Each figure must be assembled into one file that prints onto one 8 1/2 x 11 page. Please do not include separate panels on multiple pages. Photographs should be provided with a scale bar, if appropriate.

Acceptable Figure Formats for Online Submission

- TIFF (.tif)
- Encapsulated Postscript (.eps)
- Portable Document File (.pdf)
- JPEG (.jpg) – use maximum quality

Please note that we cannot accept *PowerPoint*, *Adobe Photoshop*, or *Adobe Illustrator* files for online submission through Editorial Manager. These files must be converted to one of the above file types. Converting *PowerPoint* files frequently results in unexpected changes to the figures (e.g. missing or shifted text; shifted image elements). We recommend that you not create figures in *PowerPoint*. If you do try to convert from *PowerPoint* to one of these file types, be very careful to compare the final version to your original.

We also cannot accept image files in *Canvas*, *Freehand*, *Microsoft Word*, or *Excel*.

TIFF files (.tif)

TIFF is our preferred format.

Encapsulated Postscript files (.eps)

As with all vector files (*Adobe Illustrator*, etc.), when saving as .eps, please be sure to embed all fonts or convert to outlines or paths.

Postscript files (.ps)

There are many different drawing programs, not all of them supported by the software we use.

From almost all of these programs, you should be able to produce a postscript file. When printing, select to print to a (postscript) file, rather than printing by default to a printer. The image must be in portrait orientation. Please be sure to embed all fonts when you save as postscript.

Resolution requirements

For black and white photographs or micrographs and for any type of graph or drawing in grayscale, the resolution of your file should be a minimum of 500 dpi. For figures that contain color, the resolution should be a minimum of 300 dpi. Please note that figures should meet these resolution numbers at their approximate print sizes.

Color images

We encourage authors to use colors that can be distinguished by color-blind readers. Please submit your figures in RGB or grayscale – do not convert your files to CMYK. This will optimize their appearance online. However, please be aware that we will convert to CMYK for the print version. If possible, embed the ICC profile.

Line weights

Please make sure that all graph lines, error bars, and outlines are at least 1/2 point in weight. Lines that are less than 1/2 point may disappear or be broken during printing. If you have any

questions about digital files, please contact Kerry Evans, Senior Managing Editor of *Current Biology*, at kevans@cell.com.

Acceptable Figure Formats for Publication

- TIFF (.tif)
- Encapsulated Postscript (.eps)
- Postscript (.ps)
- Portable Document File (.pdf)
- JPEG (.jpg) – use maximum quality
- PhotoShop (all versions) (.psd)
- Adobe Illustrator (all versions) (.ai)

Please note that we cannot accept *PowerPoint* files. (See note under **Figure Organization, Formats, and Style**).

File naming

Please name files by first author and number of figure, e.g., Smith1.tif, Smith2.tif, etc.

Checklist for Accepted Manuscripts

In order for a paper to be accepted and scheduled for publication, the author will be asked to send the following items. Please refer to the letter from your editor for further details and to the additional guidelines below for final figures.

Please make sure your final manuscript:

- Meets our length restrictions
- Includes database accession numbers for new gene sequences, protein sequences, structures, or microarray data
- Includes explanation of statistical methods in the Experimental Procedures
- For any figures presenting pooled data, defines the measures in the figure legends
- Includes experimental procedures of sufficient detail

Production and Proofs

After final acceptance, the manuscript will be passed to the production team to be copyedited and prepared for printing. Authors will be charged \$500 for the first color figure and \$250 for each additional color figure. Figures may be resized during the production process. PDF proofs will arrive via email about 2 weeks prior to publication and need to be returned with vital corrections no more than 24 hours after receipt. If you will be unreachable at all during this period or anticipate any problems meeting this timeline, please contact Kerry Evans, Senior Managing Editor (kevans@cell.com).

Magazine

Current Biology's magazine section includes a lively mix of news and commentary, short- and long-format Reviews, and a rich assortment of unique didactic features. Magazine formats include News Focus and Features, Essays, "Q&A" interviews, Quick Guides, Primers, Dispatches, and Reviews. With the notable exception of Correspondence (see below), the strong majority of magazine pieces are commissioned, but we will consider suggestions of topics for potential coverage.

Correspondence

Correspondence is a flexible format that can be used to report original findings that have broad interest and can be presented concisely; to comment on something published previously in *Current Biology*; or, in principle, to make any comment that is relevant to biologists if the editors judge it to be likely to interest our readers. Any original contribution will be subject to peer review.

Style: Correspondence items should be written in a clear and accessible way. They consist of a continuous main text without any sections or sub-headings. Correspondence items do not have abstracts per se, but the first paragraph of the main text will be available in Medline. It should therefore comprise a short introduction as well as a brief summary of the most important conclusions. As part of the magazine section, Correspondence items should be particularly accessible, and the use of jargon and abbreviations should be avoided wherever possible.

Length: Correspondence items must not exceed two pages of the printed journal. This amounts to about 800 words of main text and no more than 10 references. The number of display items (figures and tables) has to be kept to a maximum of two, neither too big. Any non-essential details as well as experimental procedures can be described in an online-only supplemental section.

Submitting Correspondence: As with the other research paper formats, we strongly recommend that authors first send a pre-submission inquiry, including a summary and a cover letter highlighting the main points and the general interest of the manuscript. Presubmission inquiries should be emailed to cbiol@current-biology.com and will normally be commented on by the editors within 24 hours. In the event of a positive response, we would invite you at that point to submit your manuscript online to *Current Biology's* Editorial Manager site (see above).

Correspondence items will be peer-reviewed by the same standards as the other scientific content of *Current Biology*.

Production: Please note that editing and production of Correspondence is generally handled by the editors, rather than our US-based production team; please contact the individual editor handling your Correspondence piece for questions regarding proofs.

Figure Guidelines for Correspondence: The following packages can be used to draw your figures:

a) For schematic figures, graphs or charts:

Adobe Illustrator (up to v10)*, Canvas (up to v8), Chemdraw (.cdx), CorelDraw (up to v10), EPS (Encapsulated postscript), Freehand (up to v10), ISISDraw (.skc), PDF (from original program), Postscript, Excel, Powerpoint (if originally created in Powerpoint).

*When using Illustrator 9 or 10, please do not use any of the 'Transparency', 'Shadow' or any other of the options that are only available in Illustrator 9 or 10. This is because they do not convert out properly into any of the word processing programs.

If you have used any of the following programs to create your illustrations then please export them as either of the following: Windows Metafile (.wmf) for Treeview, SigmaPlot, Harvard Graphics, Micrographix Designer, Lotus Freelance, Microcal Origin, Statistica, Axum, GraphPad Prism (PC version); Postscript (.ps) for ClarisDraw, MacDraw Pro, Cricket Graph, Rasmol/Rasmac, Molscript/Molmol, Arcview, GraphPad Prism (Mac version).

b) For photographic images or structural representations:

Adobe Photoshop (up to v7), TIFF, JPEG*, PNG* (*These must be first generation JPEG/PNG files as quality decreases every time they are resaved.)

Importantly, please note that for photographic images or structural representations:

- All images must be supplied at 300 dpi (print resolution), not 72 dpi (screen resolution). The 300 dpi resolution must be generated in the application used to create the image and at approximately the correct size.

- For correct printing, we convert all RGB images to CMYK, which can make images less vibrant and can alter the colour.

- Images should be larger than they will appear in the journal to ensure good resolution when they are resized to our dimensions. If your system cannot produce variable output resolutions, then the image should be created at a larger size, so that the effective resolution is increased when the image is scaled down later.

Please send all text and figure files for Correspondences on a CD by mail to the editor handling your paper or via File Transfer Protocol (FTP) using any ftp client, such as Fetch or FTP explorer. Please transfer files as binary, as follows:

i) Enter website address: ftp.eslo.co.uk

ii) Login: eslondon

iii) Password: elsevier

iv) Directory: /incoming/cbiol

v) Then, please send an email to the editorial office, providing the filenames, the program used to draw the figures and the formats in which the figures have been submitted.

Contacts at *Current Biology*

- Contact the *Current Biology* **editors** at cbiol@current-biology.com for:

- presubmission inquiries
- inquiries regarding frontmatter contributions

- Contact the *Current Biology* **editorial offices** at current-biology@cell.com for:

- assistance with online submission
- assistance with FTP of movie files and cover suggestions
- manuscript status inquiries

- Contact the *Current Biology* **production team** – Kerry Evans (kevens@cell.com), Gabriel Peter-Harp (gpeter-harp@cell.com), and Shaina Copeland (scopeland@cell.com) – for:

- inquiries regarding proofs and materials needed for production of Articles and Reports

- Contact our **Press Officer**, Heidi Hardman (hhardman@cell.com) for:

- questions regarding prepublication publicity and Press issues, including embargo dates

- Contact our **Permissions Department** (permissions@elsevier.com) for:

- questions regarding use of material published in *Current Biology*



INSTRUCTIONS TO AUTHORS

ISSN 1415-4757 *printed version*
ISSN 1678-4685 *online version*

- [Scope and policy](#)
- [Submission of papers](#)

Scope and policy

Genetics and Molecular Biology (formerly named *Revista Brasileira de Genética/Brazilian Journal of Genetics* - ISSN 0100-8455) is published quarterly by the Sociedade Brasileira de Genética ([Brazilian Society of Genetics](#)).

The Journal considers contributions that present the results of original research in genetics, evolution and related scientific disciplines.

Although **Genetics and Molecular Biology** is an official publication of the Brazilian Society of Genetics, contributors are not required to be members of the Society.

It is a fundamental condition that submitted manuscripts have not been and will not be published elsewhere. With the acceptance of a manuscript for publication, the publishers acquire full and exclusive copyright for all languages and countries.

Manuscripts considered in conformity with the scope of the journal as judged by the Editor in conjunction with the Editorial Board are reviewed by the Associate Editors and two or more external reviewers. Acceptance by the Editor is based on the quality of the work as substantial contribution to the field and on the overall presentation of the manuscript.

Submission of papers

1. Manuscripts should be submitted to:

Genetics	Angela	M.	Vianna-Morgante,	Editor-in-Chief
Rua	Capitão	and	Molecular	Biology
14025-670	Ribeirão Preto,	Adelmio	Norberto da	Silva, 736
	SP - Brazil			

2. A submission package sent to the Editorial Office must contain: a) A cover letter signed by all authors stating that they have approved the submission of the manuscript and that the findings have not been published or are not under consideration for publication elsewhere.

b) A hard copy of the manuscript, including original figures.

c) A copy of any unpublished or in-press companion articles referred to in the submission.

d) An electronic copy of the text, tables and figures. Formats for text are Word or RTF,

in Windows platform. Images in TIFF or JPEG formats should be sent in separate files (For Figures, see detailed instructions in 3.1.h). Mailed disks must be labeled with the first author's last name, platform and software (see detailed instructions below). Failure to adhere to these guidelines can delay the handling of your contribution and manuscripts may be returned before being reviewed.

3. Categories of Contribution 3.1. Research Articles

Manuscripts must be written in English in double-spaced, 12-point type throughout, including the References Cited section, appendices, tables and legends; printed on one side only of A4 paper with 2.5 cm margins; marked with consecutive page numbers, beginning with the cover page.

The following elements must start on a new page and be ordered as they are listed below:

a) **The title page** must contain: a concise and informative title; the authors' names (first name at full length); the authors' institutional affiliation, including department, institution, city, state or province and country; different affiliations indicated with superscript numbers; a short running title of about 35 characters, including spaces; up to five key words; the corresponding author's name, postal address, phone and fax numbers and email address. The corresponding author is the person responsible for checking the page proofs, arranging for the payment of color illustrations and author's alteration charges.

b) **The Abstract** must be a single paragraph that does not exceed 200 words and summarizes the main results and conclusions of the study. It should not contain references.

c) **The text** must be as succinct as possible. *Text citations*: articles should be referred to by authors' surnames and date of publication; citations with two authors must include both names; in citations with three or more authors, name the first author and use *et al.* List two or more references in the same citation in chronological order, separated by semi-colons. When two or more works in a citation were published in the same year, list them alphabetically by the first author surname. For two or more works by the same author(s) in a citation, list them chronologically, with the years separated by commas. (Example: Freire-Maia *et al.*, 1966a, 1966b, 2000). Only articles that are published or in press should be cited. In the case of personal communications or unpublished results, all contributors must be listed by initials and last name (*et al.* should not be used). *Numbers*: In the text, numbers nine or less must be written out except as part of a date, a fraction or decimal, a percentage, or a unit of measurement. Use Arabic numerals for numbers larger than nine. Avoid starting a sentence with a number. *Binomial Names*: Latin names of genera, species and intraspecific taxa in the text must be printed in italics; names of orders and families should appear in the Title and also when first mentioned in the text. URLs for programs, data or other sources should be listed in the Internet Resources Section, immediately after the References Section, not in the text. URLs for citations of publications in electronic journals should appear in the reference section.

The text includes the following elements:

Introduction - Description of the background that led to the study.

Material (or Subjects) and Methods - Details relevant to the conduct of the study. Statistical methods should be explained at the end of this section.

Results - Undue repetition in text and tables should be avoided. Comment on significance of results is appropriate but broader discussion should be part of the Discussion section.

Discussion - The findings of the study should be placed in context of relevant published data. Ideas presented in other publications should not be discussed solely to make an exhaustive presentation.

Some manuscripts may require different formats appropriate to their content.

d) **The Acknowledgments** must be a single paragraph that immediately follows the discussion and includes references to grant support.

e) **The References Section:** references must be ordered alphabetically by the first author surname; references with the same first author should be ordered as follows: first, as single author in chronological order; next, with only one more co-author in alphabetical order by the second author; and finally followed by references with more than two co-authors, in chronological order, independent of the second author surnames. Use standard abbreviations for journal titles. Only articles that are published or in press should be included in this section. Works submitted to a publication but not yet accepted, personal communications and unpublished data must be cited within the text. "Personal communication" refers to individuals other than the authors of the manuscript being submitted; "unpublished data" refers to data produced by at least one of the authors of the manuscript being submitted.

Sample journal article citation:

Breuer ME and Pavan C (1955) Behaviour of polytene chromosomes of *Rhynchosciara angelae* at different stages of larval development. *Chromosoma* 7:371-386.

Yonenaga-Yassuda Y, Rodrigues MT and Pellegrino KCM (2005) Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid lizard radiation: The $X_1X_1X_2X_2 :X_1X_2Y$ sex chromosome system in *Calyptommatus* and the karyotypes of *Psilophthalmus* and *Tretioscincus* (Squamata, Gymnophthalmidae). *Genet Mol Biol* 28:700-709.

Sample book citation:

Dobzhansky T (1951) *Genetics and Origin of Species*. 3rd edition. Columbia University Press, New York, 364 pp.

Sample chapter-in-book citation:

Crawford DC and Howard-Peebles PN (2005) Fragile X: From cytogenetics to

molecular genetics. In Gersen SL and Keagle MB (eds) *The Principles of Clinical Cytogenetics*. 2nd edition. Humana Press, New Jersey, pp 495-513.

Sample electronic article citation:

Simin K, Wu H, Lu L, Pinkel D, Albertson D, Cardiff RD and Van Dyke T (2004) pRb inactivation in mammary cells reveals common mechanisms for tumor initiation and progression in divergent epithelia. *Plos Biol* 2:194-205. <http://www.plosbiology.org>.

f) **Internet Resources Section:** this section should contain a list of URLs referring to data presented in the text, software programs and other Internet resources used during data processing. When databases are cited, date of consultation must be stated.

Sample Internet resource citation:

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM> (September 4, 2005)

LEM Software, http://dir.niehs.nih.gov/dirbb/weinbergfiles/hybrid_design.htm

g) **Tables:** each table must start on a new page. A concise title should be provided above the table. Tables must be numbered consecutively in Arabic numerals. Each column must have a title in the box head. Footnotes typed directly below the table should be indicated in lowercase superscript numbers.

h) **Figures** must be numbered consecutively in Arabic numerals. Legends should be typed on a separate sheet. A set of original illustrations of the highest quality must be provided in glossy paper. If you have created figures electronically submit them also as hard copies. Scanned figures should not be submitted. Images should be in TIFF or JPEG format and provided in separate files. Figures in Word format cannot be published. Journal quality reproduction will require grayscale and color at resolution yielding 300 dpi. Authors should submit bitmapped line art at resolution yielding 600-1200 dpi. These resolutions refer to the output size of the file; if it is anticipated that images will be enlarged or reduced, the resolutions should be adjusted accordingly. Identify each illustration by affixing on the back a label containing: the number of the figure, the name of the first author and an arrow indicating top of illustration. Illustrations supplied on disks must follow instructions in item 2 (Submission package). Color illustration can be accepted, but authors are asked to defray the cost. For costs of color figures, check with the Editorial Office.

i) **Nomenclature** should adhere to current international standards.

j) **Sequences** may appear in text or in figure. DNA, RNA and protein sequences equal to or greater than 50 units must be entered into public databases. The accession number must be provided and released to the general public together with publication of the article. Long sequences requiring more than two pages to reproduce will not be published unless the Editorial decision is that the publication is necessary. Complete mtDNA sequence will not be published.

k) **Data access:** reference should be made to availability of detailed data and materials

used for reported studies.

1) **Ethical issues:** Reports of experiments on live vertebrates must include a brief statement that the institutional review board approved the work. For experiments involving human subjects, authors must also include a statement that informed consent was obtained from all subjects. If photos or any other identifiable data are included, a copy of the signed consent must accompany the manuscript.

3.2 Short Communications

Present brief observations that do not warrant full-length articles. They should not be considered preliminary communications. They should be 15 or fewer typed pages in double spaced 12-point type, including literature cited. They should include an Abstract no longer than five percent of the paper's length and no further subdivision with introduction, material and methods, results and discussion in a single section. Up to two tables and two figures may be submitted. The title page and reference section format is that of full-length article.

3.3 Letters to the Editor

Relate or respond to recent published items in the journal. Discussions of political, social and ethical issues of interest to geneticists are also welcome in this form.

3.4 Review Articles

Review Articles are welcome.

3.5 Book Reviews

Publishers are invited to submit books on Genetics, Evolution and related disciplines, for review in the journal. Aspiring reviewers may propose writing a review.

3.6 History, Story and Memories

Accounts on historical aspects of Genetics relating to Brazil.

4. Proofs Page proofs will be sent to the corresponding author. Changes made to page proofs, apart from printer's errors, will be charged to the authors. Notes added in proof require Editorial approval.

5. Reprints Reprints are free of charge and provided as a pdf-file.