



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

MITOGENÔMICA DA SUBFAMÍLIA *Callitrichinae* SENSU SCHNEIDER, 2000

FERNANDA DE NAZARÉ PEREIRA GOMES

BELÉM - PARÁ

2022

FERNANDA DE NAZARÉ PEREIRA GOMES

MITOGENÔMICA DA SUBFAMÍLIA *Callitrichinae* SENSU SCHNEIDER, 2000

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito final para a obtenção do título de doutora em Genética e Biologia Molecular.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Iracilda Sampaio

BELÉM - PARÁ

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P436m Pereira Gomes, Fernanda de Nazaré.
MITOGENÔMICA DA SUBFAMÍLIA Callitrichinae SENSU
SCHNEIDER, 2000 / Fernanda de Nazaré Pereira Gomes. — 2022.
155 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Maria Iracilda Sampaio
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e
Biologia Molecular, Belém, 2022.

1. Filogenia. 2. mtDNA. 3. Origem da Cadeia Leve. 4.
Primatas do Novo Mundo. 5. Callitrichinae. I. Título.

CDD 576

FERNANDA DE NAZARÉ PEREIRA GOMES

Data da defesa: 31/03/2022

Conceito: Excelente

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Maria Iracilda da Cunha Sampaio
Universidade Federal do Pará (Orientadora)

Marcelo Nazareno Vallinoto de Souza
Universidade Federal do Pará (Titular)

Renata Coelho Rodrigues Noronha
Universidade Federal do Pará (Titular)

Juliana Araripe Gomes da Silva
Universidade Federal do Pará (Titular)

Péricles Sena do Rego
Universidade Federal do Pará (Titular)

Cristiana Ramalho Maciel
Universidade Federal do Pará (Suplente)

Instituições e Fontes Financiadoras

Instituições

Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM), Laboratório de Evolução (LEVO).

Fontes financiadoras

Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Bolsa de Doutorado

Processo N° 88882.347945/2019-01

Aos meus pais, Iracema Pereira e Luis Maria, *in memoriam*.

Nada em biologia faz sentido a não ser à luz da evolução.

(Theodosius Dobzhansky)

AGRADECIMENTOS

Ao prof^o. Dr^o Horacio Schneider (*in memoriam*), idealizador deste projeto de pesquisa e fonte de inspiração para tantos alunos. A prof^a. Dr^a Iracilda Sampaio pelos ensinamentos, apoio, suporte e conforto quando eu mais precisei. A vocês, meu eterno carinho e gratidão.

Aos meus pais Luis Maria e Iracema Pereira (*in memoriam*), por apostar na educação como melhoria de vida e por nunca terem medido esforços para que eu pudesse ingressar na vida acadêmica. Meus exemplos de honestidade, bondade, perseverança, dedicação e amor a família. Amarei vocês por todo o sempre!

Aos meus irmãos Helder Gomes, Cleuder Luis e Luciana Gomes pelo apoio, amor, companheirismo e proteção. Por termos um ao outro em todos os momentos.

Aos meus sobrinhos Camila Gomes, Giulia Fernanda, Luis Fernando, Caio Luis e Estela Gomes por me fazerem sorrir em momentos de stress e por alegrarem minha vida desde que foram gerados. Amo vocês, minhas eternas crianças!

Ao meu esposo Custódio Júnior, não encontro as mais belas palavras para te agradecer pela luz que você emana na minha vida. Agradeço a paciência, cuidado diário e por todo incentivo. Sempre tentando me fazer enxergar as coisas com leveza e me tirando a paciência para ver o fim de tarde após um dia cansativo de trabalho. Nós vivemos um sonho, meu bem.

A Liliane Santos, jamais poderei retribuir o quanto você já fez por mim. És uma mulher extraordinária e que eu tenho muito orgulho de ter como cunhada/irmã.

A minha amiga Sheila Gomes, minha irmã de coração, nossos laços são de outras vidas. Obrigada por estar comigo todos os dias da minha vida, me incentivar, me fazer acreditar em dias melhores, por compartilhar comigo as melhores lembranças da nossa infância e adolescência e por me proporcionar a alegria de ter a Eva Gomes como afilhada.

A querida Yrlene Ferreira, amiga e companheira de laboratório, por seus ensinamentos, companheirismo e ombro amigo nas horas de desespero durante a redação desta tese.

A Luciana Watanabe pelas conversas maravilhosas e incentivo nos momentos difíceis.

A Dr^a Aurycéia Guimarães, pela ajuda com a análise dos dados, leitura e valiosas contribuições para o melhoramento deste trabalho. Agradeço a amizade de sempre, você é uma pessoa espetacular e uma profissional admirável.

Ao Dr^o Adam Bessa, pela ajuda com a análise biogeográfica e pelas sugestões para aprimorar este estudo.

Ao Luan Rabelo, pelas inúmeras vezes que facilitou a minha vida rodando meus dados no Pumas. Agradeço pelas sugestões para a melhoria deste trabalho e pela parceria no estudo de mitogenomas.

A todos os alunos do Laboratório de Genética e Biologia Molecular pelas conversas e momentos descontraídos.

Aos membros da banca de qualificação do projeto de doutorado, os pesquisadores Dr. Marcelo Vallinoto, Dr. Pedro Peloso e Dra. Cleusa Nagamachi pelas críticas, sugestões e conselhos para enriquecimento desse estudo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Ambiental pelas valiosas discussões durante as disciplinas.

A Capes pelo apoio financeiro, ao Instituto de Estudos Costeiros e a Universidade Federal do Pará pelos subsídios fornecidos.

SUMÁRIO

Capítulo I	1
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Primatas do Novo Mundo e a subfamília Callitrichinae – Uma visão geral	1
1.2 A subfamília Callitrichinae <i>sensu</i> Schneider, 2000	2
1.3 A taxonomia e a distribuição dos calitriquíneos	6
1.3.1 <i>Callimico</i>	6
1.3.2 <i>Leontopithecus</i>	7
1.3.3 <i>Saguinus</i>	9
1.3.4 <i>Leontocebus</i>	11
1.3.5 <i>Callithrix</i>	12
1.3.6 <i>Mico</i>	14
1.3.7 <i>Cebuella</i>	16
1.4 Ferramentas moleculares	16
1.4.1 O DNA mitocondrial	16
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 REFERÊNCIAS	21
4 APÊNDICES	29
Capítulo II: Filogenia molecular e reconstrução biogeográfica da subfamília Callitrichinae (Primates, Cebidae)	34
Resumo	35
1. Introdução	36
2. Material e Métodos	38

2.1. Obtenção das amostras e procedimentos laboratoriais.....	38
2.2. Alinhamento e montagem do mitogenoma.....	39
2.3. Análises Filogenéticas.....	39
2.4. Estimativa do tempo de divergência.....	40
2.5. Modelagem biogeográfica.....	40
3. Resultados.....	40
3.1. Filogenética.....	40
3.2. Tempo de divergência.....	42
4. Discussão.....	43
4.1. Filogenética.....	43
4.2. Cenário biogeográfica da subfamília Callitrichinae	46
5. Conclusões	49
6. Referências	51
Material Suplementar	67
Capítulo III: Mitogenômica comparativa revela estrutura, organização e código genético dos Primatas Neotropicais.....	70
Resumo.....	71
Introdução.....	72
Material e Métodos.....	73
 Extração de DNA, Montagem do Mitogenoma e Anotação.....	73
 Resultados e Discussão.....	74
 Estrutura, organização e composição do genoma mitocondrial.....	74
 Genes de RNA Ribossômico e de Transferência	75
 Genes Codificadores de Proteínas.....	76
 Regiões não codificadoras.....	78
 Filogenia.....	78
 Conclusões.....	78
 Referências	80
 Material Suplementar	97

Capítulo IV: Análise filogenética baseada no genoma mitocondrial completo do mico-leão de cara dourada <i>Leontopithecus chrysomelas</i> traz novos insights sobre as interações na subfamília Callitrichinae.....	117
Resumo.....	118
Introdução.....	118
Material e Métodos.....	118
Resultados e Discussões.....	119
Referências	121
Material Suplementar.....	123
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µl: microlitros;

12S: RNA ribossomal 12S;

16S: RNA ribossomal 16S;

Ala: Alanina;

Arg: Arginina;

Asn: Asparagina;

Asp: Ácido aspártico;

ATP6: ATPase subunidade 6

ATP8: ATPase subunidade 8

BEAST: *Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees*;

Cys: Cisteína;

Cytb: Citocromo Oxidase Subunidade B;

COI - III: Citocromo Oxidase Subunidade I - III;

CPRJ: Centro de Primatologia do Rio de Janeiro;

DNA: Ácido Desoxirribonucleico;

DNTP: Desoxirribonucleotídeo Fosfatado;

ESS: *Effective Sample Size*;

Gln: Glutamina;

Glu: Ácido glutâmico;

Gly: Glicina;

His: Histidina

HPD: *Highest Posterior Density*;

IB: Inferência Bayesiana;

IECOS: Instituto de Estudos Costeiros;

IUCN: União Internacional para Conservação da Natureza;

Leu: Leucina;

LGBM: Laboratório de Genética e Biologia Molecular;

Lys: Lisina;

ND1 - ND6: NADH Dehydrogenase subunidade 1 - 6;

ND4L: NADH Dehydrogenase subunidade 4L;

Ma: Milhões de anos;

MCMC: Cadeias de Markov Monte Carlo;
MEGA: *Molecular Evolutionary Genetic Analysis*;
Met: Metionina;
MgCl₂: Cloreto de magnésio;
Min: minutos;
mM: milimolar;
MRCA: Ancestral Comum Mais Recente;
mtDNA: DNA Mitochondrial
MV: Máxima Verossimilhança;
OL: Origem de Replicação da Cadeia Leve;
Pb: Pares de bases;
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase;
PEG: Polietileno glicol;
Phe: Fenilalanina;
Pro: Prolina;
RNA: Ácido Ribonucleico;
RC: Região Controle;
rRNA: Ácido Ribonucleico Ribossomal;
RSCU: Uso Relativo dos Códons Sinônimos;
seg: segundos;
Ser: Serina;
Thr: Treonina
tRNA: Ácido Ribonucleico Transportador;
Trp: Triptofano;
Tyr: Tirosina;
UFPA: Universidade Federal do Pará;
Val: Valina

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1** – Área de distribuição geográfica da subfamília Callitrichinae. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de cada gênero disponibilizados pela IUCN (2021) e corrigido com base em Kierulff et al. (2008), Porter & Garber (2004), Rylands et al. (2016), Rylands & Mittermeier (2009) e Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).....3
- Figura 2** - Mapa da distribuição geográfica de *Callimico goeldii*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição do *shape* da espécie disponibilizado pela IUCN (2021).....7
- Figura 3**- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Leontopithecus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontopithecus* disponibilizadas pela IUCN (2021).....8
- Figura 4**- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Saguinus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Saguinus* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Rylands et al. (2016).....10
- Figura 5**- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Leontocebus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontocebus* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Rylands et al. (2016).....12
- Figura 6** - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Callithrix*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontocebus* disponibilizadas pela IUCN (2021).....13
- Figura 7** - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Mico*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Mico* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Costa-Araújo et al. (2021) e Rylands & Mittermeier (2009).....15
- Figura 8** - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Cebuella*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição do *shape* de *C. pygmaea* disponibilizado pela IUCN (2021) e pela distribuição geográfica de *C. niveiventris* relatada por Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).....17

Figura 9 - Organização do mitogenoma de *Callimico goeldii* a partir dos dados gerados no presente estudo. Desenho autorizado por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....19

CAPÍTULO II

Figura 1. Área de distribuição geográfica da subfamília Callitrichinae. A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* de cada gênero disponibilizados pela IUCN (2021) e corrigido com base em Kierulff et al. (2008), Porter & Garber (2004), Rylands et al. (2016), Rylands & Mittermeier (2009) e Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).....63

Figura 2. Árvore filogenética baseada nos genes codificadores de proteínas e de RNA ribossomal do genoma mitocondrial. Suporte de *bootstrap*/probabilidade posterior para análises de MV e IB são mostrados em cada nó. Os asteriscos representam valores de *bootstrap* inferiores a 95%. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....64

Figura 3. Inferência Bayesiana da estimativa do tempo de divergência. As barras azuis indicam os 95% HPD de cada nó. Os números em cada nó indicam a estimativa de tempo de divergência. Todos os clados apresentam pp=1. Uma escala de tempo geológico é fornecida abaixo da árvore. O tempo é estimado em milhões de anos. Asterisco representa a diversificação de *C. jacchus* e *C. penicillata* (0.405 Ma).....65

Figura 4. Reconstrução da história biogeografia da subfamília Callitrichinae. As letras em cada nó representam a área ancestral reconstruída, conforme descrito na Tabela 2.....66

CAPÍTULO III

Figura 1. Genoma mitocondrial completo de *S. oedipus* e *S. leucopus*. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....84

Figura 2. Genoma mitocondrial completo de *S. martinsi* e *S. niger*. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....85

Figura 3. Genoma mitocondrial completo de *S. inustus* e *S. labiatus*. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....86

Figura 4. Genoma mitocondrial completo de *C. niveiventris* e *C. pygmaea*. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....87

Figura 5. Genoma mitocondrial completo de <i>M. humilis</i> e <i>M. humeralifer</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	88
Figura 6. Genoma mitocondrial completo de <i>M. mauesi</i> e <i>M. argentatus</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	89
Figura 7. Genoma mitocondrial completo de <i>M. rondoni</i> e <i>M. saterei</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	90
Figura 8. Genoma mitocondrial completo de <i>C. goeldii</i> e <i>L. weddelli</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	91
Figura 9. Genoma mitocondrial completo de <i>L. rosalia</i> e <i>L. chrysopygus</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	92
Figura 10. Genoma mitocondrial completo de <i>L. chrysomelas</i> e <i>C. aurita</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	93
Figura 11. Genoma mitocondrial completo de <i>C. jacchus</i> e <i>C. penicillata</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	94
Figura 12. Genoma mitocondrial completo de <i>C. geoffroyi</i> e <i>C. kuhlii</i> . Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	95
Figura 13. (A) Árvore de Máxima Verossimilhança baseada nos genes codificadores de proteínas e de RNA ribossomal do genoma mitocondrial de primatas do Novo Mundo. (B) Percentual de bases nucleotídicas de cada mitogenoma. (C) Tamanho dos genes codificadores de proteínas, genes ribossomais e da Região Controle do mtDNA. (D) Heatmap da frequência de aminoácidos de todas as espécies comparadas neste estudo.....	96
Figura S1. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas de seis espécies do gênero <i>Saguinus</i>	109
Figura S2. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero <i>Callithrix</i> analisadas no presente estudo.....	110
Figura S3. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero <i>Mico</i> sequenciadas no presente estudo.....	111
Figura S4. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero <i>Cebuella</i> sequenciadas no presente estudo.	112
Figura S5. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas de três espécies ameaçadas do gênero <i>Leontopithecus</i>	113

Figura S6. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) do mitogenoma de <i>L. weddelli</i>	114
Figura S7. Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) do genoma mitocondrial de <i>Callimico goeldii</i>	115

CAPÍTULO IV

Figura 1. Posição filogenética de <i>L. chrysomelas</i> no gênero <i>Leontopithecus</i> estimada por análise de Inferência Bayesiana. O clado que agrupa <i>L. chrysomelas</i> foi marcado em cinza.....	122
Figura S1. Genoma mitocondrial completo de <i>L. chrysomelas</i> gerado no presente estudo. Ilustração: Stephen Nash IUCN/SSC Grupo de Especialistas em Primatas.....	124
Figura S2. Estrutura secundária dos genes de tRNA do genoma de <i>L. chrysomelas</i>	126
Figura S3. Estrutura secundária da Origem de Replicação da Cadeia L (OL), de <i>L. chrysomelas</i> , posicionada entre os genes tRNAAsn e tRNACys.....	127

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Lista das amostras sequenciadas neste estudo e suas respectivas procedências.....	60
Tabela 2. Regiões biogeográficas usadas para reconstruir a história biogeográfica da subfamília Callitrichinae.	61
Tabela 3. Comparação entre os seis modelos estimados no BioGeoBEARS. Para cada modelo implementado na análise são mostrados os valores de log-verossimilhança (LnL), os números dos parâmetros, dispersão (d), extinção (e), efeito fundador (j) e os critérios de informação de AIC.....	62
Tabela S1. Primers desenvolvidos no presente estudo para a amplificação dos 26 fragmentos do genoma mitocondrial dos representantes da subfamília Callitrichinae.....	67
Tabela S2. Lista das espécies baixadas do GenBank para a análise filogenética e seus respectivos números de acesso.....	68

CAPÍTULO III

Tabela 1. Lista das amostras sequenciadas neste estudo e suas respectivas procedências.....	83
Tabela S1 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>C. goeldii</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).....	97
Tabela S2 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>C. aurita</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).....	98
Tabela S3 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>L. weddelli</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	99

Tabela S4 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>L. chrysomelas</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC)	100
Tabela S5 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>S. inustus</i> e <i>S. labiatus</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	101
Tabela S6 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>S. niger</i> , <i>S. martinsi</i> e <i>S. leucopus</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	102
Tabela S7 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>M. argentatus</i> , <i>M. rondoni</i> e <i>M. saterei</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	104
Tabela S8 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>M. humilis</i> , <i>M. humeralifer</i> e <i>M. mauesi</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	106
Tabela S9 - Anotação do genoma mitocondrial de <i>Cebuella pygmaea</i> e <i>C. niveiventris</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons (AC).	108

CAPÍTULO IV

Tabela S1 - Anotação dos genes mitocondriais de <i>L. chrysomelas</i> , incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (pesada/leve), espaçamento intergênico, <i>start</i> e <i>stop</i> códons e anticódons.....	123
--	-----

ESTRUTURA DA TESE

O presente estudo está dividido em quatro capítulos, considerando o primeiro como uma Introdução Geral e os três capítulos subsequentes como os artigos científicos que serão submetidos a revistas qualificadas na área de estudo. Abaixo segue uma breve descrição sobre o conteúdo de cada capítulo:

Capítulo I. Neste capítulo, a Introdução Geral abordará as considerações gerais sobre a subfamília Callitrichinae, destacando os aspectos que agrupam os sete gêneros estudados, as questões taxonômicas, os aspectos da ecologia e da distribuição de cada gênero, bem como os principais problemas que envolvem esse grupo de primata Neotropical e que norteiam esta pesquisa. No final deste capítulo, encontram-se os objetivos gerais e específicos deste estudo.

Capítulo II. Neste capítulo está o artigo intitulado: **Filogenia molecular e reconstrução biogeográfica da subfamília Callitrichinae (Primates, Cebidae).**

Aqui utilizamos análises filogenéticas e biogeográfica para elucidar as relações atuais de parentescos entre os gêneros da subfamília Callitrichinae e discutimos os principais eventos que norteiam a história biogeográfica deste importante grupo de primatas do Novo Mundo, com base em sequências do genoma mitocondrial completo.

Capítulo III. Neste capítulo está o artigo intitulado: **Mitogenômica comparativa revela estrutura, organização e código genético dos Primatas Neotropicais.**

Neste capítulo, realizamos um estudo comparativo com 25 mitogenomas da subfamília Callitrichinae, e fornecemos os primeiros dados de mitogenômica comparativa para os sete gêneros de Calitriquídeos. Além disso, descrevemos, pela primeira vez, o mitogenoma de representantes do gênero *Mico* e *Leontocebus*, trazendo informações de extrema relevância para o entendimento da organização do genoma e evolução dos primatas Neotropicais.

Capítulo IV. Este capítulo corresponde ao artigo intitulado: **Análise filogenética baseada no genoma mitocondrial completo do mico-leão de cara dourada *Leontopithecus chrysomelas* traz novos insights sobre as interações na subfamília Callitrichinae.**

Neste estudo, descrevemos a composição e organização do genoma mitocondrial de *Leontopithecus chrysomelas*, uma espécie de mico-leão atualmente ameaçada na natureza, e inferimos seu posicionamento filogenético no gênero *Leontopithecus* com base no genoma mitocondrial completo.

Ao final da tese está a Conclusão Integradora, a qual descreve as principais contribuições geradas a partir desta pesquisa.

RESUMO

Os primatas Neotropicais são endêmicos das Américas do Sul e Central. Dentre eles, a subfamília Callitrichinae possui a maior diversidade de espécies, reunindo os primatas de pequeno porte que ocorrem na Amazônia e na Mata Atlântica, os quais são distribuídos em sete gêneros: *Saguinus*, *Leontocebus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Callithrix*, *Mico* e *Cebuella*. A subfamília Callitrichinae é sem dúvida uma das mais complexas quanto a taxonomia e aos relacionamentos inter e intra-genéricos. As principais questões em aberto e que norteiam o desenvolvimento desta tese referem-se i) às discussões a respeito das relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Callithrix*, ii) quanto ao posicionamento do emblemático *M. humilis*, iii) à relação de parentesco entre *Saguinus* e *Leontopithecus* e iv) a relação do grupo irmão desta subfamília. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo inferir as relações de parentesco dentro de um quadro biogeográfico condizente com a distribuição dos primatas Neotropicais e, desta forma, avançar o conhecimento acerca da história evolutiva da subfamília Callitrichinae com base em sequências do genoma mitocondrial. Os resultados produzidos sobre a mitogenômica comparativa evidenciaram que o genoma mitocondrial dos primatas Neotropicais corresponde a uma molécula de dupla fita circular, composta por 38 genes, dos quais 13 genes são codificadores de proteínas, 22 de tRNA, 2 de rRNA e duas regiões não codificadoras. Com exceção do gene ND6 e de oito genes de tRNA, todos os outros genes são codificados na cadeia pesada. Os resultados do presente estudo evidenciaram a presença de uma sequência não codificadora com cerca de 32 pb entre os genes de tRNA Asparagina e Cisteína. Os genes codificadores de proteínas apresentaram quatro diferentes *start* códons: ATG, ATA e ATT e GTG. Foram observados quatro *stop* códons completos: TAG, TGA, TAA e AGG, este último exclusivo do gene COI. O uso de aminoácidos mostra que a Isoleucina, Leucina, Prolina, Serina e Treonina foram dominantes em relação aos demais aminoácidos. Estes aminoácidos são, em sua maioria, compostos por A ou T na segunda e terceira posição do códon, contribuindo para o viés A+T em todo o mitogenoma. Não observamos rearranjos de genes em todo o genoma mitocondrial, e nas famílias Cebidae, Atelidae e Pitheciidae, a região controle é a principal fonte de variação no tamanho dos mitogenomas. As análises de Máxima Verossimilhança e de Inferência Bayesiana foram congruentes e recuperaram o monofiletismo do gênero *Mico*, incluindo o mico-anão *M. humilis*. A estimativa de tempo de divergência mostrou que o surgimento de *M. humilis* e de *C. aurita* ocorreu praticamente num mesmo momento e reforça a proposta de que “*humilis*” pertence a *Mico* e não ao gênero *Callibella*. As topologias refutaram *Saguinus* e *Leontopithecus* como grupo-irmãos. No presente estudo, *Aotus* foi recuperado como grupo-irmão dos Cebídeos, estando estes mais proximamente relacionados com a subfamília Callitrichinae. A reconstrução do cenário biogeográfico revelou que o ancestral dos calitriquídeos possuía ampla distribuição nas regiões florestais de Imeri, Napo e Negro há 19.3 Ma. O padrão de diversificação dos gêneros *Leontopithecus* e *Callithrix* corroborou a hipótese de conexão entre a Amazônia e a Mata Atlântica. Ocorreram várias colonizações na Mata Atlântica, primeiro por *Leontopithecus* há cerca de 18 Ma e mais tarde por *Callithrix* por volta de 5.1 Ma. Na bacia Amazônica, a diversificação dos gêneros *Leontocebus* e *Saguinus* ocorreu aproximadamente há 13.1 Ma, e posteriormente, *Cebuella* e *Mico* diversificaram há 8.1 Ma. As mudanças no sistema de drenagem fluvial da Amazônia, formações geológicas e as mudanças climáticas do Plio-Pleistoceno foram os principais impulsionadores da origem e diversificação das espécies atuais de Calitriquíneos. Este estudo, traz pela primeira vez, dados de todos os gêneros de Calitriquíneos refletindo as reais relações de parentesco e discutindo os principais eventos que norteiam a história biogeográfica deste importante grupo de primatas do Novo Mundo.

Palavras-chave: Filogenia, mtDNA, Origem da Cadeia Leve, Primatas do Novo Mundo, Callitrichinae.

ABSTRACT

Neotropical primates are endemic to South and Central America. Among them, the subfamily Callitrichinae has the greatest diversity of species, bringing together the small primates that occur in the Amazon and Atlantic Forest, which are distributed in seven genera: *Saguinus*, *Leontocebus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Callithrix*, *Mico* and *Cebuella*. The Callitrichinae subfamily is undoubtedly one of the most complex, in terms of taxonomy and inter- and intra-generic relationships. The main open questions that guide the development of this thesis refer to i) the discussions about the phylogenetic relationships between the species of the genus *Callithrix*, ii) the positioning of the emblematic *M. humilis*, iii) the kinship between *Saguinus* and *Leontopithecus* and iv) the relationship of the sister group of this subfamily. Therefore, the present study aimed to infer kinship relationships within a biogeographic framework consistent with the distribution of Neotropical primates and, in this way, advance knowledge about the evolutionary history of the subfamily Callitrichinae based on mitochondrial genome sequences. The results produced on comparative mitogenomics showed that the mitochondrial genome of Neotropical primates corresponds to a circular double-stranded molecule, composed of 38 genes, of which 13 genes code for proteins, 22 for tRNA, 2 for rRNA and two non-coding regions. With the exception of the ND6 gene and eight tRNA genes, all other genes are encoded in the heavy chain. The results of the present study showed the presence of a non-coding sequence with approximately 32 bp between the tRNA genes Asparagine and Cysteine. Protein-coding genes had four different start codons: ATG, ATA and ATT and GTG. Four complete stop codons were observed: TAG, TGA, TAA and AGG, the latter exclusive to the COI gene. The use of amino acids shows that Isoleucine, Leucine, Proline, Serine and Threonine were dominant in relation to the other amino acids. These amino acids are mostly composed of A or T in the second and third codon positions, contributing to the A+T bias throughout the mitogenome. We did not observe gene rearrangements throughout the mitochondrial genome, and in the Cebidae, Atelidae and Pitheciidae families, the control region is the main source of variation in mitogenome size. The Maximum Likelihood and Bayesian Inference analyzes were congruent and recovered the monophyly of the genus *Mico*, including the dwarf tamarin *M. humilis*. The divergence time estimate showed that the emergence of *M. humilis* and *C. aurita* occurred practically at the same time and reinforces the proposal that “*humilis*” belongs to *Mico* and not to the genus *Callibella*. Topologies refuted *Saguinus* and *Leontopithecus* as sister groups. In the present study, *Aotus* was recovered as a sister group to the Cebids, which are more closely related to the subfamily Callitrichinae. The reconstruction of the biogeographic scenario revealed that the callitrichid ancestor had a wide distribution in the forest regions of Imeri, Napo and Negro for 19.3 Ma. The pattern of diversification of the genera *Leontopithecus* and *Callithrix* corroborated the hypothesis of a connection between the Amazon and the Atlantic Forest. The data indicate that there were several colonizations in the Atlantic Forest, first by *Leontopithecus* around 18 Ma and later by *Callithrix* around 5.1 Ma. In the Amazon basin, the diversification of the *Leontocebus* and *Saguinus* genera occurred approximately 13.1 Ma ago, and later, *Cebuella* and *Mico* diversified in 8.1 Ma. Changes in the Amazon river drainage system, geological formations, and Plio-Pleistocene climate change were the main drivers of the origin and diversification of present-day Callitrichine species. This study, for the first time, brings data from all genera of Callitrichines, reflecting the real kinship relationships and discussing the main events that guide the biogeographic history of this important group of New World primates.

Keywords: Phylogeny, mtDNA, Origin of Light Strand, New World Primates, Callitrichinae

Capítulo I

Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO

1.1 Primatas do Novo Mundo e a subfamília Callitrichinae – Uma visão geral

Os primatas neotropicais, também chamados de Platyrrhini ou primatas do Novo Mundo, são endêmicos das Américas do Sul e Central (HERSHKOVITZ, 1977). Estima-se que provavelmente tenham se originado há cerca de 43,5 milhões de anos a partir de um ancestral comum com primatas do Velho Mundo, os Catarrhini (PERELMAN et al. (2011). Atualmente, são reconhecidos 19 gêneros de primatas do Novo Mundo agrupados em três famílias, Cebidae, Atelidae e Pitheciidae, sendo a família Cebidae, por sua vez, subdividida nas subfamílias Cebinae, Aotinae e Callitrichinae (SCHNEIDER, 2000; SCHNEIDER & SAMPAIO, 2015). Tradicionalmente, a subfamília Callitrichinae Gray, 1821 compreenderia os seguintes gêneros: *Callithrix* Erxleben, 1777; *Cebuella* Gray, 1866; *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807; *Leontopithecus* Lesson, 1840 e *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911.

Os pequenos micos da Amazônia juntamente com os da mata Atlântica eram formalmente considerados como pertencentes ao gênero *Callithrix* (HERSHKOVITZ, 1977). Entretanto, estudos apoiados em dados moleculares e biogeográficos (SCHNEIDER et al., 1993, 1996; RYLANDS et al., 2000) propuseram a manutenção do nome *Callithrix* para os micos da mata Atlântica e a denominação de *Mico* Lesson, 1840 para os micos da região Amazônica.

Van Roosmalen & Van Roosmalen (2003) realizaram uma análise filogenética envolvendo vários gêneros da subfamília Callitrichinae e concluíram que uma espécie de mico de pequeno porte (*Mico humilis*) que eles haviam descoberto há algum tempo (VAN ROOSMALEN et al., 1998) era suficientemente distinta de *Cebuella* e dos demais micos e que, portanto, deveria ser considerada como um novo gênero. Este gênero, então, foi denominado de *Callibella* Van Roosmalen & Van Roosmalen, 2003.

Entretanto, Schneider et al. (2012) realizaram um estudo muito mais extensivo demonstrando inequivocamente a existência de três linhagens independentes de micos, sendo uma na Mata Atlântica (*Callithrix*), e duas na Amazônia (*Mico* e *Cebuella*), e a relação monofilética do gênero *Mico* incluindo o mico-anão (*M. humilis*), indicando conclusivamente o pertencimento deste táxon ao gênero *Mico*.

Buckner et al. (2015), com base em sequências do genoma mitocondrial e em genes nucleares propuseram um novo arranjo taxonômico para o até então gênero *Saguinus*. Suas análises corroboraram a existência de dois grandes clados dentro de *Saguinus*, como observado em estudos anteriores (ARARIPE et al., 2008; TAGLIARO et al., 2005). O primeiro clado

refere-se aos grandes micos e o segundo compreende todas as espécies do grupo *nigricollis* ou de pequeno porte.

Ainda de acordo com o trabalho de Buckner et al. (2015), as análises de tempo de divergência demonstraram que os dois grandes grupos morfológicos divergiram há cerca de 9,1 Ma, mostrando-se superior ao tempo de divergência observado entre outros gêneros de primatas neotropicais (*Cebuella* x *Mico*: 4,5 Ma; *Cebus* x *Sapajus*: 6,2 Ma). Os dois subclados existentes em *Saguinus* resultantes dessa divisão não são apenas geneticamente divergentes, mas também são diferenciados por características morfológicas, ecológicas, biogeográficas e comportamentais (BUCKNER et al., 2015; MATAUSCHEK et al., 2011). Buckner et al. (2015) sugerem a divisão de *Saguinus* em dois gêneros. Desta forma, o gênero *Saguinus* passa a agrupar apenas as espécies de grande porte e o novo gênero, *Leontocebus*, compreende todas as espécies de pequeno porte (BUCKNER et al., 2015).

1.2 A subfamília Callitrichinae *sensu* Schneider, 2000

A subfamília Callitrichinae possui uma grande diversidade de espécies, constituindo a subfamília mais rica em espécies de primatas do Novo Mundo (RYLANDS et al., 2000). Algumas destas espécies são atualmente consideradas pela União Internacional para Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN), em perigo ou vulneráveis à extinção na natureza como consequência do desmatamento, fragmentação de habitat, expansão da área urbana e construção de rodovias (IUCN, 2021; RYLANDS et al., 2008) (Apêndice 1). Atualmente a subfamília Callitrichinae agrupa sete gêneros que incluem os saguis amazônicos (*Mico* e *Cebuella*), os saguis da Mata Atlântica (*Callithrix*), o macaco goeldi (*Callimico*), micos (*Saguinus* e *Leontocebus*) e os micos-leões (*Leontopithecus*) (SCHNEIDER et al., 2012; RYLANDS et al., 2016). São reconhecidas 43 espécies, totalizando 64 táxons válidos, incluindo espécies e subespécies (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009; MATAUSCHEK et al., 2011; COSTA-ARAÚJO et al., 2021) (Apêndice 2).

Os calitriquíneos apresentam ampla distribuição na Região Neotropical, ocorrendo do norte da Colômbia e Panamá ao sul do Brasil, onde exploram os mais diversificados tipos de habitats (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009) (Figura 1). Este grupo de primata do Novo Mundo é composto por pequenos macacos diurnos que apresentam grande variação na coloração da pelagem, pequeno tamanho corporal, unhas em forma de garras, exceto no polegar (ausente em *Callimico*); molares com três cúspides e ausência de terceiro molar, exceto em

Callimico, que apresenta o terceiro molar de forma reduzida; parto gemelar (exceto em *Callimico*, que apresenta parto com apenas um filhote) (CORTÉS-ORTIZ, 2009; HERSHKOVITZ, 1977; PORTER & GARBER, 2004). Sua alimentação é muito variada, sendo a dietarica em frutos, insetos, néctar, exsudados e pequenos vertebrados (VAN ROOSMALEN & VAN ROOSMALEN, 2016).

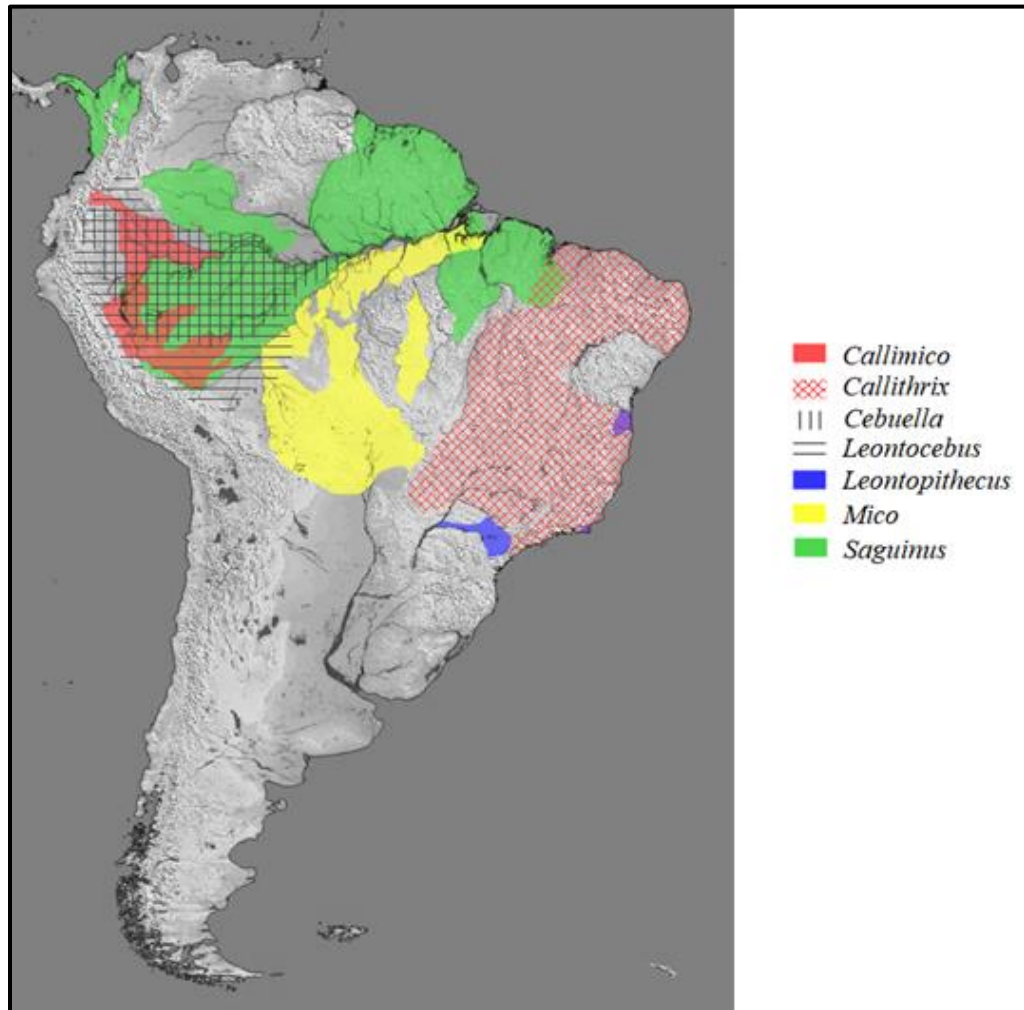


Figura 1 – Área de distribuição geográfica da subfamília Callitrichinae. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de cada gênero disponibilizados pela IUCN (2021) e corrigido com base em Kierulff et al. (2008), Porter & Garber (2004), Rylands et al. (2016), Rylands & Mittermeier (2009) e Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).

A adição de novos gêneros na subfamília Callitrichinae, como *Mico* e *Leontocebus*, está intimamente relacionada a resultados de filogenias moleculares, e que tem gerado motivos de grandes debates entre grupos que defendem a redução do número de gêneros, com base em alta

similaridade genérica entre táxons, e os defensores da manutenção do status genérico de algumas formas tradicionais (BUCKNER et al., 2015; GROVES, 2012, 2016; MATAUSCHEK et al., 2011; RYLANDS et al., 2000; SCHNEIDER et al., 1993; SILVA et al., 2018).

Em um estudo pioneiro envolvendo 16 gêneros de primatas do Novo Mundo, Schneider et al. (1993), publicaram a primeira filogenia molecular a partir de sequências do gene Epsilon-globina. De acordo com estes dados, os gêneros *Aotus*, *Cebus* e *Saimiri* mostraram-se mais estritamente relacionados aos calitriquíneos do que com as demais linhagens de platirrinos, e *Callimico* revelou-se como o grupo irmão de *Callithrix-Cebuella*.

Barroso et al. (1997) sugeriram, com base em análises de sequências do gene IRBP, que *Cebuella pygmaea* fosse alocado no gênero *Callithrix*. De acordo com os autores, *Cebuella pygmaea* é mais semelhante às espécies de *Callithrix* da Amazônia do que *Callithrix* da Amazônia versus *Callithrix* da Mata Atlântica, justificando assim o posicionamento de *Cebuella* como espécie de *Callithrix*.

A similaridade genética entre *Cebuella* e as espécies de *Callithrix* da Amazônia foi avaliada por Rylands et al. (2000). Neste estudo, os autores defenderam a manutenção do gênero *Cebuella*, com base em suas especializações morfológicas e no seu tamanho diminuto, as quais são características que o diferenciam das espécies de *Callithrix* da Amazônia. Para que *Cebuella* fosse mantido como um gênero distinto, Rylands e colaboradores propuseram que os dois grupos de *Callithrix* (grupo *jacchus* e grupo *argentata*) deveriam ser nominados como gêneros diferentes. Desta forma, os autores propuseram o resgate do nome *Mico* Lesson, 1840 para representar o gênero que passa a agrupar as espécies amazônicas de *Callithrix*, e o nome *Callithrix* foi mantido, para representar as espécies da Mata Atlântica.

Uma nova espécie amazônica que havia sido descrita como *Callithrix humilis* (VAN ROOSMALEN et al., 1998) foi elevada ao status genérico, sendo nominada de *Callibella humilis* por van Roosmalen & van Roosmalen (2003). De ocorrência em uma pequena área no meio da distribuição de *Mico* e *Cebuella*, no interflúvio entre os rios Madeira e Aripuanã, *Callibella humilis* possui a menor distribuição dentre os pequenos primatas da Amazônia (VAN ROOSMALEN et al., 1998), o seu status genérico foi defendido com base em uma filogenia molecular a partir de sequências da Região Controle do DNA mitocondrial, em que *C. humilis* aparece externamente ao agrupamento de *Cebuella* e as espécies de *Mico* (VAN ROOSMALEN & VAN ROOSMALEN, 2003).

Schneider et al. (2012) fizeram uma reanálise dos dados mitocondriais usados por Van

Roosmalen & Van Roosmalen (2003), e adicionaram novos dados de sequências de segmentos de inserções Alu do genoma nuclear. Os resultados deste estudo demonstraram que *C. humilis* está mais estreitamente relacionado a *Mico* do que a *Cebuella*. Com base nesse novo arranjo filogenético e nos níveis de divergência nucleotídica, Schneider et al. (2012) defenderam que *Callibella humilis* deveria “retornar” ao seu status original de espécie de *Mico*.

Silva et al. (2018), utilizando dados de sequências nucleares e do gene citocromo b do genoma mitocondrial e dados de caracteres cranianos, sugeriram que *M. humilis* deveria ser realocado no gênero *Callibella* mesmo já tendo sido comprovado a sua proximidade com as espécies do gênero *Mico* em estudos moleculares (SCHNEIDER et al. 2012) e morfológicos (GARBITO, 2015a, b). Silva et al. (2018) argumentaram que as linhagens *Callibella* e *Mico* começaram a divergir há aproximadamente 2,3 Ma, que é menor do que a divergência mínima de 4 Ma sugerida por Goodman et al. (1998) para separação entre gêneros distintos.

O gênero *Callithrix* era formado por dois grupos formalmente definidos: o grupo “*jacchus*” com distribuição geográfica na Mata Atlântica, e o grupo “*argentata*” distribuído na região Amazônica (RYLANDS et al., 2000; TAGLIARO et al. 1997). O grupo *argentata* foi investigado em alguns estudos que evidenciaram a estreita relação entre os gêneros *Cebuella* e *Mico* (CANAVEZ et al. 1999; CHAVES et al. 1999; TAGLIARO et al. 1997). O estudo de Tagliaro et al. (1997) não resolveu a relação entre *C. jacchus*, *C. kuhli*, *C. penicillata* e *C. geoffroyi*, no entanto, os resultados mostraram claramente que *C. aurita* é a linhagem mais basal do grupo da Mata Atlântica.

As análises realizadas por Sena et al. (2002), utilizando sequências do gene citocromo oxidase subunidade II (COII), mostraram *Callithrix* como grupo irmão de *Mico*. Dentro do gênero *Mico* observa-se a formação de três clados distintos: i) um clado formado por *M. humeralifer*, *M. mausei*, *M. saterei* e *M. melanurus*; ii) um clado é representado pela espécie de *Mico cf. emiliae* de Rondônia e iii) um terceiro clado composto por *M. argentatus* e *M. emiliae* do Pará.

Apesar dos inúmeros trabalhos utilizando dados moleculares, a maioria dos estudos se baseou em um pequeno número de marcadores, ou quando utilizava muitos marcadores, os estudos não abrangiam a totalidade dos gêneros representantes da subfamília (BUCKNER et al., 2015; FINSTERMEIER et al., 2013; PERELMAN et al., 2011; SCHNEIDER et al., 2012; SENA et al., 2002, TAGLIARO et al., 1997). O estudo com o número mais extensivo de espécies de primatas foi certamente o de Perelman et al. (2011). Neste trabalho, apenas *Mico humilis* não foi amostrado, e foi revelada a possível distinção dos grupos *oedipus* e *midas* no

gênero *Saguinus*, o *status* taxonômico de *labiatus*, assim como a relação de *Leontopithecus* com *Saguinus* e *Leontocebus*.

Por outro lado, Finstermeier et al. (2013), publicaram a primeira filogenia dos primatas do Novo Mundo baseados no sequenciamento completo do DNA mitocondrial. No entanto, não exploraram toda a diversidade encontrada em *Saguinus* e *Leontocebus*, assim como não incluíram o gênero *Callimico* e o disputado *Mico humilis* e talvez por esta razão não tenham resolvido as relações de parentesco entre os gêneros da subfamília Callitrichinae.

Quanto aos relacionamentos inter e intra-genéricos, a subfamília Callitrichinae é sem dúvida uma das mais complexas (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009). Além da definição de qual gênero se diversificou primeiro (se *Saguinus* ou *Leontopithecus*), várias questões da taxonomia, de *Callithrix*, *Mico* e *Cebuella* ainda merecem atenção.

1.3 A taxonomia e a distribuição geográfica dos calitriquíneos

1.3.1 *Callimico*

Herskovitz (1977), colocou o pequeno *Callimico goeldii* em sua própria família, Callimiconidae, baseado em características que o distingue dos demais calitriquíneos como a presença do terceiro molar de forma reduzida e nascimento de um único filhote por gestação. Por outro lado, esta espécie também apresenta afinidades com os calitriquíneos como a presença de unhas em forma de garras em todos os dígitos (exceto o hálux), o pequeno tamanho corporal (aproximadamente 500 g) e o cuidado cooperativo com os infantis, características que lhe conferiram o atual posicionamento como gênero da subfamília Callitrichinae (FORD, 1986; KAY, 1990; PORTER & GARBER, 2004).

Estudos morfológicos, reprodutivos e moleculares fornecem evidências consistentes de que o pequeno *Callimico goeldii* compartilha um ancestral comum mais recente com os saguis (*Callithrix*, *Cebuella* e *Mico*) (BARROSO et al., 1997; BUCKNER et al., 2015; NEUSSER et al., 2001; PASTORINI et al., 1988; SCHNEIDER & SAMPAIO 2015). *Callimico* é considerado o único gênero de primata monotípico da região neotropical (PORTER et al., 1997). Pode ser encontrado na Bolívia, Colômbia, Peru, no Brasil está presente nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia (Figura 2) (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009).

A espécie *Callimico goeldi* forrageia preferencialmente em locais com floresta de bambu, em áreas de sub-bosque se alimentam nos níveis mais baixos da floresta a procura de artrópodes em galhos expostos e na serapilheira (PORTER & GARBER, 2004). Por não apresentarem

nenhuma forma de territorialidade, frequentemente são observados em associação com grupos de espécies de *Saguinus* (MITTERMEIER et al., 2013).

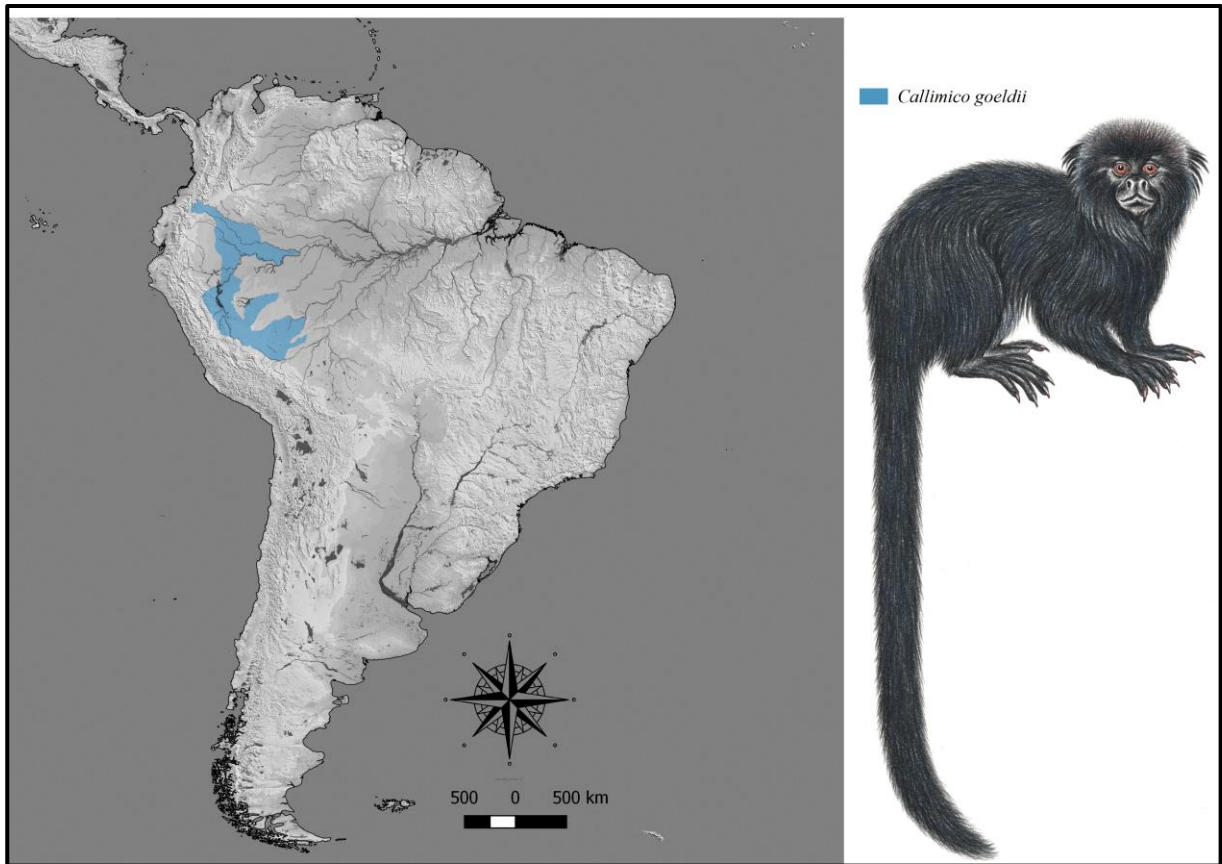


Figura 2 - Mapa da distribuição geográfica de *Callimico goeldii*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição do *shape* da espécie disponibilizado pela IUCN (2021).

1.3.2 *Leontopithecus*

O gênero *Leontopithecus* agrupa atualmente quatro espécies de micos-leões que são facilmente distinguidos usando padrões cromáticos: *L. rosalia* (mico leão-dourado), *L. chrysomelas* (mico-leão-de-cara-dourada), *L. caissara* (mico-leão-de-cara-preta) e *L. chrysopygus* (mico-leão-preto) (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009). *L. caissara* encontra-se criticamente ameaçado enquanto as demais espécies estão sob ameaça, resultado de ações antropogênicas como desmatamento, fragmentação do habitat e comércio ilegal (IUCN, 2021; KIERULFF et al., 2008). As espécies deste gênero caracterizam-se por possuir uma pelagem abundante e brilhante, principalmente ao redor da cabeça, que se assemelha a uma juba de leão, conferindo-lhes o nome popular de mico-leão (KIERULFF et al., 2003).

Hershkovitz (1977) considerou apenas *L. rosalia* como espécie, com *L. chrysopygus*, *L. chrysomelas* e *L. caissara* como subespécies. *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*, receberam status específico com base em caracteres morfométricos cranianos, mandibulares e dentais (BURITY et al., 1999; NATORI, 1989). Perez-Sweeney et al. (2008) validaram *L. caissara* como espécie através da análise de dados da Região Controle do DNA mitocondrial.

As quatro espécies apresentam distribuição alopátrica e são endêmicas do Brasil, do bioma da Mata Atlântica (RYLANDS et al., 2012) (Figura 3). Atualmente são encontrados apenas em algumas poucas unidades de conservação (IUCN, 2021). Cada uma das espécies ocupa um habitat único no que diz respeito à altitude, vegetação e clima (LIMA et al., 2003; De PINTO & RYLANDS, 1997; RÖHE et al., 2003).

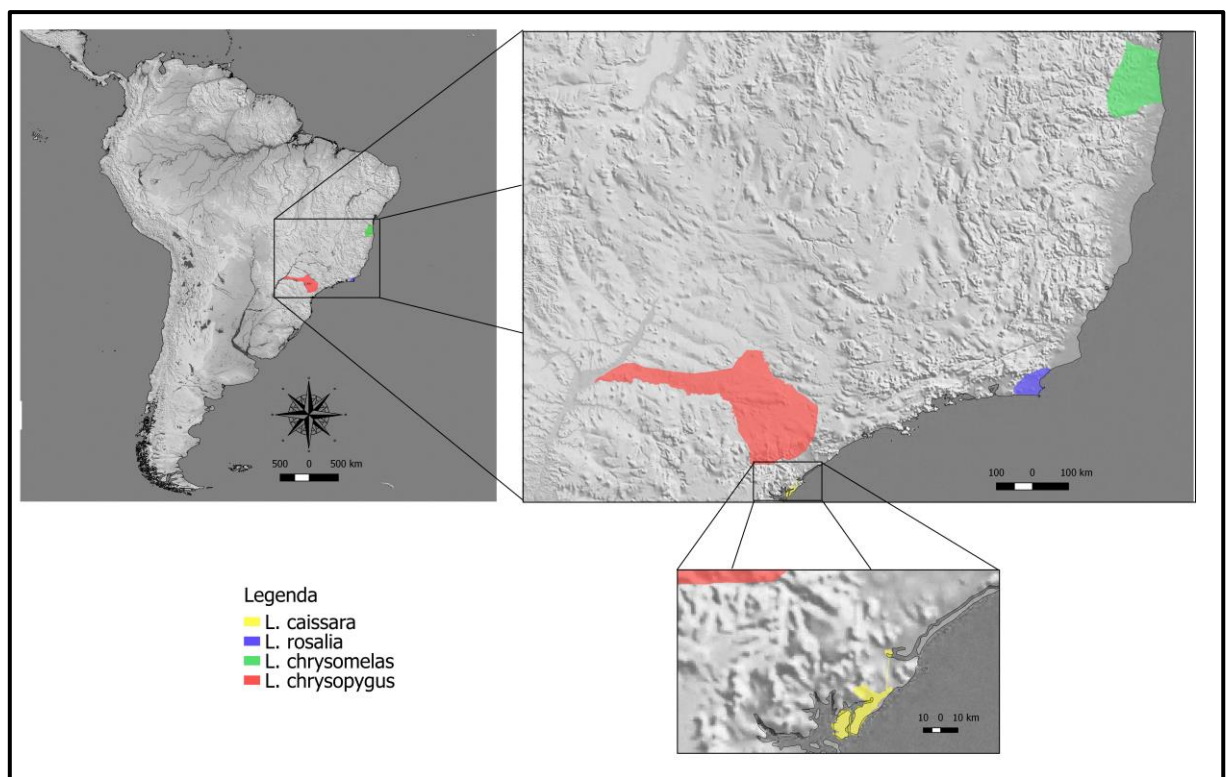


Figura 3- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Leontopithecus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontopithecus* disponibilizadas pela IUCN (2021).

Estudos moleculares corroboram a hipótese de que o gênero é monofilético, algumas filogenias propostas com base em dados moleculares recuperaram *Saguinus* e *Leontopithecus* como os primeiros gêneros a se separarem dos demais Calitriquíneos, (KAY 1990; SCHNEIDER et al. 1993, 2012; SCHNEIDER 2000; OPAZO et al., 2006; WILDMAN et al.

2009; SPRINGER et al., 2012; DURAN et al., 2013; HARRIS et al., 2014). Finstermeier et al. (2013) e Malukiewicz et al. (2017), colocam *Saguinus* e *Leontopithecus* como grupo irmão. Desta forma, o posicionamento de *Leontopithecus* ainda permanece em discussão.

1.3.3 *Saguinus*

A taxonomia do gênero *Saguinus* baseia-se principalmente no estudo de Hershkovitz (1977). Inicialmente, Hershkovitz identificou 33 subespécies de micos, classificados em 10 espécies, organizadas em três seções fenotípicas (face mosqueada, face nua e face peluda) e seis grupos de espécies. Todos agrupados em um único gênero, *Saguinus*.

Dentro da seção fase peluda, Hershkovitz (1977) descreve três grupos de espécies distintas: o grupo de *S. nigricollis*, o grupo de espécies de *S. mystax* e o grupo de espécies *S. midas*. Na seção face mosqueada foi alocado apenas o grupo *S. inustus*. As demais espécies foram listadas na seção de face nua, contendo dois grupos: o grupo *S. bicolor* e o grupo *S. oedipus*. Dados genéticos apontam *S. inustus* como grupo irmão de *S. mystax*, *S. labiatus* ou *S. mystax* + *S. labiatus*, e por isso deve ser alocado dentro do grupo *S. mystax* (BOUBLI et al., 2015; BUCKNER et al., 2015; DA CUNHA et al., 2011; MATAUSCHEK, 2010; MATAUSCHEK et al., 2011).

Nas últimas duas décadas, estudos genéticos têm esclarecido as relações de parentesco dentro do gênero *Saguinus*, mas não recuperaram as três seções propostas por Hershkovitz (1977), e sim a existência de dois grandes grupos morfológicos baseados no tamanho do corpo: os micos de pequeno porte (grupo *nigricollis*) e as espécies maiores, que incluem o grupo *mystax*, os grupos *midas*, *bicolor* e o grupo *oedipus* (ARARIPE et al., 2008; BUCKNER et al., 2015; CROPP et al., 1999; JACOBS et al., 1995; MATAUSCHEK, 2010; MATAUSCHEK et al., 2011; TAGLIARO et al., 2005).

Os resultados de Jacobs et al. (1995) e Cropp et al. (1999), com base em dados genéticos mitocondriais (Região Controle e Citocromo b) de membros do gênero *Saguinus*, geraram as primeiras topologias que agrupam os micos em dois grandes grupos morfológicos. Os agrupamentos filogenéticos dos referidos trabalhos mostram os micos de pequeno porte alocados em um clado, enquanto outro clado agrupa os representantes de grande porte.

Tagliaro et al. (2005), com base em sequências do gene ND1, evidenciaram a divisão do gênero *Saguinus* em dois grandes grupos: os de corpo pequeno, mais basais e representados pelas subespécies de *S. fuscicollis*, e os de grande porte representados pelas demais espécies. Mataushek et al. (2011), utilizando sequências do gene citocromo b completo e da Região

Controle do mtDNA, observaram a formação de um grupo monofilético composto pelos representantes do grupo *nigricollis* e outro clado representado pelos micos de grande porte.

Buckner et al. (2015) propuseram a divisão do gênero *Saguinus* em dois de forma que as espécies de pequeno e grande porte passam a ser alocadas em gêneros distintos. O gênero *Saguinus* compreende atualmente apenas as espécies de grande porte (BUCKNER et al., 2015; RYLANDS et al., 2016). Diversos estudos têm demonstrado que *Saguinus* foi o primeiro a se diversificar entre os representantes da subfamília Callitrichinae (MALUKIEWICZ et al., 2017; MENEZES et al., 2013; OPAZO et al., 2006; RYLANDS et al., 2016; SCHNEIDER, 2000; SPRINGER et al., 2012). Este gênero apresenta uma das maiores distribuições geográficas dentre os primatas do Novo Mundo (RYLANDS et al., 2016) (Figura 4).

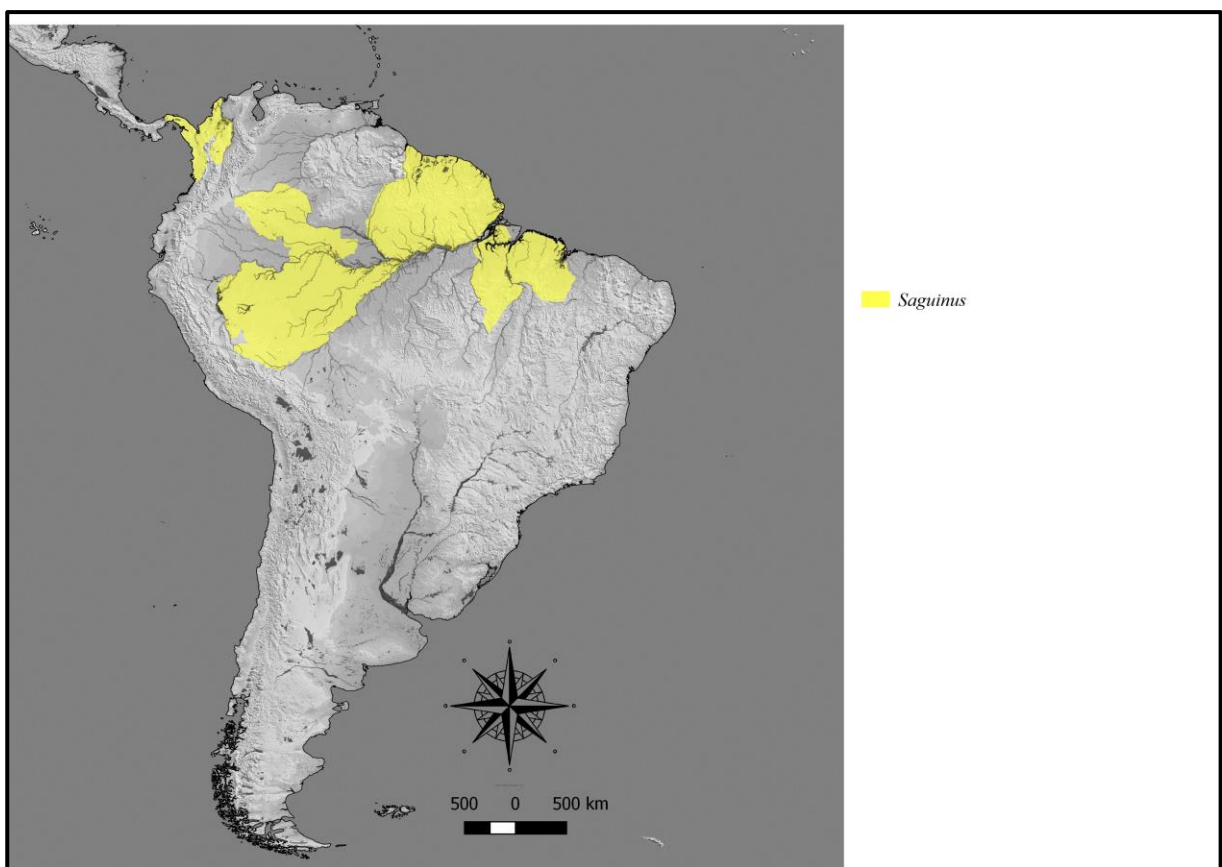


Figura 4- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Saguinus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Saguinus* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Rylands et al. (2016).

1.3.4 *Leontocebus*

Desde o estudo de Jacobs et al. (1995), era consenso a existência de dois grandes grupos dentro de *Saguinus*, estes grupos eram concordantes com o tamanho do corpo (grande e pequeno porte). Em 2015, Buckner e colaboradores sugerem a divisão do gênero *Saguinus* em dois, separando os grupos de pequeno e grande porte em gêneros distintos. Esta separação, segue o mesmo raciocínio proposto para a divisão dos macacos-prego em dois gêneros, *Cebus* e *Sapajus* por Silva-Júnior (2001, 2002) e Alfaro et al. (2012). O nome recomendado para o novo gênero é *Leontocebus*, Wagner 1839 por ser o nome mais antigo dado ao gênero com uma espécie tipo do grupo *nigricollis*. Mais recentemente, Rylands et al. (2016) concordando com os achados de Buckner et al. (2015) caracterizaram e redescreveram taxonomicamente os representantes de pequeno porte do grupo *nigricollis* como *Leontocebus*, Wagner 1839.

O gênero *Leontocebus* é o mais diversificado, sendo considerado o mais rico quanto ao número de espécies de primatas neotropicais (BUCKNER et al., 2015). As estimativas do tempo de divergência de estudos moleculares recentes, evidenciaram que o gênero *Leontocebus* sofreu uma rápida radiação em torno de 2,9 Ma (BUCKNER et al., 2015; MATAUSCHEK et al., 2011) e atualmente encontra-se amplamente distribuído na Amazônia Peruana, em parte da Amazônia Equatoriana, Boliviana e Brasileira (MATAUSCHEK, 2010), sendo que a maior diversidade deste grupo de espécies é encontrada no Peru (MATAUSCHEK et al., 2011) (Figura 5).

Os representantes do gênero *Leontocebus* são primatas de pequeno porte, insetívoros e frugívoros (FERRARI, 1992), suas atividades de forrageamento ocorrem no sub-bosque cerca de 5 a 10 metros acima do solo em busca de insetos e pequenos vertebrados escondidos em locais específicos: em fendas e na superfície das cascas das árvores (GARBER, 1992; HEYMANN & BUCHANAN-SMITH, 2000). A estrutura social típica se constitui no casal reprodutor e sua prole, na natureza reproduzem-se apenas uma vez por ano (GINTHER et al., 2002). Os nascimentos normalmente ocorrem durante os primeiros meses da estação chuvosa, coincidindo com o período de maior disponibilidade de alimentos (VAN ROOSMALEN, 2016).

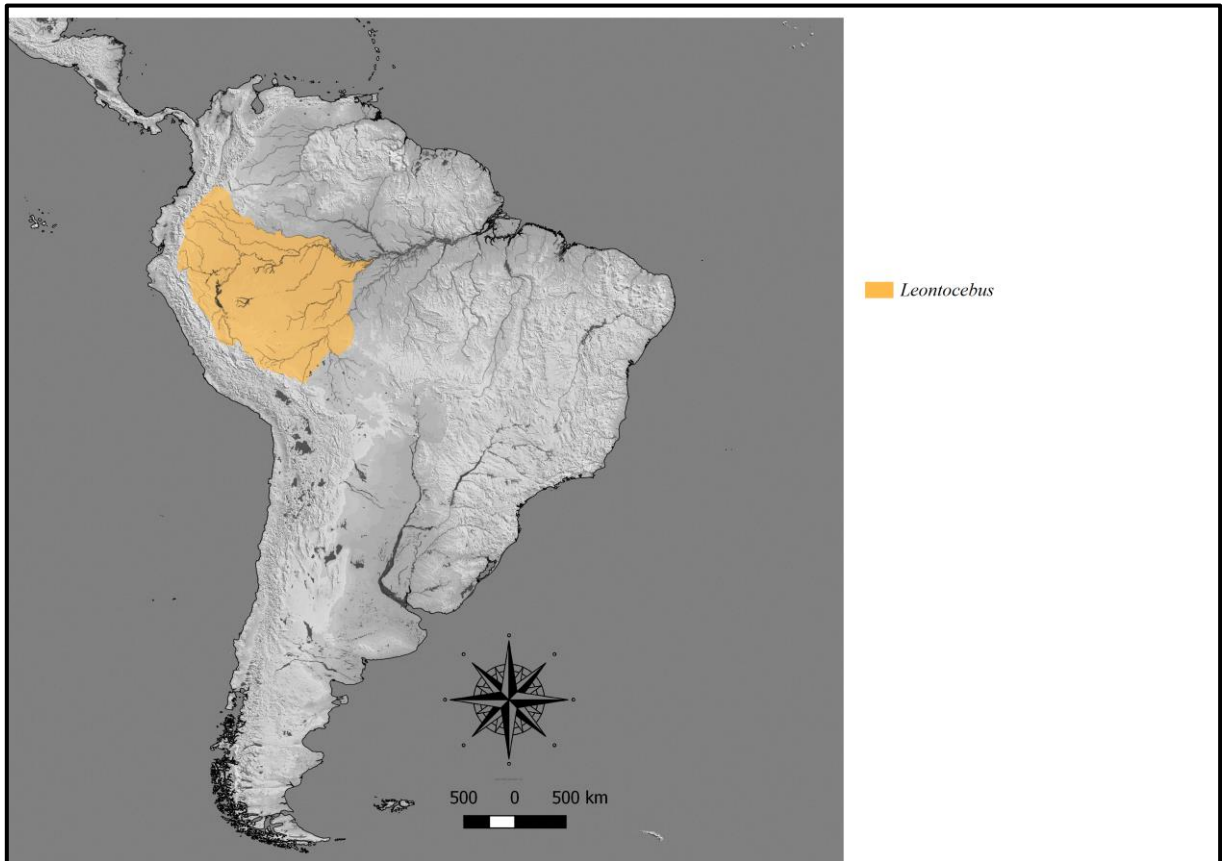


Figura 5- Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Leontocebus*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontocebus* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Rylands et al. (2016).

1.3.5 *Callithrix*

O gênero *Callithrix* ou saguis de tufo na orelha é composto por seis espécies que ocorrem na Mata Atlântica, são elas: *Callithrix aurita* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), *C. jacchus* (Linnaeus, 1758), *C. geoffroyi* (Humboldt, 1812), *C. penicillata* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), *C. kuhlli* (Coimbra-Filho, 1985) e *C. flaviceps* (Thomas, 1903). Possuem tufo nas orelhas, que lhes confere tal nome popular e que podem ser usados para diferenciar as espécies dentro do gênero (HERSHKOVITZ, 1977).

A delimitação da distribuição das espécies de saguis da floresta Atlântica são: *C. kuhlli* e *C. geoffroyi* ao norte da mata atlântica, *C. flaviceps* e *Callithrix aurita* ao sul da mata Atlântica, *C. jacchus* na caatinga e *C. penicillata* no cerrado (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009) (Figura 6). Percebe-se que há sobreposição da área de ocorrência entre as espécies de

Callithrix denotando um modelo de distribuição parapátrica, com zonas híbridas, onde *C. penicillata* tem áreas de contato com todas as outras espécies; *C. kuhlli* faz contato com *C. geoffroyi*; *C. flaviceps* possui zona contato com *C. geoffroyi* ao norte e com *C. aurita* ao sul. Registros de hibridização entre as espécies de *Callithrix* são relatados em diversos estudos (COIMBRA-FILHO, 1993; MALUKIEWICZ et al., 2014; MALUKIEWICZ, 2019; MALUKIEWICZ et al., 2021; SCHNEIDER et al., 2012).

Estudos moleculares evidenciaram que o gênero *Callithrix* é monofilético (SCHNEIDER et al., 2012; SENA et al., 2002; TAGLIARO et al., 1997). Com base em características, morfológicas, acústicas e genéticas, o gênero *Callithrix* pode ser subdividido em dois subgrupos, o grupo "aurita" composto por *C. flaviceps* e *C. aurita* e o grupo "jacchus" composto pelas outras quatro espécies restantes do gênero (PERELMAN et al., 2011; RYLANDS et al., 2000; SCHNEIDER & SAMPAIO, 2015; TAGLIARO et al., 1997).

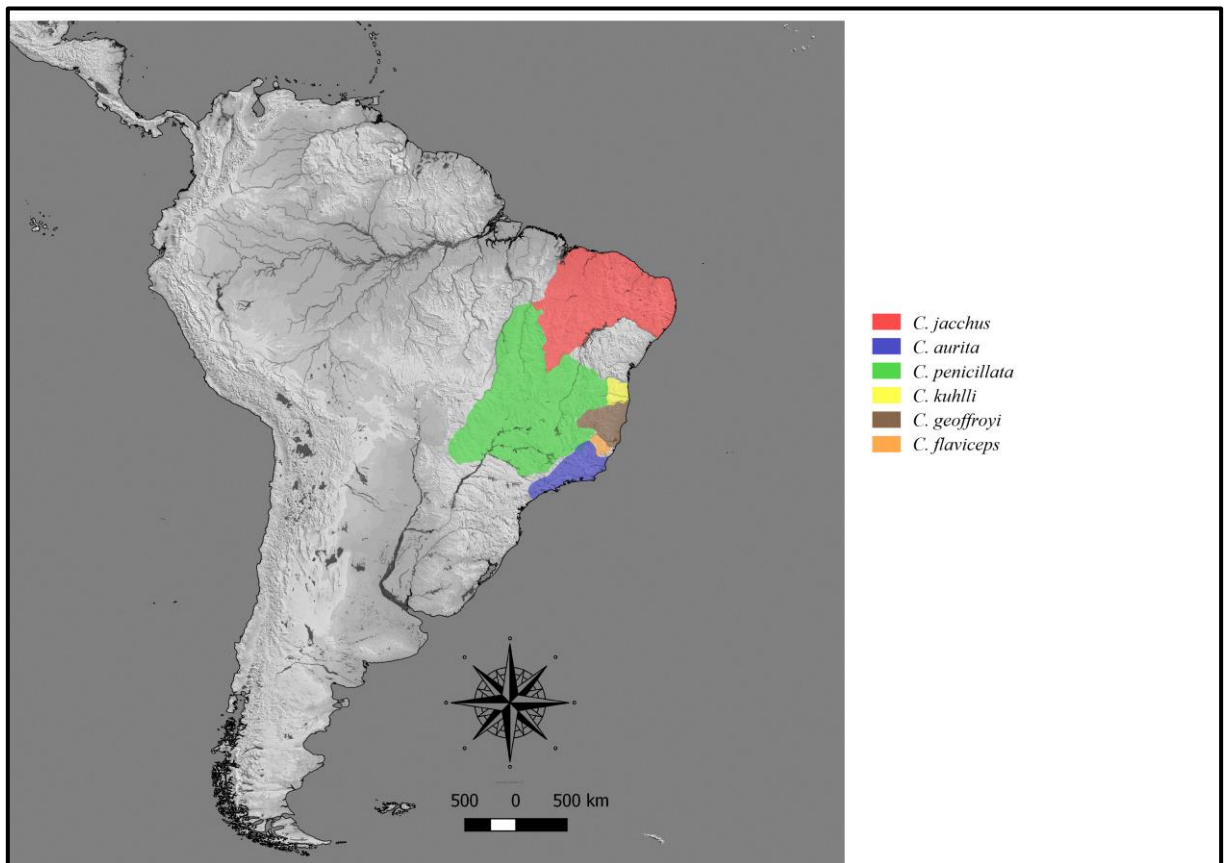


Figura 6 - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Callithrix*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Leontocebus* disponibilizadas pela IUCN (2021).

Estudos de morfometria de crânio e dados genéticos evidenciaram que *C. aurita* é a espécie mais distinta do gênero, sendo a primeira a se diversificar (SCHNEIDER et al. 2012; TAGLIARO et al. 1997). Sena et al. (2002) utilizando sequências do gene COI revelam o monofiletismo do grupo, porém os arranjos internos revelam uma politomia não resolvida entre as espécies de *C. jacchus*, *C. penicillata* e *C. kuhlii* sugerindo um grupo parafilético. Schneider et al. (2012) por meio do uso de genes nucleares e mitocondriais sugeriram a classificação filogenética das espécies *C. jacchus*, *C. geoffroyi* e *C. aurita* como grupos monofilético, mas apresentando um complexo de politomias não resolvidas, exclusivas para *C. kuhlii* e *C. penicillata*.

Malukiewicz et al. (2016) demonstraram, com base em sequências do genoma mitocondrial completo, que *C. geoffroyi* é grupo irmão de todas as outras espécies do grupo *jacchus*. Recentemente, Garbino e Martins-Junior (2018) com base em dados de colaração da pelagem, crânio, denticção, e vocalização sugerem uma inter-relação entre *C. jacchus* e *C. penicillata*, com *C. geoffroyi* como grupo-irmão. Malukiewicz (2019) destaca a importância de estudos de hibridação para esclarecer a evolução deste grupo de primata neotropical. Apesar da existência de vários estudos focando a filogenia do gênero *Callithrix* (GARBINO & MARTINS-JUNIOR, 2018; MALUKIEWICZ et al., 2016; PERELMAN et al., 2011; RYLANDS et al., 2000; SCHNEIDER & SAMPAIO, 2015; TAGLIARO et al., 1997), as relações filogenéticas entre as espécies ainda permanecem discordantes.

1.3.6 *Mico*

O gênero *Mico* elevado a este *status* por Rylands et al. (2000), agrupa os pequenos saguis amazônicos que anteriormente pertenciam ao grupo *argentata* (gênero *Callithrix*). Este gênero apresenta ampla distribuição na bacia amazônica, as espécies representantes estão geograficamente distribuídas ao sul do Amazonas, desde o Rio Madeira até o interflúvio Xingu-Tocantins (Figura 7) (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009). As espécies deste gênero possuem distribuições muito próximas umas das outras, algumas delas são separadas apenas por pequenos afluentes, que podem ou não representar barreiras efetivas (VAN ROOSMALEM & VAN ROOSMALEN, 2016).

Os representantes deste gênero ocupam as áreas de floresta nos estados do Pará, Amazonas, Mato Grosso e Rondônia (RYLANDS & MITTERMEIER, 2009). Os grupos sociais são compostos por cinco a 15 indivíduos, as espécies de saguis amazônicos exibem um

forte comportamento territorial, cada grupo defendendo seu espaço de vida por meio de conflitos territoriais (VAN ROOSMALEM & VAN ROOSMALEM, 2016).

Recentemente, Costa-Araújo et al. (2021) descreveram uma nova espécie de *Mico* que recebeu o nome *Mico schneideri* em homenagem ao primatólogo Horacio Scheider que desenvolveu estudos pioneiros de filogenia molecular, tornando-se uma das principais referências no estudo de primatas do Novo Mundo. *Mico schneideri* tem distribuição no arco de desmatamento amazônico (uma área de cerca de 2.500 km de extensão, que está sendo convertida em campos de pastagem e paisagens agrícolas), juntamente com *M. emiliae*, *M. marcai*, *M. rondoni* e *M. argentatus*, e portanto, necessitam de planos de conservação para preservação da diversidade genética.

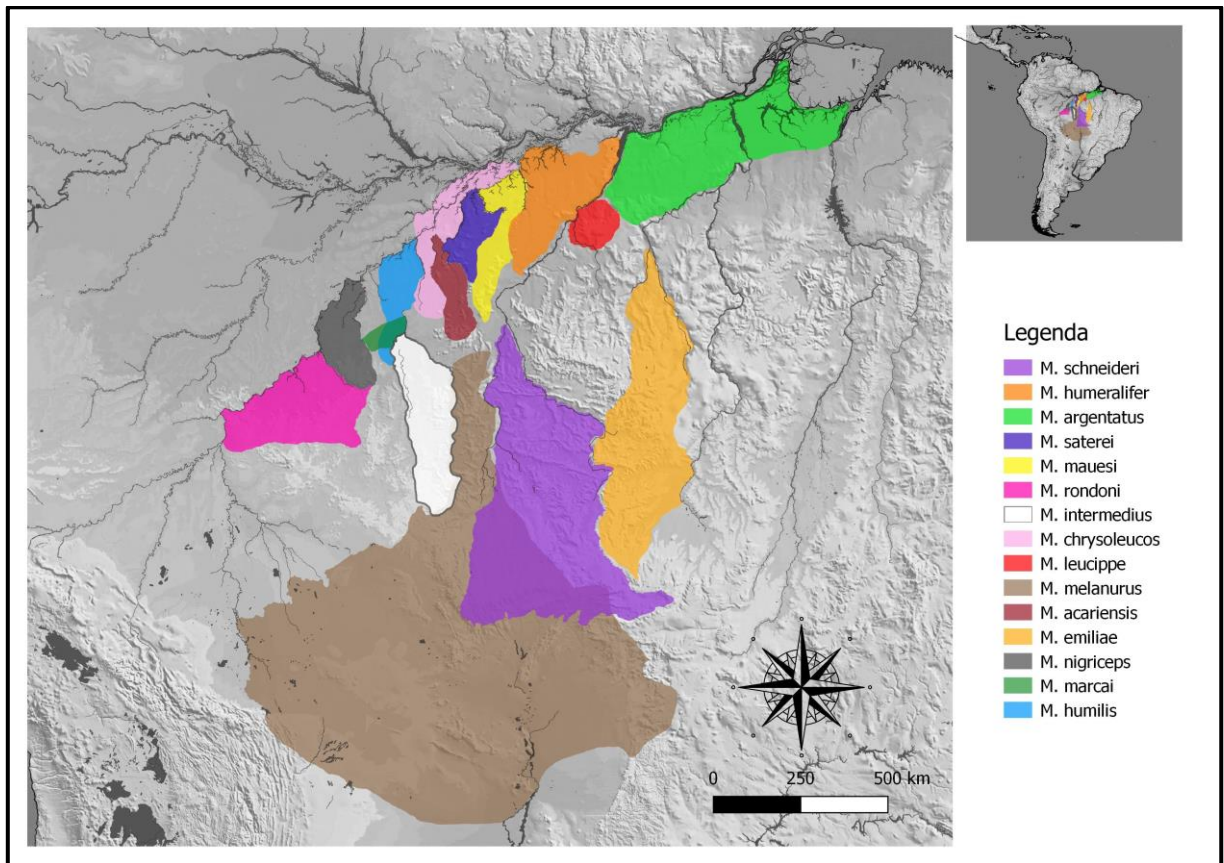


Figura 7 - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Mico*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* das espécies de *Mico* disponibilizadas pela IUCN (2021) e corrigido com base na distribuição de Costa-Araújo et al. (2021) e Rylands & Mittermeier (2009).

1.3.7 *Cebuella*

O sagui-pigmeu, *Cebuella pygmaea*, o considerado menor primata neotropical pesando aproximadamente 119g (intervalo 85-140g) e com um comprimento total de 338 mm (SOINI, 1993). Duas espécies são reconhecidas: *C. pygmaea* (Spix, 1823) e *C. niveiventris* Lönnberg, 1940. Estudos moleculares evidenciaram que os saguis pigmeus são grupo-irmão dos saguis amazônicos (*Mico*), os dois gêneros divergiram durante o início do Plioceno (BUCKNER et al., 2015; PERELMAN et al., 2011; SCHNEIDER et al., 2012).

De acordo com Van Roosmalen e Van Roosmalen (1997) o Rio Solimões é uma barreira à dispersão dos dois táxons de *Cebuella*, separando *C. pygmaea* ao norte e *C. niveiventris* ao sul. O gênero *Cebuella* apresenta uma das maiores distribuições geográficas dos primatas da Amazônia (BOUBLI et al., 2018) (Figura 8). A análise da coloração da pelagem de Boubli et al. (2018) revelou a existência de três formas fenotípicas de *Cebuella*: (1) ao sul do Rio Solimões, (2) Eirunepé-Acre, bacia do alto Juruá; e (3) Japurá. No entanto as análises filogenéticas de Boubli e colaboradores evidenciaram apenas dois grupos distintos e reciprocamente monofiléticos com valores de suportes bem apoiados, indicando a existência de duas espécies de *Cebuella*, uma na margem direita do Japurá e outra ao sul do Rio Solimões.

1.4 Ferramentas moleculares

1.4.1 O DNA mitocondrial

Ferramentas moleculares tornaram-se indispensáveis nos estudos populacionais, de filogenia e biogeografia, pois os caracteres moleculares fornecem as informações necessárias para a análise de parentesco entre as espécies (AVISE, 2012). Podem também ser usadas para retomar a história evolutiva de grupos de espécies, indicar a sequência de eventos evolutivos que levaram a diferenciação de um grupo de organismos, bem como estimar o tempo de cada evento e ainda especificar suas relações atuais (CHIOU et al., 2011; LAVERGNE et al., 2010).

Nos eucariontes, a maior parte do material genético está dentro do núcleo, no entanto, uma parte considerável está presente em organelas como a mitocôndria e o cloroplasto (BLANCHARD & LYNCH, 2000). A teoria da endossimbiose de Margulis (1981) explica porque apenas estas duas organelas apresentam DNA genômico. Segundo esta teoria, as mitocôndrias e cloroplastos eram organismos procariontes de vida livre que foram englobados por uma célula eucarionte, resultando em uma relação simbiótica onde ambos os envolvidos

eram beneficiados com essa associação já que a mitocôndria e o cloroplasto forneciam energia para a célula hospedeira e esta lhes oferecia proteção contra o ambiente externo.

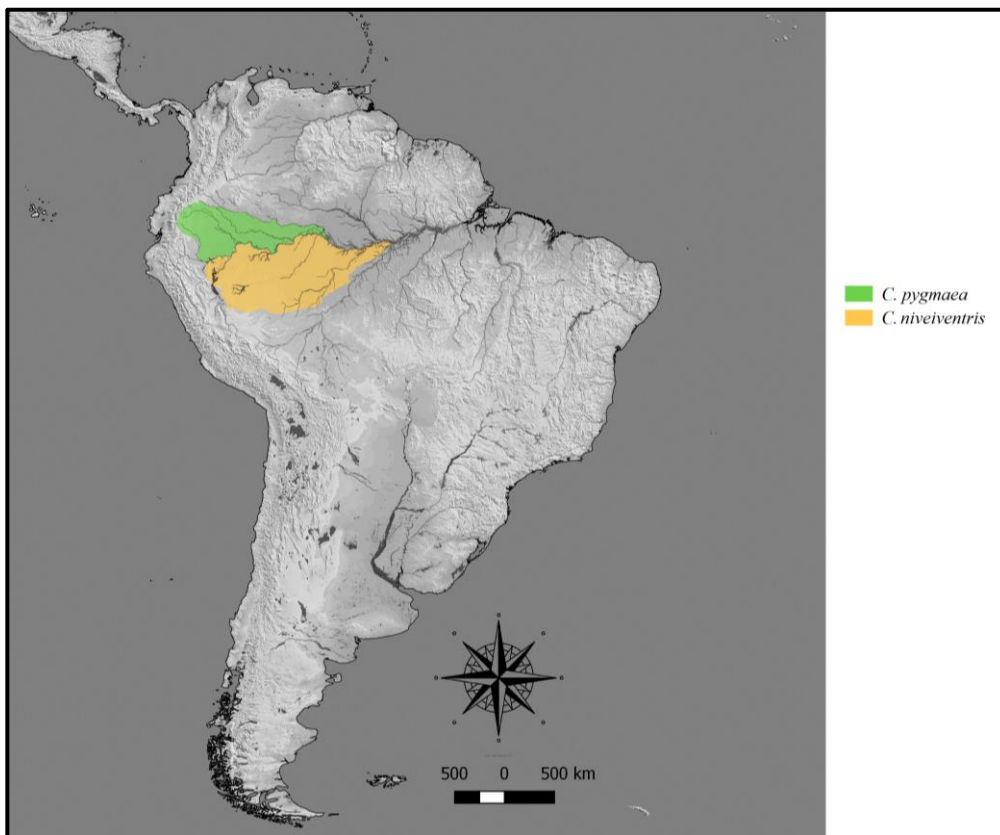


Figura 8 - Mapa da distribuição geográfica das espécies do gênero *Cebuella*. Fonte: A distribuição geográfica foi obtida através da sobreposição do *shape* de *C. pygmaea* disponibilizado pela IUCN (2021) e pela distribuição geográfica de *C. niveiventris* relatada por Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).

O mtDNA possui uma taxa de mutação muito superior e é menos conservado quando comparado com o DNA nuclear, pois ao contrário do DNA nuclear, o mtDNA não está envolvido por histonas e por estar localizado dentro de uma organela responsável pela respiração celular está exposto a radicais livres decorrentes da fosforilação oxidativa e por apresentar um sistema de reparo não tão eficiente quanto o do DNA nuclear (BALABAN et al., 2005; MASON et al., 2003). O mtDNA apresenta herança estritamente materna na maioria das espécies, não possui íntrons e as regiões intergênicas geralmente são muito pequenas (PESOLE, 1999).

De acordo com Pesole (1999), as taxas de mutação do mtDNA possui variações significativas entre diferentes regiões da molécula. Isto corresponde em uma vantagem para o seu uso em estudos filogenéticos, de fluxo gênico e especiação de primatas (ALFARO et al., 2012; BUCKNER et al., 2015; CHIOU et al., 2011; CROPP & BOINSKI, 2000; FINSTERMEIER et al., 2013; DE FREITAS et al., 2018; LAVERGNE et al., 2010; MALUKIEWICZ et al., 2016; MATAUSCHEK, 2010; MATAUSCHEK et al., 2011), associado ao fato de ser de fácil amplificação e apresentar muitas cópias por célula (AVISE, 2012).

O genoma mitocondrial é uma molécula de dupla fita circular, comumente contendo de 15 a 17 quilobases e tamanho variável entre as espécies (PIERCE, 2009). Essa molécula contém, em sua maioria, sequências não repetitivas: geralmente possui dois genes que codificam RNAs ribossomais (12S e 16S rRNA), 22 que codificam RNAs transportadores (tRNAs), 13 genes codificadores de subunidades proteicas, que representam 90% do genoma, e a região controle não codificadora que contém os sítios para replicação e início da transcrição (BI et al., 2012) (Figura 9).

Região Controle é uma porção bastante significativa do mtDNA que não é codificante de proteína, possui cerca de 1200 pb e está flanqueada pelo tRNA da Prolina e o tRNA da Fenilalanina (MALUKIEWICZ et al., 2016). Esta porção do genoma mitocondrial apresenta abundante polimorfismo entre indivíduos, por ser a região onde se inicia o processo de duplicação do material genético, sendo, portanto, mais suscetível a ocorrência de mutações (BI et al., 2012). É a principal responsável pelas variações de tamanho do genoma mitocondrial encontradas dentro da mesma espécie e até no mesmo indivíduo (MALUKIEWICZ et al., 2016).

Além da amplificação e sequenciamento das porções do mtDNA, mais informações podem ser acessadas com o sequenciamento do genoma mitocondrial completo. Atualmente existem 124 mitogenomas completos disponíveis da ordem primatas, destes 25 são de primatas do novo Mundo e apenas nove são da subfamília Callitrichinae, sendo que não existe sequencias do genoma mitocondrial completo de nenhum representante dos gêneros *Mico* e *Leontocebus* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/?report=5>)(New World monkeys (taxid:9479)).

De acordo com Finstermeier et al. (2013) filogenias baseadas no genoma mitocondrial completo podem fornecer informações confiáveis sobre as relações evolutivas entre espécies e táxons mais elevados e podem ser usadas com sucesso para determinar a escala de tempo de

sua evolução. Estudos utilizando mitogenomas de uma grande diversidade de primatas evidenciaram que estes podem ser mais eficazes na definição das relações filogenéticas entre os grupos de espécies, pois permitem um suporte estatístico mais robusto quando comparado com análises baseadas em genes únicos (LIEDIGK et al., 2014; MALUKIEWICZ et al., 2016). Assim sendo, comparar genomas mitocondriais fornece um amplo conhecimento acerca da evolução dos organismos e do genoma (DE FREITAS et al., 2019).

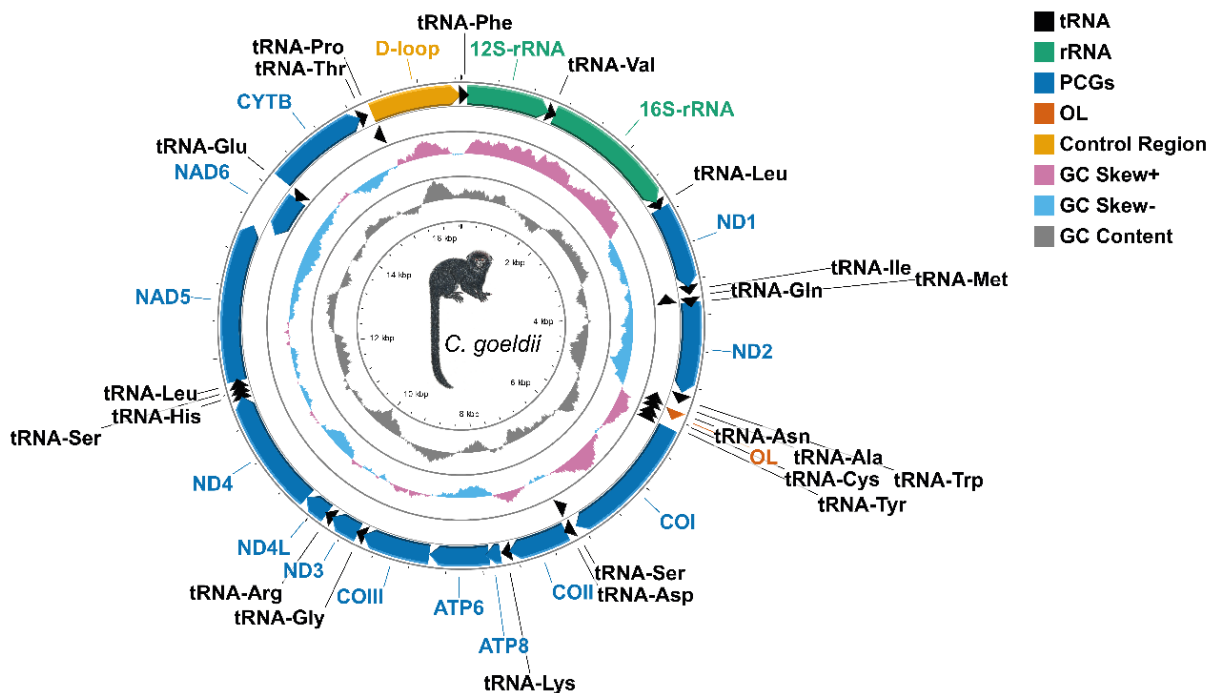


Figura 9 - Organização do mitogenoma de *Callimico goeldii* a partir dos dados gerados no presente estudo. Desenho autorizado por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Esclarecer as relações filogenéticas entre os gêneros da subfamília Callitrichinae, com base em sequências do genoma mitocondrial completo.

2.2 Objetivos Específicos

- Inferir as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Callithrix*.
- Determinar a posição de *M. humilis* em relação aos saguis amazônicos.
- Inferir as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Mico*.
- Determinar a relação de parentesco entre os gêneros *Callithrix*, *Cebuella* e *Mico*.
- Inferir as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Leontopithecus*.
- Determinar a relação de parentesco entre os gêneros *Leontopithecus* e *Saguinus*.
- Testar a monofilia dos grupos de espécies de *Saguinus* propostos por Hershkovitz (1977).
- Estimar o tempo de divergência entre os gêneros da subfamília Callitrichinae.
- Inferir uma análise bayesiana da história biogeográfica da subfamília Callitrichinae.
- Descrever a estrutura do DNA mitocondrial das espécies: *C. goeldii*, *S. niger*, *S. labiatus*, *S. inustus*, *S. leucopus*, *S. martinsi*, *L. weddelli*, *C. pygmaea*, *C. niveiventris*, *Leontopithecus chrysomelas*, *M. humilis*, *M. argentatus*, *M. humeralifer*, *M. mause* e *M. saterei*.

3 REFERÊNCIAS

- ALFARO, J. W. L.; SILVA, J. D. S. E.; RYLANDS, A. B. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of *Sapajus* and *Cebus*. **American Journal of Primatology**, v. 74, n. 4, p. 273-286, 2012.
- ARARIPE, J. et al. Molecular phylogenetics of large-bodied tamarins, *Saguinus* spp. (Primates, Platyrrhini). **Zoologica Scripta**, v. 37, n. 5, p. 461-467, 2008.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution**: Springer Science & Business Media, 507 p, 2012.
- BALABAN, R. S.; NEMOTO, S.; FINKEL, T. Mitochondria, oxidants, and aging. **Cell**, v. 120, n. 4, p. 483-495, 2005.
- BARROSO, C. M. L. et al. Update on the Phylogenetic Systematics of New World Monkeys: Further DNA Evidence for Placing the Pygmy Marmoset (*Cebuella*) within the Genus *Callithrix*. **International Journal of Primatology**, v. 18, n. 4, p.651-674, 1997.
- BI, X. X. et al. The complete mitochondrial genome sequence of the black-capped capuchin (*Cebus apella*). **Genetics and molecular biology**, v. 35, n. 2, p. 545-552, 2012.
- BLANCHARD, J. L.; LYNCH, M. Organellar genes: why do they end up in the nucleus? **Trends in genetics**, v. 16, n. 7, p. 315-320, 2000.
- BOUBLI, J. P. et al. Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: A test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 400–412, 2015.
- BOUBLI, J. P. et al. How many pygmy marmoset (*Cebuella* Gray, 1870) species are there? A taxonomic re-appraisal based on new molecular evidence. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 120, p. 170-182, 2018.
- BUCKNER, J. C. et al. Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 413-425, 2015.
- BURITY, C. H. F.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PISSINATTI, A. Cranial and mandibular morphometry in *Leontopithecus* Lesson, 1840 (Callitrichidae, Primates). **American Journal of Primatology**, v. 48, p. 185-196, 1999.

- CANAVEZ, F. C. et al. Phylogenetic relationships of the callitrichinae (Platyrrhini, Primates) based on b2-microglobulin DNA sequences. **American Journal of Primatology**, v. 48, n. 3, p. 225-236, 1999.
- CHAVES, R. et al. The place of *Callimico goeldii* in the Callitrichine Phylogenetic tree: evidence from von Willebrand factor gene intron 2 sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 13, p. 392–404, 1999.
- CHIOU, K. L. et al. Pleistocene diversification of living squirrel monkeys (*Saimiri* spp.) inferred from complete mitochondrial genome sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 59 n. 3, p. 736-745, 2011.
- COIMBRA-FILHO, A. F. Experimental multiple hybridism and natural hybrids among *Callithrix* species from eastern Brazil. **Marmosets and tamarins**, p. 95-123, 1993.
- CORTÉS-ORTIZ, L. Molecular phylogenetics of the Callitrichidae with an emphasis on the marmosets and *Callimico*. **The smallest anthropoids**, p. 3-24, 2009.
- COSTA-ARAÚJO, et al. An integrative analysis uncovers a new, pseudo-cryptic species of Amazonian marmoset (Primates: Callitrichidae: Mico) from the arc of deforestation. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.
- CROPP, S. J.; LARSON, A.; CHEVERUD, J. M. Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 108, n. 1, p. 65-89, 1999.
- CROPP, S. J.; BOINSKI, S. The Central American squirrel monkey (*Saimiri oerstedii*): introduced hybrid or endemic species?. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 16, n. 3, p. 350-365, 2000.
- DA CUNHA, D. B. et al. A molecular phylogeny of the tamarins (genus *Saguinus*) based on five nuclear sequence data from regions containing *Alu* insertions. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 146, n. 3, p. 385–391, 2011.
- DE FREITAS, P. D. et al. Next-Generation Sequencing of the Complete Mitochondrial Genome of the Endangered Species Black Lion Tamarin *Leontopithecus chrysopygus* (Primates) and Mitogenomic Phylogeny Focusing on the Callitrichidae Family. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 6, p. 1985-1991, 2018.

- DEPINTO, L. P. S.; RYLANDS, A. Geographic distribution of the golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas*: Implications for its management and conservation. **Folia Primatologica**, v. 68, p. 161-180, 1997.
- DURAN, A.; MEYER, A. L.; PIE, M. R. Climatic niche evolution in new world monkeys (Platyrrhini). **PLoS One**, v. 8, n. 12, 2013.
- FERRARI, S. F. Ecological differentiation in the Callitrichidae. **Marmosets and Tamarins**, p. 314-328, 1992.
- FINSTERMEIER, K. et al. A mitogenomic phylogeny of living primates. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e69504, 2013.
- FORD, S. M. Systematics of the New World Monkeys in comparative primate biology. **Systematics, evolution and anatomy (Dr Swindler e J Erwin Eds)**, v. 1, p. 73-135, 1986.
- GARBER, P. A. Vertical clinging, small body size, and the evolution of feeding adaptations in the Callitrichinae. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 88, n. 4, p. 469-482, 1992.
- GARBINO, G.S.T. How many marmoset (Primates: Cebidae: Callitrichinae) genera are there? A phylogenetic analysis based on multiple morphological systems. **Cladistics**, v. 31, p. 652–678, 2015a.
- GARBINO, G.S.T. Defining genera of New World Monkeys: the need for a critical view in a necessarily arbitrary task. **International Journal of Primatology**, v. 36 p. 1049-1064, 2015b.
- GARBINO, G.S.T.; MARTINS-JUNIOR, A.M.G. Phenotypic evolution in marmoset and tamarin monkeys (Cebidae, Callitrichinae) and a revised genus-level classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 118, p. 156–171, 2018.
- GINTHER, A. J. et al. Neonatal and pubertal development in males of a cooperatively breeding primate, the cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). **Biology of Reproduction**, v. 662, p. 282-290, 2002.
- GOODMAN, M. et al. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, n. 3, p. 585-598, 1998.
- GROVES, C. Species Concept in Primates. **American Journal of Primatology**, v. 74, p.687–691, 2012.
- GROVES, C. **Primates (Taxonomy)**. Smithsonian Books, 2016.

- HARRIS, R. A. et al. Evolutionary genetics and implications of small size and twinning in callitrichine primates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 4, p. 1467-1472, 2014.
- HERSHKOVITZ, P. Living New World Monkeys (Platyrrhini) With an Introduction to Primates. **Journal of Anatomy**, v. 130, Pt 2, p. 442, 1977.
- HEYMANN, E. W.; BUCHANAN-SMITH, H. M. The behavioural ecology of mixed-species troops of callitrichine primates. **Biological Reviews**, v. 75, n. 2, p. 169-190, 2000.
- IUCN, 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>
- JACOBS, S. C.; LARSON, A.; CHEVERUD, J. M. Phylogenetic relationships and orthogenetic evolution of coat color among tamarins (genus *Saguinus*). **Systematic Biology**, v. 444, p. 515-532, 1995.
- KAY, R. F. The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini, Anthrooidea). **Journal of Human Evolution**, v. 19, n. 2, p. 175–208, 1990.
- KIERULFF, M. C. M.; RYLANDS, A.B. Census and distribution of the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*). **American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists**, v. 59, n. 1, p. 29-44, 2003.
- KIERULFF, M. C. M. et al. 2008. *Leontopithecus caissara*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2008**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.
- LAVERGNE, A. et al. Phylogeny and phylogeography of squirrel monkeys (genus *Saimiri*) based on cytochrome b genetic analysis. **American Journal of Primatology**, v. 723, p. 242-253, 2010.
- LIEDIGK, R. et al. Mitogenomics of the Old World monkey tribe Papionini. **BMC Evolutionary Biology**, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2014.
- LIMA, F. S. et al. On the occurrence of the black lion tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*) in Buri, Sao Paulo, Brazil. **Neotropical Primates**, v. 11, p. 76-77, 2003.
- MALUKIEWICZ, J. et al. Hybridization effects and genetic diversity of the common and black-tufted marmoset (*Callithrix jacchus* and *C. penicillata*) mitochondrial control region. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 155, p. 522-536, 2014.

- MALUKIEWICZ, J. et al. Phylogeny of the jacchus group of *Callithrix* marmosets based on complete mitochondrial genomes. **American Journal of Physical Anthropology**, p.1-13, 2017.
- MALUKIEWICZ, J. A review of experimental, natural, and anthropogenic hybridization in *Callithrix* marmosets. **International Journal of Primatology**, p. 1-27, 2019.
- MALUKIEWICZ, J. et al. Mitogenomic phylogeny of *Callithrix* with special focus on human transferred taxa. **BMC genomics**, v. 22, n. 1, p. 1-14, 2021.
- MARGULIS, L. **Symbiosis in Cell Evolution: Life and its environment on the early earth**. New York, 452p. 1981.
- MASON, P. A. et al. Mismatch repair activity in mammalian mitochondria. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 3, p. 1052-1058, 2003.
- MATAUSCHEK, C. **Taxonomy, Phylogeny and distribution of tamarins (genus *Saguinus*, Hoffmannsegg 1807)**. Georg August Universität, 2010.
- MATAUSCHEK, C.; ROOS, C.; HEYMANN, E. W. Mitochondrial phylogeny of tamarins (*Saguinus*, Hoffmannsegg 1807) with taxonomic and biogeographic implications for the *S. nigricollis* species group. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 144, n. 4, p. 564-574, 2011.
- MENEZES, A. N. et al. Positive selection along the evolution of primate mitogenomes. **Mitochondrion**, v. 13, n. 6 p. 846-851, 2013.
- Mittermeier R.A., Rylands A.B., & Wilson D.E. (Eds.). **Handbook of the Mammals of the World**. Vol. 3. Primates. Lynx Edicions, Barcelona, 951 pp, 2013.
- NATORI, M. An analysis of cladistic relationships of *Leontopithecus* based on dental and cranial characters. **Journal of the Anthropological Society of Nippon**, v. 97, p. 157-167, 1989.
- NEUSSER M, et al. Molecular cytogenomics of New World monkeys (Platyrrhini): comparative analysis of five species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of *Callimico goeldii* within the family of Callitrichidae. **Cytogenetics and cell genetics**, v. 94, p. 206-215, 2001.
- OPAZO, J. C. et al. Phylogenetic relationships and divergence times among New World monkeys (Platyrrhini, Primates). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n. 40, v. 1, p. 274-280, 2006.

- PASTORINI, J. et al. A reexamination of the phylogenetic position of *Callimico* (Primates) incorporating new mitochondrial DNA sequence data. **Journal of molecular evolution**, v. 47, n. 1, p. 32-41, 1998.
- PERELMAN, P. et al. A molecular phylogeny of living primates. **PLoS Genetics**, v. 7, n. 3, p. e1001342, 2011.
- PEREZ-SWEENEY, B. M. et al. Examination of the taxonomy and diversification of *Leontopithecus* using the mitochondrial Control Region. **International Journal of Primatology**, v. 29, n. 1, p. 245-263, 2008.
- PESOLE, G. et al. Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 484, p. 427-434, 1999.
- PIERCE, B. A. **Genética: um enfoque conceitual**. Madrid. Panamericana, 832 p. 2009.
- PORTER, C. A. et al. Phylogeny and Evolution of selected primates as determined by sequences of the epsilon-globin locus and 5' flanking regions. **International Journal of Primatology**, v. 18, p. 261-295, 1997.
- RÖHE, F.; ANTUNES, A. P.; FARAH, C. The discovery of a new population of black lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*) in the Serra de Paranapiacaba, Sao Paulo, Brazil. **Neotropical Primates**, v. 11, p. 75-76, 2003.
- RYLANDS, A. B. An assessment of the diversity of New World primates. **Neotropical Primates**, v. 8, n. 2, p. 61-93, 2000.
- RYLANDS, A.B.; FERRARI, S. F.; MENDES, S. L. *Callithrix flaviceps*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2008**. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/species/3571/9951402>>. Acesso em: 08 de outubro de 2021.
- RYLANDS, A. B. Taxonomy of the neotropical primates—database. **International Union for Conservation of Nature (IUCN), Species Survival Commission (SSC), Primate Specialist Group, Gland**, 2012.
- RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. The diversity of the New World primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. **South American Primates**, p. 23-54, 2009.
- RYLANDS, A. B. et al. Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 4, p. 1003-1028, 2016.

- SCHNEIDER, H. et al. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, primates). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 2, n. 3, p. 225-242, 1993.
- SCHNEIDER, H. et al. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates) based on two unlinked nuclear genes: IRBP intron 1 and epsilon-globin sequences. **American journal of physical anthropology**, v. 100, n. 2, p. 153-179, 1996.
- SCHNEIDER, H. The current status of the New World monkey phylogeny. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 72, n. 2, p. 165-172, 2000.
- SCHNEIDER, H. et al. A molecular analysis of the evolutionary relationships in the Callitrichinae, with emphasis on the position of the dwarf marmoset. **Zoologica Scripta**, v. 41, n. 1, p. 1-10, 2012.
- SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. The systematics and evolution of New World primates—A review. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 348-357, 2015.
- SENA, L. et al. Mitochondrial COII gene sequences provide new insights into the phylogeny of marmosets species groups (Callitrichidae, Primates). **Folia Primatologica**, v. 73, p. 240-251. 2002.
- SILVA, F. E. et al. In search of a meaningful classification for Amazonian marmosets: Should dwarf marmosets be considered *Mico* congenetics? **Zoologica Scripta**, v. 47, n. 2, p. 133-143, 2018.
- SILVA JR, J. S. **Especiação nos macacos-prego e caiararas, gênero *Cebus* Erxleben, 1777 (Primates, Cebidae)**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.
- SILVA JR, J. S. Taxonomy of capuchin monkeys, *Cebus* Erxleben, 1777. **Neotropical Primates**, v. 10, n. 1, p. 29, 2002.
- SPRINGER, M. S. et al. Macroevolutionary dynamics and historical biogeography of primate diversification inferred from a species supermatrix. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e49521, 2012.
- TAGLIARO, C. H. et al. Marmoset phylogenetics, conservation perspectives, and evolution of the mtDNA control region. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, n. 6, p.674-684. 1997.
- TAGLIARO, C. H. et al. Molecular phylogeny of the genus *Saguinus* (Platyrrhini, Primates) based on the ND1 mitochondrial gene and implications for conservation. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 1, p. 46-53, 2005.

VAN ROOSMALEN, M. G. M.; VAN ROOSMALEN, T. An eastern extension of the geographical range of the pygmy marmoset, *Cebuella pygmaea*. **Neotropical Primates**, v. 5, p. 3-6, 1997.

VAN ROOSMALEN, M. G. M. et al. A new and distinctive species of marmoset (Callitrichidae, Primates) from the lower Rio Aripuanã, state of Amazonas, central Brazilian Amazonia. **Goeldiana Zoologia**, v. 22, p. 1-27, 1998.

VAN ROOSMALEN, M. G. M.; VAN ROOSMALEN, T. The description of a new marmoset genus, *Callibella* (Callitrichinae, Primates), including its molecular phylogenetic status. **Neotropical Primates**, v. 11, p. 1-10, 2003.

VAN ROOSMALEN, M. G. M.; VAN ROOSMALEN, T. On the origin of allopatric primate species. **Biodiversity Journal**, v. 7, n. 1, p. 117-198, 2016.

WILDMAN, D. E. et al. A fully resolved genus level phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 53, n. 3, p. 694-702, 2009.

4 APÊNDICES

Apêndice 1. Espécies de primatas atualmente conhecidas por ocorrerem em duas regiões altamente impactadas pelo desmatamento, o sul da Amazônia e a Mata Atlântica, e seu estado de conservação de acordo com a IUCN.

^a Segundo Silva et al., 2018, a dificuldade de avistamento resultou na baixa taxa de encontro de *M. humilis* (0,066 indivíduos/km) e desta forma, a espécie deve ser reclassificada como vulnerável, como sugere Van Roosmalen & Van Roosmalen (2016).

Espécie	Status de conservação
<i>Callimico goeldii</i>	Vulnerável
<i>Callithrix jacchus</i>	Menor preocupação
<i>Callithrix penicillata</i>	Menor preocupação
<i>Callithrix kuhlii</i>	Vulnerável
<i>Callithrix geoffroyi</i>	Menor preocupação
<i>Callithrix aurita</i>	Ameaçado de extinção
<i>Callithrix flaviceps</i>	Criticamente ameaçado
<i>Cebuella pygmaea</i>	Vulnerável
<i>Cebuella niveiventris</i>	Vulnerável
<i>Saguinus imperator</i>	Menor preocupação
<i>Saguinus labiatus</i>	Menor preocupação
<i>Saguinus mystax</i>	Menor preocupação
<i>Saguinus inustus</i>	Menor preocupação
<i>Saguinus midas</i>	Menor preocupação
<i>Saguinus niger</i>	Vulnerável
<i>Saguinus ursulus</i>	Vulnerável
<i>Saguinus bicolor</i>	Criticamente ameaçado
<i>Saguinus martinsi</i>	Quase ameaçado
<i>Saguinus leucopus</i>	Vulnerável
<i>Saguinus geoffroyi</i>	Quase ameaçado
<i>Saguinus oedipus</i>	Criticamente ameaçado
<i>Leontopithecus caissara</i>	Criticamente ameaçado
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Ameaçado de extinção
<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	Ameaçado de extinção
<i>Leontopithecus rosalia</i>	Ameaçado de extinção
<i>Mico humilis</i> ^a	Menor preocupação
<i>Mico argentatus</i>	Menor preocupação
<i>Mico leucippe</i>	Menor preocupação
<i>Mico melanurus</i>	Quase ameaçado
<i>Mico intermedius</i>	Menor preocupação
<i>Mico emiliae</i>	Menor preocupação
<i>Mico nigriceps</i>	Quase ameaçado
<i>Mico rondoni</i>	Vulnerável
<i>Mico humeralifer</i>	Quase ameaçado
<i>Mico chrysoleucus</i>	Menor preocupação
<i>Mico mauesi</i>	Menor preocupação
<i>Mico saterei</i>	Menor preocupação
<i>Mico acariensis</i>	Menor preocupação
<i>Mico schneideri</i>	Vulnerável
<i>Leontocebus cruzlimai</i>	Menor preocupação

<i>Leontocebus fuscicollis</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus fuscus</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus illigeri</i>	Quase ameaçado
<i>Leontocebus lagonotus</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus leucogenys</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus nigrifrons</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus tripartitus</i>	Quase ameaçado
<i>Leontocebus weddelli</i>	Menor preocupação
<i>Leontocebus nigricollis</i>	Menor preocupação

Apêndice 2. Relação dos táxons válidos da subfamília Callitrichinae, com base nas classificações taxonômicas propostas por Buckner et al. (2015), Costa-Araújo et al. (2021), Schneider et al. (2012), Schneider & Sampaio (2013), Rylands et al. (2000); Rylands & Mittermeier (2009) e Rylands et al. (2016).

Subfamília Callitrichinae	
Callimico Miranda Ribeiro, 1912	Mico Lesson, 1840
<i>Callimico goeldii</i> (Thomas, 1904)	<i>Mico humilis</i> (Van Roosmalen et al., 1998)
Callithrix Erxleben, 1777	<i>Mico argentatus</i> (Linnaeus, 1766)
<i>Callithrix jacchus</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Mico leucippe</i> (Thomas, 1922)
<i>Callithrix penicillata</i> (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)	<i>Mico melanurus</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)
<i>Callithrix kuhlii</i> Coimbra-Filho, 1985	<i>Mico marcai</i> (Alperin, 1993)
<i>Callithrix geoffroyi</i> (Humboldt, 1812)	<i>Mico intermedius</i> (Hershkovitz, 1977)
<i>Callithrix aurita</i> (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)	<i>Mico emiliae</i> (Thomas, 1920)
<i>Callithrix flaviceps</i> (Thomas, 1903)	<i>Mico nigriceps</i> (Ferrari and Lopes, 1992)
Cebuella Gray, 1866	<i>Mico rondoni</i> Ferrari, Sena, Schneider et Silva, 2010
<i>Cebuella pygmaea</i> (Spix, 1823)	<i>Mico humeralifer</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)
<i>Cebuella niveiventris</i> Lönnberg, 1940	<i>Mico chrysoleucus</i> (Wagner, 1842)
Saguinus Hoffmannsegg, 1807	<i>Mico mauesi</i> (Mittermeier et al., 1992)
<i>S. imperator imperator</i> (Goeldi, 1907)	<i>Mico saterei</i> (Silva and Noronha, 1998)
<i>S. imperator subgriseus</i> (Lönnberg, 1940)	<i>Mico manicorensis</i> (Van Roosmalen et al., 2000)
<i>S. labiatus labiatus</i> (É. Geffroy, 1812)	<i>Mico acariensis</i> (Van Roosmalen et al., 2000)
<i>S. labiatus thomasi</i> (Goeldi, 1907)	<i>Mico schneideri</i> Costa-Araújo, Silva-Jr., Boubli, Rossi, Hrbek & Farias, 2021
<i>S. labiatus rufiventer</i> (Gray, 1843)	Leontocebus Wagner, 1839
<i>S. mystax mystax</i> (Spix, 1823)	<i>L. fuscicollis avilapiresi</i> (Hershkovitz, 1966)
<i>S. mystax pileatus</i> (I. Geoffroy & Deville, 1848)	<i>L. weddelli crandalli</i> (Hershkovitz, 1966)
<i>S. mystax pluto</i> (Lönnberg, 1940)	<i>L. cruzlimai</i> (Hershkovitz, 1966)
<i>S. inustus</i> (Schwarz, 1951)	<i>L. fuscicollis fuscicollis</i> (Spix, 1823)
<i>S. midas</i> (Linnaeus, 1758)	<i>L. fuscus</i> (Lesson, 1840)
<i>S. niger</i> (É. Geoffroy, 1803)	<i>L. nigricollis graellsii</i> (Jiménez de la Espada, 1870)
<i>S. ursulus Hoffmannsegg, 1807</i>	<i>L. nigricollis hernandezii</i> (Hershkovitz, 1982)
<i>S. bicolor</i> (Spix, 1823)	<i>L. illigeri</i> (Pucheran, 1845)

<i>Saguinus martinsi martinsi</i> (Thomas, 1912)	<i>L. lagonotus</i> (Jiménez de la Espada, 1870)
<i>Saguinus martinsi ochraceus</i> Hershkovitz, 1966	<i>L. leucogenys</i> (Gray, 1866)
<i>S. leucopus</i> (Günther, 1877)	<i>L. weddelli melanoleucus</i> (Miranda Ribeiro, 1912)
<i>S. geoffroyi</i> (Pucheran, 1845)	<i>L. nigrifrons</i> (I. Geoffroy, 1850)
<i>S. oedipus</i> (Linnaeus, 1758)	<i>L. fuscicollis primitivus</i> (Hershkovitz, 1977)
<i>Leontopithecus</i> Lesson, 1840	<i>L. tripartitus</i> (Milne-Edwards, 1878)
<i>Leontopithecus caissara</i> Lorini Persson, 1990	<i>L. weddelli weddelli</i> (Deville, 1849)
<i>Leontopithecus chrysomelas</i> (Kuhl, 1820)	<i>L. nigricollis nigricollis</i> (Spix, 1823)
<i>Leontopithecus chrysopygus</i> (Mikan, 1823)	<i>L. fuscicollis mura</i> (Röhe, Silva-Júnior, Sampaio & Rylands, 2009).
<i>Leontopithecus rosalia</i> (Linnaeus, 1766)	

Capítulo II

Artigo I: **Filogenia molecular e reconstrução biogeográfica da subfamília Callitrichinae (Primates, Cebidae)**

Este artigo será submetido ao periódico *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Seguimos as diretrizes para autores, desta forma, o manuscrito segue os tópicos, estilo de referências e citações que o periódico recomenda.

1 **Filo Filogenia molecular e reconstrução biogeográfica da subfamília Callitrichinae**
2 **(Primates, Cebidae)**

3
4 Fernanda Gomes¹, Aurycéia Guimarães¹, Adam Bessa², Iracilda Sampaio¹

5
6 ¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Pará, Campus
7 Universitário de Bragança, Pará, Brasil

8
9 ² Laboratório de Evolução, Universidade Federal do Pará, Campus Bragança, Pará, Brasil

10
11
12
13 Autor Correspondente: Fernanda Gomes

14
15 Endereço de e-mail: gomesfnp@yahoo.com.br

16
17 Endereço Postal: Universidade Federal do Pará, Alameda Leandro Ribeiro s/n, 68600-000,
18 Bragança, Pará, Brasil.

19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

51 **Resumo**

52 A subfamília Callitrichinae é representada por primatas Neotropicais de pequeno porte com
53 ampla distribuição na Amazônia e na Mata Atlântica. Embora os calitriquídeos exibam uma
54 notável distribuição, a tentativa de desvendar sua história biogeográfica tem sido limitada pela
55 falta de uma amostragem representativa do grupo. Além disso, essa subfamília tem sido alvo
56 de muitas discussões a respeito i) das relações filogenéticas entre as espécies do gênero
57 *Callithrix*, ii) quanto ao posicionamento do emblemático *M. humilis*, iii) à relação de parentesco
58 entre *Saguinus* e *Leontopithecus* e ainda a respeito sobre o gênero irmão da subfamília. Aqui,
59 construímos uma filogenia com 39 mitogenomas abrangendo as três famílias de primatas do
60 Novo Mundo. As análises de Máxima Verossimilhança e de Inferência Bayesiana são
61 congruentes e recuperam o monofiletismo do gênero *Mico*, incluindo o mico-anão *M. humilis*.
62 A estimativa de tempo de divergência mostrou que o surgimento de *M. humilis* e de *C. aurita*
63 ocorreu praticamente num mesmo momento e reforça a proposta de que “*humilis*” pertence a
64 *Mico* e não a *Callibella* como sugerido em estudos anteriores. As topologias refutam *Saguinus*
65 e *Leontopithecus* como grupo-irmão. No presente estudo, *Aotus* é grupo-irmão dos Cebídeos,
66 estando estes mais proximamente relacionados com a subfamília Callitrichinae. A reconstrução
67 da história biogeográfica sugere que o ancestral comum mais recente (MRCA) dos
68 calitriquídeos possuía ampla distribuição nas regiões florestais de Imeri, Napo e Negro há 19.3
69 Ma. Ocorreram várias colonizações na Mata Atlântica, primeiro por *Leontopithecus* há cerca
70 de 18 Ma e mais tarde por *Callithrix* por volta de 5.1 Ma. Na bacia Amazônica, a diversificação
71 dos gêneros *Leontocebus* e *Saguinus* ocorreu há 13.1 Ma. Posteriormente, *Cebuella* e *Mico* se
72 diversificaram em 8.1 Ma. As mudanças no sistema de drenagem fluvial da Amazônia, a
73 conformação dos rios, formações geológicas e as mudanças climáticas do Plio-Pleistoceno
74 foram os principais impulsionadores da origem e diversificação das espécies atuais de
75 Calitriquíneos na Amazônia. Na Mata Atlântica, os saguis e micos-leões tiveram sua
76 diversificação influenciados pelas flutuações climáticas durante o Plio-Pleistoceno e pela
77 barreira efetiva representada pelos rios Doce, Jequitinhonha e São Francisco. Este estudo, traz
78 pela primeira vez, dados de todos os gêneros de Calitriquíneos refletindo suas relações de
79 parentesco e discutindo os principais eventos que norteiam a história biogeográfica deste
80 importante grupo de primatas do Novo Mundo.

81

82 Palavras-chave: Filogenia, mtDNA, Primatas do Novo Mundo, Callitrichinae

83

84

85 1. Introdução

86 Atualmente a subfamília Callitrichinae Gray, 1821 agrupa os gêneros *Callithrix*, *Mico*,
87 *Cebuella*, *Callimico*, *Saguinus*, *Leontocebus* e *Leontopithecus* (Buckner et al., 2015; Rylands
88 et al., 2016; Schneider; Sampaio, 2013). Os gêneros estão amplamente distribuídos na Região
89 Neotropical, ocorrendo desde o norte da Colômbia e do Panamá ao sul do Brasil (Figura 1)
90 (Rylands; Coimbra-Filho; Mittermeier, 2009). Este grupo de primata do Novo Mundo é
91 composto por pequenos macacos diurnos que apresentam grande variação na coloração da
92 pelagem, pequeno tamanho corporal, unhas em forma de garras, exceto no polegar (ausente em
93 *Callimico*), molares com três cúspides e ausência de terceiro molar, exceto em *Callimico*, que
94 apresenta o terceiro molar de forma reduzida, e parto gemelar (exceto em *Callimico*, que
95 apresenta parto com apenas um filhote) (Cortés-Ortiz, 2009; Porter & Garber, 2004).

96 Diferentes filogenias foram propostas para a subfamília Callitrichinae (Barroso et al.,
97 1997; Harris et al., 2014; Schneider, 2000; Schneider & Sampaio, 2013). No entanto, apesar
98 dos numerosos estudos filogenéticos realizados com primatas Neotropicais nas últimas décadas,
99 várias questões envolvendo as relações evolutivas entre as espécies permanecem obscuras. As
100 principais discussões estão relacionadas ao parentesco entre *Saguinus* e *Leontopithecus* que em
101 algumas filogenias aparecem como grupo irmãos (Finstermeier et al., 2013; Malukiewicz et al.,
102 2017) enquanto outros estudos contestaram este agrupamento e evidenciaram que *Saguinus* e
103 *Leontopithecus* foram os primeiros gêneros a se separarem dos demais calitriquíneos (Harris et
104 al., 2014; Schneider et al., 1993; Schneider, 2000; Springer et al., 2012; Wildman et al., 2009).

105 Há mais de duas décadas, o posicionamento filogenético de *M. humilis* tem sido alvo de
106 questionamento. A linhagem “*humilis*” foi apresentada por Van Roosmalen et al. (1998) como
107 *Callithrix humilis*. Van Roosmalen & Van Roosmalen (2003) elevaram-no ao nível de gênero,
108 propondo assim um gênero novo para a Amazônia, denominado de *Callibella*. Schneider et al.
109 (2012) demonstraram que *C. humilis* agrupa com as espécies de *Mico* e não externamente a
110 *Cebuella* como haviam mostrado Roosmalen & Van Roosmalen (2003). Schneider et al. (2012)
111 recomendaram, então, o retorno de “*humilis*” ao status de espécie de *Mico*. No entanto, Silva et
112 al. (2018), contestaram esta proposta realocando *humilis* no gênero *Callibella* mesmo já tendo
113 sido comprovado a sua proximidade com as espécies do gênero *Mico* em estudos moleculares
114 (Schneider et al., 2012) e morfológicos (Garbino, 2015).

115 Várias questões da taxonomia de *Callithrix* permanecem discordantes. Os estudos de
116 Schneider et al. (2012) e Tagliaro et al. (1997) evidenciaram que *C. aurita* é a espécie mais
117 distinta do gênero, sendo a primeira a se diversificar. Sena et al. (2002) revelaram o

118 monofiletismo do grupo, porém os arranjos internos revelaram um arranjo politômico não
119 resolvido entre as espécies de *C. jacchus*, *C. penicillata* e *C. kuhlii*, sugerindo um grupo
120 parafilético. Schneider et al. (2012) apresentaram um complexo de politomias não resolvidas
121 para *C. kuhlii* e *C. penicillata*. Malukiewicz et al. (2017) demonstraram que *C. geoffroyi* é grupo
122 irmão de todas as outras espécies do grupo *jacchus*. Garbino & Martins-Junior, (2018)
123 sugeriram uma inter-relação entre *C. jacchus* / *C. penicillata* com *C. geoffroyi* como grupo-
124 irmão.

125 A identidade do grupo irmão da subfamília Callitrichinae ainda não está claro.
126 Inicialmente, Rosenberger (1981) considerou *Cebus* e *Saimiri* como grupos irmãos dos
127 callitriquíneos, enquanto (Ford (1986) concluiu que *Cebus*, *Saimiri*, *Aotus* e *Callicebus* foram
128 as primeiras ramificações da radiação dos platyrrhine. Kay (1990) classificou *Saimiri* como
129 grupo irmão dos calitriquídeos, e *Aotus* como o primeiro grupo a divergir nos Atelines. Segundo
130 alguns estudos, *Callicebus* e *Aotus* são linhagens irmãs ligadas ao clado pitheciine
131 (Rosenberger, 2011; Rosenberger et al., 1990). De acordo com Perelman et al. (2011) *Aotus* é
132 grupo irmão da subfamília Callitrichinae. No estudo de Schneider & Sampaio (2013), *Aotus* é
133 grupo irmão de *Cebus*, *Sapajus* e *Saimiri*, que aparecem como mais proximamente relacionados
134 aos calitriquídeos.

135 A primeira hipótese biogeográfica dos calitriquídeos foi focada na fragmentação de uma
136 espécie ancestral. Para Hershkovitz (1977), o táxon ancestral foi diferenciado devido ao
137 isolamento causado pela contração da floresta como resultado de inundação ou seca. Esta
138 alternativa foi avaliada por Buckner et al. (2015), no entanto, neste estudo não foi amostrado
139 toda a diversidade da subfamília Callitrichinae.

140 Filogenias baseadas em mitocôndrias de diversos grupos de primatas têm demonstrado
141 que o genoma mitocondrial pode fornecer informações confiáveis sobre as relações evolutivas
142 entre as espécies, e pode ser utilizado com sucesso para determinar a escala de tempo de sua
143 evolução (Finstermeier et al., 2013). Os estudos de Schneider (2000) e Schneider et al. (2012)
144 evidenciaram que abordagens utilizando o mtDNA mostraram resultados congruentes com
145 aquelas utilizando DNA nuclear. Filogenias baseadas em genomas mitocondriais completos
146 podem permitir um suporte estatístico mais robusto quando comparado às análises baseadas em
147 genes únicos (Liedigk et al., 2014).

148 No presente estudo, nós usamos sequências do genoma mitocondrial completo de
149 representantes da subfamília Callitrichinae, compreendendo todos os sete gêneros e os táxons
150 mais emblemáticos, a fim de propor uma análise filogenética e biogeográfica que reflita as

151 relações de parentesco evolutivo, dentro de um quadro biogeográfico condizente com a
152 distribuição dos primatas Neotropicais.

153

154 **2. Material e Métodos**

155 **2.1. Obtenção das amostras e procedimentos laboratoriais**

156 Para este estudo, foram utilizadas amostras de sangue e tecido muscular de
157 representantes de todos os gêneros da subfamília Callitrichinae (Tabela 1). Estas amostras
158 encontram-se armazenadas no banco de amostras de primatas do Laboratório de Genética e
159 Biologia Molecular do Instituto de Estudos Costeiros da Universidade Federal do Pará -
160 Campus de Bragança. O DNA total foi isolado utilizando o Protocolo de Extração de DNA do
161 Kit comercial *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega, Madison, USA), de acordo
162 com as instruções do fabricante.

163 Para a amplificação do genoma mitocondrial completo, foram desenhados 26 pares de
164 iniciadores ancorados em regiões razoavelmente conservadas do genoma, com base nos
165 mitogenomas de primatas Neotropicais disponíveis no GenBank (Tabela S1). Os fragmentos
166 do DNA mitocondrial foram isolados e amplificados utilizando a técnica de Reação em Cadeia
167 da Polimerase (PCR), com base nos iniciadores desenvolvidos no presente estudo. A mistura
168 para reação de PCR foi padronizada para um volume final de 15 µL, contendo 0,60 µL de cada
169 iniciador (50 ng/ml), 0,6 µL de MgCl₂ (50 mM), 2,4 µL do mix de dNTPs (1,25 mM), 1,5 µL
170 de Buffer 10X, 0,1 µL de *Taq* polimerase, 0,4 µL de DNA total e água destilada estéril para
171 completar o volume final.

172 As condições de amplificação foram testadas e padronizadas para cada par de
173 iniciadores. Foi utilizado uma desnaturação inicial a 94 °C por cinco minutos, seguido de 35
174 ciclos de 94 °C por 40 segundos para desnaturação, 40 segundos para o “annealing”, 72 °C por
175 um minuto para síntese do fragmento, e posteriormente, uma extensão final de 72 °C por cinco
176 minutos. As amostras de *M. humilis* e *L. weddelli* foram usadas para otimização das
177 temperaturas de “annealing”.

178 Os resultados das PCRs foram visualizados em gel de agarose a 2% corado com GelRed,
179 sob luz ultravioleta para verificação da qualidade do produto amplificado. As reações positivas
180 foram purificadas com polietileno glicol (PEG 8000) de acordo com Dun & Blattner (1987) e
181 submetidas ao sequenciamento pelo método didesoxiterminal (Sanger et al., 1977) em
182 sequenciador automático. O sequenciamento foi realizado utilizando os reagentes do *Kit Big*

183 *Dye (ABI Prism™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction – Applied Biosystems,*
184 *Foster City, CA, USA) no ABI 3500XL Genetic Analyzer.*

185

186 **2.2. Alinhamento e montagem do mitogenoma**

187 As sequências dos produtos de PCR foram alinhadas e editadas no software Bioedit
188 (HALL, 1999). Os mitogenomas completos foram alinhados na versão online do Mafft 7 (Kato
189 and Standley, 2013) usando como referência uma base de dados composta pelos genomas
190 mitocondriais completos de *L. rosalia*, *L. chrysopygus*, *C. geoffroyi*, *C. jacchus*, *C. penicillata*,
191 *C. kuhlii*, e *S. oedipus*, disponíveis no GenBank.

192 Posteriormente, foi realizada a anotação dos mitogenomas usando o MitoZ (Meng et al.,
193 2019) e o MITOS 2.0 *web-server* (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) (Bernt et al.,
194 2013), utilizando a configuração 02-vertebrado para *Genetic Code* e RefSeq 63 Metazoa como
195 referência, as configurações restantes foram definidas de acordo com *default*. Os genes
196 codificadores de proteína, foram transcritos no programa MEGA XI (Tamura et al., 2021) para
197 verificação das posições corretas dos códons. Os genes de tRNA e suas estruturas secundárias
198 foram identificados por meio do tRNAscan-SE *Search Server* v.1.21
199 (<http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>) (Lowe and Eddy, 1997).

200

201 **2.3. Análises Filogenéticas**

202 A concatenação dos dados foi realizada no programa SequenceMatrix 1.7.8 (Vaidya et
203 al., 2011). O melhor esquema de partições e respectivos modelos evolutivos foram definidos
204 pelo programa PartitionFinder (Lanfear et al., 2017). A reconstrução da história evolutiva da
205 subfamília Callitrichinae foi inferida a partir de dois critérios probabilísticos, a Máxima
206 Verossimilhança (MV) e a Inferência Bayesiana (IB). A análise de Máxima Verossimilhança
207 foi executada no IQ-Tree (Nguyen et al., 2015). Para a estimativa do suporte dos nós foram
208 realizadas 1.000 réplicas de *bootstrap* a partir de uma topologia aleatória. Os clados com valores
209 de *bootstrap* maiores que 95% foram considerados bem suportados (Hillis and Bull, 1993).

210 A análise de inferência Bayesiana (IB) foi conduzida no programa MrBayes 3.2.6
211 (Ronquist et al., 2011), utilizando duas corridas independentes, cada uma com quatro cadeias
212 markovianas (MCMC) com uma corrida de 100 milhões de gerações. As primeiras gerações da
213 corrida (25%) foram descartadas no *burn-in*. No programa Tracer 1.7 (Rambaut et al., 2018), a
214 fase estacionária das corridas foi verificada e apenas os parâmetros cujos tamanho efetivo de
215 amostragem (ESS) estavam acima de 200 foram considerados adequados.

216 **2.4. Estimativa do tempo de divergência**

217 A análise de estimativa de tempo de divergência foi realizada no programa BEAST 1.7
218 (Drummond et al., 2012). Os parâmetros dos modelos de substituição nucleotídicas e relógio
219 molecular foram desligados, enquanto as árvores foram ligadas. As partições foram
220 configuradas de acordo com os melhores modelos de substituição definidos pelo
221 PartitionFinder, e o modelo lognormal relaxado foi empregado para o relógio molecular. O
222 parâmetro da árvore foi definido como modelo Yule de especiação (Gernhard, 2008).

223 Para calibração do relógio molecular alguns pontos de calibração foram utilizados
224 baseados nas datações de Perelman et al. (2011), a considerar: (1) a radiação dos platyrrine há
225 25 Ma, (2) a radiação de Cebidae com a divergência de *Saimiri* há 20 Ma; (3) a radiação da
226 subfamília Callitrichinae com a divergência de *Saguinus* dos demais callitriquíneos há 15 Ma.
227 Foram realizadas duas corridas com 100 milhões de gerações. Os logs das duas corridas foram
228 combinados no LogCombiner 1.8.1, e no TreeAnnotator 1.8.1 as árvores foram sumarizadas,
229 com exclusão das 25% iniciais. Todas as árvores geradas no presente estudo foram visualizadas
230 e editadas no programa FigTree v.1.4.2 (Rambaut, 2014).

231

232 **2.5. Modelagem biogeográfica**

233 A história espacial e temporal da colonização da subfamília Callitrichinae na Amazônia
234 e na Mata Atlântica foi modelada no software BioGeoBEARS (Matzke, 2013). Para cada táxon
235 foi atribuído uma região geográfica definida com base nas áreas de endemismo de cada espécie,
236 atribuídas a 14 áreas biogeográficas / biomas que incluem a área de ocorrência de cada táxon
237 (Tabela 2).

238

239 **3. Resultados**

240 **3.1. Filogenética**

241 Neste estudo foram gerados 19 novos mitogenomas para a subfamília Callitrichinae. O
242 banco de dados para as análises filogenéticas foi composto por 11.337 pares de bases e contém
243 13 genes codificadores de proteínas e dois genes de RNA ribossomal (12S e 16S). A Região
244 Controle foi excluída devido aos seus altos níveis de variabilidade interespecífica. Para verificar
245 a presença de cópias nucleares de genes mitocondriais (numts), todas as sequências foram
246 submetidas ao BLASTn, e as sequências de todos os 13 genes codificadores foram traduzidas
247 em sequências de proteínas para verificar a existência de códons de parada e inserções ou
248 deleções que pudessem alterar a matriz de leitura dos aminoácidos. A análise não revelou

249 códons de parada e nenhuma tradução incorreta de proteínas, desta forma os genes foram
250 considerados como livres de numts. Além disso, os eletroferogramas de cada um dos 26
251 fragmentos apresentaram alta qualidade, sem ruído e sem nucleotídeos ambíguos, indicando a
252 ausência de heteroplasmia.

253 As análises filogenéticas (MV e IB), representadas na Figura 2, incluíram 39 genomas
254 mitocondriais, compreendendo as três famílias de primatas do Novo Mundo. Tanto a MV
255 quanto a IB produziram árvores filogenéticas congruentes que recuperam a monofilia de todos
256 os gêneros de calitriquídeos. *Saguinus* e *Leontocebus* foram os primeiros gêneros a divergir,
257 nossos dados não suportam a caracterização de *Saguinus* e *Leontopithecus* como grupos irmãos.

258 *Saguinus* formou três cladogramas principais fortemente apoiados pelas análises de MV
259 (BT=100) e de IB (PP=1.0): i) clado A, que incluiu *S. inustus* e *S. labiatus*; ii) o clado B que
260 incluiu as espécies *S. leucopus* e *S. oedipus*, da Colômbia e América Central; e iii) o clado C
261 formado pelas espécies *S. martinsi* e *S. niger*, do Escudo das Guianas e do baixo Rio Amazonas.
262 Foram recuperados alguns dos grupos de *Saguinus* descritos por Hershkovitz (1977). O grupo
263 *nigricollis* correspondeu ao atual gênero *Leontocebus*; o grupo *mystax* é representado pelo clado
264 A; o grupo *oedipus* correspondeu ao clado B; e os grupos *midas* e *bicolor* foram recuperados
265 como pertencentes ao clado C.

266 O monofiletismo do clado dos saguis foi fortemente apoiado por valores de suporte. No
267 clado amazônico, a análise distingue quatro ramificações principais no gênero *Mico*, a primeira
268 delas levou à linhagem de *M. humilis*, a segunda foi composta por *Mico argentata* e *M. rondoni*,
269 e a terceira foi representada por *M. saterei* e por fim, a mais recente que levou a diversificação
270 de *M. humeralifer* e *M. mauesi*.

271 No clado referente aos saguis da Mata Atlântica, *Callithrix*, também se observou quatro
272 diferentes eventos de diversificação. O primeiro levou a *C. aurita*, sendo esta a espécie mais
273 divergente do gênero, enquanto o segundo foi representado por *C. geoffroyi*, recuperada como
274 espécie irmã de todas as outras espécies do grupo *jacchus*, seguido por *C. kuhlii* que representou
275 a terceira ramificação, e por fim o último evento de divergência que levou a separação entre *C.*
276 *jacchus* e *C. penicillata*.

277 Quanto aos saguis pigmeus, observou-se uma clara divisão entre as margens norte e sul
278 do Rio Amazonas-Solimões, com *C. niveiventris* como a espécie mais divergente. Além disso,
279 os espécimes de *C. pygmaea* apresentaram uma forte estruturação genética. *Callimico* foi
280 recuperado como grupo-irmão do clado composto por *Cebuella*, *Mico* e *Callithrix*.

281 Embora a MV apresente alguns valores de *bootstrap* abaixo de 95, o posicionamento
 282 dos clados nas análises de MV e IB são congruentes, e nesta última, apresentam alto suporte
 283 estatístico, evidenciando que estas espécies são filogeneticamente próximas.

284

285 **3.2. Tempo de divergência**

286 Para posicionar o tempo de divergência da subfamília Callitrichinae dentro de um
 287 quadro comparativo maior, também fornecemos estimativas de tempo de divergência para
 288 outros gêneros, de forma que incluimos representantes das três famílias de primatas do Novo
 289 Mundo. O MRCA dos primatas Neotropicais foi datado em 24.8 Ma. O nó ancestral que levou
 290 ao surgimento dos Calitriquíneos foi datado em 19.3 Ma. Assim, recuperamos uma divisão
 291 entre os saguis da Amazônia e Mata Atlântica em 8.7 Ma. O tempo de divergência estimado
 292 para as linhagens genéricas foram os seguintes: *Leontocebus*: 13.1 Ma, *Saguinus* 10.7 Ma;
 293 *Leontopithecus* 18 Ma; *Callimico* 16.5 Ma; *Callithrix* 8.7 Ma; e a divisão entre *Mico* e *Cebuella*
 294 há 8.1 Ma (Figura 3).

295 O evento cladogênico que levou à divisão entre os clados dos mico de grande e de
 296 pequeno porte, ocorreu no Mioceno há aproximadamente 13.1 Ma. A origem das principais
 297 linhagens de *Saguinus* ocorreu há 10.7 Ma. A partir deste evento, surgiram as linhagens dos
 298 clados A, bem como o MRCA dos clados B e C. Posteriormente, surgiu o clado B na região
 299 Andina, ao norte da América do Sul e por último o surgimento do clado C e sua diversificação
 300 há 3.5 Ma.

301 A estimativa de tempo de divergência mostrou que os saguis da Mata Atlântica
 302 divergiram dos saguis da Amazônia em 8.7 Ma. As divergências entre as espécies de *Callithrix*
 303 ocorreram no final do Plioceno a início do Pleistoceno. A primeira divergência foi de *C. aurita*
 304 em 5.1 Ma, seguido da diversificação de *C. geoffroyi* em 1.06 Ma. A divisão mais recente dentro
 305 do grupo *jacchus*, entre *C. jacchus* e *C. penicillata*, foi datada em 405 mil anos.

306 Com relação ao gênero *Mico*, observou-se que as espécies começaram seu processo de
 307 diversificação há aproximadamente 4.9 Ma, dando origem à primeira linhagem, *M. humilis*,
 308 atualmente restrita a uma pequena área no interflúvio entre os rios Madeira e Aripuanã.
 309 Posteriormente, um evento vicariante ocorrido há 3.1 Ma levou a diversificação das linhagens
 310 que deram origem a *M. argentatus*, *M. rondoni*, *M. saterei*, *M. humeralifer* e *M. mauesi*.

311 A reconstrução da história biogeográfica da subfamília Callitrichinae foi estimada por
 312 meio do modelo BAYAREALIKE+J (Tabela 3). A reconstrução do cenário biogeográfico
 313 indicou que eventos de vicariância e de dispersão explicam as atuais distribuições das espécies

314 de calitriquídeos (Figura 4). O MRCA deste grupo de primata Neotropical possuía ampla
 315 distribuição nas regiões florestais de Imeri, Napo e Negro. Ocorreram várias colonizações na
 316 Mata Atlântica, primeiro por *Leontopithecus* e mais tarde por *Callithrix*. Na bacia Amazônica,
 317 ocorreu primeiro a diversificação dos gêneros *Leontocebus* e *Saguinus* e posteriormente,
 318 *Cebuella* e *Mico* se diversificaram e expandiram sua área de distribuição.

319

320 **4. Discussão**

321 **4.1. Filogenética**

322 As análises filogenéticas obtidas no presente estudo a partir de sequências dos genes
 323 codificadores de proteínas e ribossomais revelaram um padrão de diversificação muito similar
 324 para *Mico* e *Callithrix*. As topologias mostraram uma primeira radiação originando
 325 simultaneamente *Mico humilis* (Amazônia) e *C. aurita* (Mata Atlântica). Estas duas espécies
 326 são bem diferentes geneticamente do grupo resultante de uma segunda radiação que originou
 327 as demais espécies em cada gênero. A estimativa de tempo de divergência mostrou que o
 328 surgimento de *M. humilis* e de *C. aurita* ocorreu praticamente num mesmo momento. Por
 329 exemplo, o tempo de divergência de *M. humilis* em relação às outras espécies de *Mico* foi de
 330 4.9 Ma, e a divergência de *C. aurita* das demais espécies de *Callithrix* foi de 5.1 Ma, ou seja,
 331 bastante similares.

332 Os dados moleculares mostraram outras três radiações bem mais recentes, que
 333 originaram as demais espécies do clado amazônico, representadas neste estudo por *M.*
 334 *argentatus* e *M. rondoni*, e *M. humeralifer*, *M. mauesi* e *M. saterei*. Similar ao clado da Mata
 335 Atlântica, onde *C. geoffroyi*, *C. kuhlli* e *C. jacchus* + *C. penicillata* originaram-se a partir de
 336 três radiações. Schneider et al (2012), avaliaram as relações filogenéticas de *Mico* e *Callithrix*
 337 e recuperaram no clado *Mico* um arranjo fortemente apoiado de *M. humeralifer*, *M. mauesi* e
 338 *M. saterei*, tendo *M. argentatus* como grupo irmão, concordante com o observado neste estudo.

339 Os dados do presente estudo, claramente refutam a colocação de *Callibella* como o
 340 primeiro ramo da radiação dos saguis amazônicos, como proposto por Van Roosmalen & Van
 341 Roosmalen (2003). *Callibella* está incluído claramente dentro do gênero *Mico*, como sugerido
 342 por Schneider et al. (2012). Em todas as topologias, *M. humilis* aparece como a espécie irmã de
 343 todas as demais espécies do gênero *Mico*. As notáveis diferenças encontradas no presente
 344 estudo em comparação com as conclusões de Van Roosmalen & Van Roosmalen (2003) podem
 345 estar relacionadas ao fato de que estes autores analisaram apenas a Região Controle do mtDNA.
 346 Hoje, sabe-se que esta região é a mais variável do genoma mitocondrial, o que a torna muitas

347 vezes inadequada para inferir sobre relações filogenéticas nesta escala de tempo, considerando
348 a quantidade de homoplasia devido à saturação e os altos níveis de variabilidade interespecífica.

349 Um detalhe adicional é o fato de que a filogenia que coloca *Callibella humilis* mais
350 externamente aos saguis amazônicos apresenta valores de *bootstrap* relativamente baixos
351 (72%), quando o ideal seria considerar valores acima de 95%, o que certamente afetou a
352 confiabilidade de seus resultados. Um achado que se deve ressaltar são as datações de tempo
353 de divergência mitocondrial entre *Callibella* e *Mico* que se mostram semelhantes aos
354 encontrados entre *C. aurita* e seus congêneres e *L. chrysomelas* e as demais espécies do gênero
355 *Leontopithecus*. Em outras palavras, o sagui-anão não é mais distinto dos outros saguis
356 amazônicos (*Mico*) do que as espécies dos gêneros *Callithrix* e *Leontopithecus*. Com base em
357 caracteres morfológicos, Garbino (2013), evidenciou a existência de um grupo monofilético
358 composto por *Cebuella* e *Mico*, com *Callibella* se posicionando dentro do gênero *Mico*.

359 Claramente *M. humilis* é a espécie mais divergente dentro do gênero *Mico*, levando ao
360 questionamento de alguns estudos do “por que não o considerar *M. humilis* como gênero
361 diferente?” Para isto, devemos considerar alguns pontos: i) se a topologia for analisada somente
362 com *Mico* e *Cebuella*, não há problema em deixar *M. humilis* em um gênero próprio
363 (*Callibella*), pois *Cebuella* passaria a ser o gênero mais divergente, *Callibella* como a segunda
364 linhagem a diversificar, e por fim *Mico* como outro gênero, monofilético, irmão de *Callibella*.

365 ii) Para reforçar nossa proposta de que “*humilis*” pertence a *Mico*, analisamos o tempo
366 de divergência tanto nos cladogramas *Mico* e *Callithrix*, e verificamos que a divergência de “*humilis*”
367 em relação às espécies de *Mico* é menor do que de *C. aurita* em relação às demais espécies de
368 *Callithrix*. Estes dados consolidam a nossa proposta de manter “*humilis*” como espécie de *Mico*.
369 Caso contrário, a taxonomia de *C. aurita* deveria ser revista, passando esta a um status de gênero
370 novo na Mata Atlântica.

371 iii) Apesar de haver a possibilidade de criar gêneros com base em filogenias moleculares
372 combinadas com tempo de divergência, é importante ressaltar a ocorrência de hibridização
373 natural entre as espécies do gênero *Callithrix* (Malukiewicz, 2018; Malukiewicz et al., 2015;
374 Silva et al., 2018). Dessa forma, seria inapropriado elevar ao status de gênero uma espécie que
375 cruza naturalmente com outra espécie em ambiente natural.

376 O estudo de Tagliaro et al. (1997) traz a primeira filogenia molecular interespecífica de
377 *Callithrix*, baseada na Região Controle mitocondrial. De acordo com estes dados, *C. aurita*
378 revelou-se a espécie mais divergente e os arranjos com as demais espécies foram fracamente
379 apoiados. Perelman et al. (2011) usaram dados genéticos de 54 loci nucleares e constaram que

380 *C. aurita* é a espécie irmã do grupo *jacchus*. *C. penicillata* + *C. jacchus* e *C. kuhlii* + *C.*
381 *geoffroyi* aparecem como grupo-irmão, no entanto todos estes agrupamentos apresentam baixos
382 valores de suporte.

383 A filogenia de Springer et al. (2012), combinando dados genéticos de 69 marcadores
384 nucleares e 10 genes de mtDNA é concordante com a topologia do presente estudo, apesar dos
385 agrupamentos de *C. kuhlii* e *C. jacchus* + *C. penicillata* de Springer et al. (2012) apresentarem
386 baixo suporte estatístico. Desta forma, a topologia gerada neste estudo fortalece a evidência
387 para o agrupamento de *C. jacchus* e *C. penicillata* como grupo-irmão. Todos os outros nós
388 pertencentes ao grupo *jacchus* receberam altos valores do *bootstrap* e *pp*=1, tornando este o
389 primeiro estudo a fornecer evidências bem apoiadas para as relações evolutivas do grupo
390 *jacchus*.

391 Observamos um alto nível de diferenciação entre os dois espécimes de *C. pymaea* os
392 quais divergem há 890 mil anos, uma estimativa superior ao observado entre *M. humeralifer* e
393 *M. mauesi* e *C. penicillata* e *C. jacchus*. Em um estudo recente, Boubli et al. (2021)
394 identificaram estruturação nas duas espécies de *Cebuella* constituindo quatro diferentes
395 linhagens, sendo duas em *C. pygmaea* separadas pelo Rio Putumayo e duas linhagens de *C.*
396 *niveiventris* separadas pelo Rio Purus, evidenciando uma possível diversidade de táxons que
397 necessita de maiores investigações. *Callimico* é recuperado grupo irmão dos saguis, como
398 relatado em estudos usando dados ecológicos, morfológicos, reprodutivos e moleculares
399 (Buckner et al., 2015; Harris et al., 2014; Schneider & Sampaio, 2013).

400 Filogenias baseados em nDNA e mtDNA tem discutido a relação de *Saguinus* e
401 *Leontopithecus*, alguns os colocam como grupo-irmãos enquanto outros contestam esse
402 agrupamento. Opazo et al. (2006), usando sete genes nucleares obtiveram uma árvore bem
403 suportada que evidencia *Saguinus* e *Leontopithecus* como os primeiros gêneros a divergir
404 dentro da subfamília Callitrichinae e não corroboram *Saguinus* e *Leontopithecus* como grupo-
405 irmãos. Os resultados de Perelman et al. (2011), Schneider & Sampaio (2013) e Rylands et al.
406 (2016) também colocam *Saguinus* como um grupo não-irmão de *Leontopithecus*.

407 Springer et al. (2012) realizaram uma análise filogenética concatenada usando dados de
408 mtDNA e nDNA e relataram resultados semelhantes aos observados no presente estudo, quanto
409 ao posicionamento filogenético dos gêneros *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico* e *Callithrix*.
410 Os dados deste estudo são mais congruentes com os arranjos Springer et al. (2012) do que com
411 as análises filogenéticas realizadas por Finstermeier et al. (2013) e Malukiewicz et al. (2017),
412 que colocam *Leontopithecus* como um grupo irmão de *Saguinus*.

413 Em todas as topologias os micos de grande e pequeno porte formaram apenas quatro
 414 clados: (1) grupo *nigricollis* (*Leontocebus*), (2) grupos *mystax* e *inustus* (clado A), (3) grupo
 415 *oedipus* (clado B) e (4) grupos *midas* e *bicolor* (clado C). Diferindo de estudos anteriores que
 416 recuperaram cinco dos seis grupos propostos por Hershkovitz (1977) (Boubli et al., 2015; Cropp
 417 et al., 1999; da Cunha et al., 2011).

418

419 **4.2. Cenário biogeográfico da subfamília Callitrichinae**

420 De acordo com Hoorn et al. (2010), durante Mioceno a Amazônia Ocidental possuía um
 421 sistema fluvial com drenagem em sentido noroeste. Durante a transição do Mioceno e Plioceno,
 422 o sistema pluvial da região oeste da Amazônia evoluiu para um mega sistema de lagos e
 423 pântanos (Sistema Pebas) (Figueiredo et al., 2009; Hoorn et al., 2010).

424 Segundo Hershkovitz (1977), a região sudoeste da região Amazônica, foi a área de
 425 origem do ancestral comum dos gêneros *Leontocebus* e *Saguinus*. E nesta área, há
 426 aproximadamente 13.1 Ma ocorreu o primeiro evento vicariante que separou as duas linhagens
 427 que deram origem aos táxons atuais de cada grupo. O tempo de divergência entre os dois
 428 gêneros é concordante com a formação do sistema Pebas durante o Mioceno.

429 Ainda durante o Mioceno, foram originados os três grupos principais de *Saguinus*. Neste
 430 momento ocorre uma grande mudança no sistema fluvial amazônico, a drenagem do rio
 431 Amazonas passa a fluir em direção ao oceano Atlântico (Hoorn et al., 2017, 2010). Um evento
 432 vicariante em *Saguinus* deu origem ao ancestral do clado A e o ancestral comum dos clados B
 433 e C há cerca de 10.7 Ma, similar ao observado em estudos anteriores (Brcko et al., em
 434 preparação; Matauschek et al., 2011). Durante este período, a Amazônia Ocidental possuía
 435 grandes extensões de terras alagadas (Figueiredo et al., 2009; Hoorn et al., 2010), e o
 436 soerguimento da Cordilheira Oriental dos Andes (Rousse et al., 2003) contribuiu para o
 437 isolamento do ancestral do clado A na região sudoeste da Amazônia, enquanto o ancestral
 438 comum das demais espécies de *Saguinus* se dispersou para o noroeste do continente.

439 Com o declínio do Sistema Pebas, surgiram grandes extensões de terra que foram
 440 essenciais para a colonização e diversificação de diversos grupos (Buckner et al., 2015; Hoorn
 441 et al., 2010; Latrubesse et al., 2010), coincidindo com o início da diversificação dentro do clado
 442 A que se originou e se diversificou em Inambari, resultando no aparecimento de *S. inustus*, que
 443 se dispersou em sentido noroeste entre os rios Solimões, Japurá e Negro, e *S. labiatus* que se
 444 diversificou a partir dos afluentes que estavam se desenvolvendo na calha sul do alto rio

445 Amazonas. O padrão de diversificação do clado A coincide com as radiações de vários grupos
446 de vertebrados amazônicos durante o Plioceno (Buckner et al., 2015; Cheviron et al., 2005).

447 Outro evento cladogenético ocorrido em *Saguinus* deu origem aos ancestrais do clado
448 B e C, há cerca de 8.2 Ma. O MRCA dos clados B e C já havia se dispersado para a região
449 noroeste do continente, porém, grandes áreas alagadas impediram a sua dispersão em direção
450 ao Escudo das Guianas (Rousse et al., 2003). Desta forma, o MRCA dos clados B e C se
451 manteve isolado na região noroeste da América do Sul até o desaparecimento do Sistema Pebas
452 e a elevação da Cordilheira Oriental dos Andes. Estes eventos, associados às mudanças
453 climáticas do Plio-Pleistoceno e ao fechamento do istmo do Panamá foram os principais
454 impulsionadores para a diversificação dentro do clado B.

455 A formação da ilha do Marajó e conformação dos afluentes da calha norte do rio
456 Amazonas (Ribas et al., 2012) levaram a diversificação do clado C. Desse modo, *S. martinsi* se
457 dispersou para a região do Escudo das Guianas. A distribuição atual de *S. niger* no continente
458 e na ilha do Marajó indica que a ilha ainda estava conectada ao continente até o Plio-Pleistoceno
459 (Hoorn et al., 2010; Rossetti and Valeriano, 2007).

460 O terceiro gênero a se originar dentre os Calitriquíneos foi *Leontopithecus*. O MRCA
461 de *Leontopithecus*, *Callimico* e dos saguis foi isolado em duas populações logo após a
462 divergência de *Saguinus*. A população que levou a *Leontopithecus* foi isolada na Mata Atlântica
463 e a outra população, que deu origem a *Callimico* e todos os saguis, estava no noroeste
464 amazônico há cerca de 18 Ma. Enquanto a população ancestral levando a *Leontopithecus*
465 continuou a se diversificar na Mata Atlântica até a recente diversificação dos micos-leões
466 modernos, o ancestral dos saguis se dispersou no sudeste da Amazônia há 16.5 Ma.

467 Os micos-leões tiveram sua origem ao norte da Mata Atlântica. *L. chrysomelas* se
468 diversificou ao norte, e as outras espécies ao sul, concordante com suas ocorrências atuais. Vale
469 ressaltar que o limite norte da sua área de distribuição é o rio de Contas, e o limite sul é o Rio
470 Jequitinhonha, no Sul da Bahia (Pinto & Rylands, 1997). O limite oeste é atribuído à presença
471 da mata de cipó, formação típica de transição da Mata Atlântica-Caatinga, associada ao
472 aumento da altitude devido a sua proximidade com o planalto da Conquista (Schroth et al.,
473 2011; Zeigler et al., 2010). Na parte sul, *L. chrysopygus* também tem sua distribuição limitada,
474 estando delimitada entre os rios Paranapanema e Tietê (Iucn, 2021).

475 A diversificação dos saguis na Amazônia e Mata Atlântica é concordante com a hipótese
476 de que estes dois biomas possuíam uma conexão através de um corredor contínuo que ligava as
477 duas regiões (Buckner et al., 2015; Carneiro et al., 2018; Kenneth L Chiou et al., 2011; Lynch

478 Alfaro et al., 2012). No presente estudo, o padrão de diversificação do gênero *Callithrix*
479 evidenciou que o ancestral habitava a Mata Atlântica formado por uma única região ainda
480 contínua que ligava o norte e sul deste bioma. A diversificação das espécies *Callithrix* passou
481 por dois eventos vicariantes: o primeiro isolou *C. aurita* ao sul e o segundo evento levou ao
482 isolamento de populações de *C. kuhlii* e *C. geoffroyi* ao norte.

483 O período de transição do Plioceno-Pleistoceno é responsável pela grande diversificação
484 dos macacos do Novo Mundo em que as intensas modificações e alterações na geologia e clima
485 foram fundamentais para a diversificação das espécies e atual distribuição dos gêneros (Boubli
486 et al., 2015; Buckner et al., 2015; Kenneth L Chiou et al., 2011; Perelman et al., 2011). Por
487 último, o ancestral de *C. jacchus/C. penicillata* se dispersou no Cerrado e *C. jacchus* se
488 dispersou e ocupou a Caatinga. Um evento vicariante deixou *C. penicillata* isolado no Cerrado.

489 Segundo, Malukiewicz et al. (2021b) a existência de rios tem sido uma barreira efetiva
490 para o isolamento de espécies de primatas na Mata Atlântica. O atual padrão de distribuição das
491 espécies de *Callithrix* observado no presente estudo também pode ser explicado por rios como
492 barreira. De acordo com o estudo de Haffer & Prance (2002), o Plio-Pleistoceno foi um período
493 de intensas flutuações climáticas, o aumento no nível dos rios serviu uma como barreira para
494 explicar o processo de diversificação de três espécies de *Callithrix*.

495 O Rio Jequitinhonha possivelmente isolou *C. kuhlii* e *C. geoffroyi* ao norte, enquanto o
496 Rio Doce isolou *C. aurita* ao sul da Mata Atlântica. Assim, temos um quadro biogeográfico,
497 com *C. aurita* delimitado pelo Rio doce; *C. geoffroyi* e *C. kuhlii* separados pelo Rio
498 Jequitinhonha, e por fim *C. jacchus* e *C. penicillata* delimitados Rio São Francisco. As análises
499 biogeográficas sugeriram que a colonização de *C. jacchus* e *C. penicillata* é resultado de
500 eventos de dispersão, deste modo não podemos descartar fatores ecológicos e potenciais
501 adaptativos de cada espécie como mediadores da diversificação.

502 Com relação aos saguis amazônicos, o MRCA do clado *Cebuella* e *Mico* teve sua origem
503 nas áreas de endemismo que compreendem Imeri, Napo e Negro há 8.1 Ma. Um evento
504 cladogênico separa em duas populações, uma levando a *Cebuella* e a outra dá origem a *Mico*.
505 O ancestral das espécies de *Mico* atuais coloniza Rondônia, onde começa sua diversificação
506 para as áreas HIJ (Rondônia, Xingu e Belém). *M. humilis* foi a primeira espécie a se diversificar,
507 atualmente restrito a uma pequena área de distribuição no interflúvio entre os rios Madeira e
508 Aripuanã. A reconstrução ancestral evidencia que esta espécie possuía uma faixa de distribuição
509 muito maior abrangendo o interflúvio delineado pelos rios Madeira, Amazonas e Tapajós, como
510 sugerido por Van Roosmalen & Van Roosmalen (2016). A competição com outras espécies de

511 *Mico* é um dos principais elementos que restringem a distribuição desta espécie (Roosmalen,
512 2003; Van Roosmalen, 1998).

513 Foi durante o Plioceno há 3.1 Ma, que ocorreu a formação de dois clados, um levando
514 a *M. argentatus* e *M. rondoni* e o outro que deu origem a *M. humeralifer*, *M. mauesi* e *M.*
515 *sateri*, concordando com o declínio do sistema Pebas (Hoorn et al., 2010; Latrubesse et al.,
516 2010). O surgimento de novos rios, durante o Plioceno e a suas conformações durante o
517 Pleistoceno, levou a expansão da floresta tropical permitindo a diversificação das espécies
518 atuais (Buckner et al., 2015; Matauschek et al., 2011; Rylands et al., 2016).

519 Dentre os calitriquíneos, o gênero *Cebuella* teve sua origem e diversificação mais
520 recente. De acordo com o cenário biogeográfico, *Cebuella* apresenta ampla distribuição nas
521 áreas Imeri, Napo e Negro, por volta de 2.2 Ma um evento de migração leva a diferenciação de
522 *C. niveiventris* em Inambari. A travessia do Rio Solimões deve ter acontecido através de ilhas
523 de várzea flutuante e/ou através de meandros, que são conformações comuns de rios
524 amazônicos (Hoorn et al., 2010).

525

526 **5. Conclusões**

527 Este estudo corrobora em grande parte as filogenias anteriores de estudos moleculares
528 dos Callitriquídeos. Obtivemos uma filogenia bem resolvida baseada nos genes codificadores
529 de proteínas e ribossomais que fornece evidências conclusivas sobre o agrupamento dos táxons
530 mais emblemáticos da subfamília Callitrichinae e esclarece as principais questões em aberto na
531 filogenia do grupo. As novas informações a respeito de *M. humilis*, uma espécie considerada
532 vulnerável, facilitará a tomada de decisões para conservação deste táxon que tem sido
533 acometido pela perda de habitat e competição por recursos com outras espécies.

534 A biogeografia deste grupo de primata Neotropical teve seu início com a fragmentação
535 de um ancestral com ampla distribuição amazônica. A formação do sistema Pebas durante o
536 Mioceno, o soergimento da Cordilheira Oriental dos Andes, a formação da ilha do Marajó, o
537 declínio do sistema Pebas durante o Plioceno, a conexão da Amazônia e Mata Atlântica, a
538 conformação dos rios amazônicos e as mudanças climáticas do Pleistoceno foram os principais
539 impulsionadores da origem e diversificação das espécies atuais de Calitriquíneos na Amazônia.
540 A diversidade dos saguis e micos-leões na Mata Atlântica, é concordante com um padrão de
541 especialização em diferentes ecorregiões: *Leontopithecus* nas terras baixas, e *Callithrix* nas
542 terras altas e floresta estacional (Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga).

543

544 **Disponibilidade dos dados**

545 Os mitogenomas gerados no presente estudo serão disponibilizados no NCBI.

546

547 **Contribuição dos autores**

548 **FG:** levantamento bibliográfico, metodologia, curadoria dos dados, análises e redação do
549 manuscrito.

550 **AG:** análises, revisão e edição do manuscrito.

551 **AB:** análises, revisão e edição do manuscrito.

552 **IS:** aquisição de financiamento, administração do projeto, supervisão, revisão e edição do
553 manuscrito.

554

555 **Declaração de Interesse**

556 Nenhum potencial conflito de interesse foi relatado pelos autores.

557

558 **Agradecimentos**

559 Agradecemos a Stephen Nash pelos desenhos fornecidos para este estudo.

560

561 **Financiamento**

562 Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior
563 (CAPES), Processo N° 88882.347945/2019-01 e pela Universidade Federal do Pará.

564

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576 **6. Referências**

- 577 Arnason, U., Gullberg, A., Burguete, A.S., Janice, A., 2001. Molecular estimates of primate
578 divergences and new hypotheses for primate dispersal and the origin of modern humans.
579 *Hereditas* 133, 217–228.
- 580 Babb, P.L., Fernandez-Duque, E., Baiduc, C.A., Gagneux, P., Evans, S., Schurr, T.G., 2011.
581 mtDNA diversity in azara's owl monkeys (*Aotus azarai azarai*) of the Argentinean Chaco.
582 *American Journal of Physical Anthropology* 146, 209–224.
- 583 Barroso, C.M.L., Schneider, H., Schneider, M.P.C., Sampaio, I., Harada, M.L., Czelusniak, J.,
584 Goodman, M., 1997. Update on the Phylogenetic Systematics of New World Monkeys:
585 Further DNA Evidence for Placing the Pygmy Marmoset (*Cebuella*) within the Genus
586 *Callithrix*. *International Journal of Primatology* 18, 651–674.
- 587 Bernt, M., Donath, A., Jühling, F., Externbrink, F., Florentz, C., Fritzschn, G., Stadler, P.F.,
588 2013. MITOS: improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular*
589 *Phylogenetics and Evolution* 69, 313–319.
- 590 Boubli, J.P., Ribas, C., Lynch Alfaro, J.W., Alfaro, M.E., da Silva, M.N.F., Pinho, G.M., Farias,
591 I.P., 2015. Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: A test of the
592 riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil.
593 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 82, 400–412.
- 594 Buckner, J.C., Lynch Alfaro, J., Rylands, A.B., Alfaro, M.E., 2015. Biogeography of the
595 marmosets and tamarins (Callitrichidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 82, 413–
596 425. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.04.031>
- 597 Carneiro, J., Sampaio, I., Silva-Júnior, J., Farias, I., 2018. Phylogeny, molecular dating and
598 zoogeographic history of the titi monkeys (*Callicebus*, Pitheciidae) of eastern Brazil.
599 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 124, 10–15.
600 <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.03.001>
- 601 Cheviron, Z.A., Hackett, S.J., Capparella, A.P., 2005. Complex evolutionary history of a
602 Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical
603 hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and*
604 *Evolution* 36, 338–357. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2005.01.015>
- 605 Chiou, K L, Pozzi, L., Alfaro, J.W., Di Fiore, A., 2011. Pleistocene diversification of living
606 squirrel monkeys (*Saimiri* spp.) inferred from complete mitochondrial genome sequences.
607 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59, 736–745.

- 608 Cortés-Ortiz, L., 2009. Molecular phylogenetics of the Callitrichidae with an emphasis on the
609 marmosets and *Callimico*. The smallest anthropoids 3–24.
- 610 Cropp, S.J., Larson, a, Cheverud, J.M., 1999. Historical biogeography of tamarins, genus
611 *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. American journal of physical
612 anthropology 108, 65–89. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199901\)108:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199901)108:1)
- 613 da Cunha, D.B., Monteiro, E., Vallinoto, M., Sampaio, I., Ferrari, S.F., Schneider, H., 2011. A
614 molecular phylogeny of the tamarins (genus *Saguinus*) based on five nuclear sequence
615 data from regions containing Alu insertions. American journal of physical anthropology
616 146, 385–91. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21587>
- 617 de Freitas, P.D., Mendez, F.L., Chávez-Congrains, K., Galetti, P.M., Coutinho, L.L., Pissinatti,
618 A., Bustamante, C.D., 2018. Next-Generation Sequencing of the Complete Mitochondrial
619 Genome of the Endangered Species Black Lion Tamarin *Leontopithecus chrysopygus*
620 (Primates) and Mitogenomic Phylogeny Focusing on the Callitrichidae Family. G3 Genes,
621 Genomes, Genetics 8, 1985–1991. <https://doi.org/10.1534/G3.118.200153>
- 622 Drummond, A., Suchard, M., Xie, D., Rambaut, A., 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti
623 and the BEAST 1.7. Molecular biology and evolution 29, 1969–1973.
- 624 Figueiredo, J., Hoorn, C., van der Ven, P., Soares, E., 2009. Late Miocene onset of the Amazon
625 River and the Amazon deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin. Geology
626 37, 619–622. <https://doi.org/10.1130/G25567A.1>
- 627 Finstermeier, K., Zinner, D., Brameier, M., Meyer, M., Kreuz, E., Hofreiter, M., Roos, C., 2013.
628 A Mitogenomic Phylogeny of Living Primates. PLoS ONE 8, 1–10.
629 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069504>
- 630 Ford, S.M., 1986. Systematics of the New World monkeys. Comparative Primate Biology 1,
631 73–135.
- 632 Garbino, Guilherme S.T., 2015. How many marmoset (Primates: Cebidae: Callitrichinae)
633 genera are there? A phylogenetic analysis based on multiple morphological systems.
634 Cladistics 31, 652–678. <https://doi.org/10.1111/cla.12106>
- 635 Garbino, G.S.T., Martins-Junior, A.M.G., 2018. Phenotypic evolution in marmoset and tamarin
636 monkeys (Cebidae, Callitrichinae) and a revised genus-level classification. Molecular
637 Phylogenetics and Evolution 118, 156–171.
- 638 Haffer, J., Prance, G., 2002. Impulsos climáticos da evolução na Amazônia durante o
639 Cenozóico: sobre a teoria dos Refúgios da diferenciação biótica. Estudos avançados 16,
640 175–206.

- 641 Harris, R.A., Tardif, S.D., Vinar, T., Wildman, D.E., Rutherford, J.N., Rogers, J., Worley, K.C.,
642 Aagaard, K.M., 2014. Evolutionary genetics and implications of small size and twinning
643 in callitrichine primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*
644 *States of America* 111, 1467–1472. <https://doi.org/10.1073/pnas.1316037111>
- 645 Hershkovitz, P. 1977. Living New World Monkeys (Platyrrhini) With an Introduction to
646 Primates. *Journal of Anatomy*, 130, 2, 442.
- 647 Hillis, D.M., Bull, J.J., 1993. An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing
648 Confidence in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology* 42, 182–192.
649 <https://doi.org/10.1093/SYSBIO/42.2.182>
- 650 Hodgson, J.A., Sterner, K.N., Matthews, L.J., Burrell, A.S., Jani, R.A., Raaum, R.L., Stewart,
651 C.-B., Disotell, T.R., 2009. Successive radiations, not stasis, in the South American
652 primate fauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 5534–5539.
653 <https://doi.org/10.1073/PNAS.0810346106>
- 654 Hoon, C., Bogotá-A, G.R., Romero-Baez, M., Lammertsma, E.I., Flantua, S.G.A., Dantas,
655 E.L., Dino, R., do Carmo, D.A., Chemale, F., 2017. The Amazon at sea: Onset and stages
656 of the Amazon River from a marine record, with special reference to Neogene plant
657 turnover in the drainage basin. *Global and Planetary Change* 153, 51–65.
658 <https://doi.org/10.1016/J.GLOPLACHA.2017.02.005>
- 659 Hoon, C., Wesselingh, F.P., ter Steege, H., Bermudez, M.A., Mora, A., Sevink, J., Sanmartín,
660 I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, C.L., Figueiredo, J.P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri,
661 F.R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T., Antonelli, A., 2010.
662 Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and
663 biodiversity. *Science* 330, 927–931.
- 664 Iucn, 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. Disponível em:
665 <https://www.iucnredlist.org>
- 666 Jean P. Boubli, Mareike C. Janiak, Leila M. Porter, Stella de la Torre, Liliana Cortés-Ortiz,
667 Maria N. F. da Silva, Anthony B. Rylands, Stephen Nash, Fabrício Bertuol, Hazel Byrne,
668 Felipe E. Silva, Fabio Rohe, Dorien de Vries, Robin M. D. Beck, Irune Ruiz-Gartzia,
669 Lukas F. K. Kuderna, Tomas Marques-Bonet, Tomas Hrbek, Izeni P. Farias, Anneke H.
670 van Heteren, Christian Roos, 2021. Ancient DNA of the pygmy marmoset type specimen
671 *Cebuella pygmaea* (Spix, 1823) resolves a taxonomic conundrum. *Zoological Research*
672 42, 761–771. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2021.143>

- 673 Katoh, K., Standley, D.M., 2013. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7:
674 Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution* 30, 772–
675 780. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MST010>
- 676 Kay, R.F., 1990. The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini,
677 Anthropeidea). *The Platyrrhine Fossil Record* 175–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-260345-7.50011-4>
- 679 Lanfear, R., Frandsen, P., Wright, A., Senfeld, T., Calcott, B., 2017. PartitionFinder 2: new
680 methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological
681 phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution* 34, 772–773.
- 682 Latrubesse, E.M., Cozzuol, M., da Silva-Caminha, S.A.F., Rigsby, C.A., Absy, M.L., Jaramillo,
683 C., 2010. The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of
684 the Amazon River system. *Earth-Science Reviews* 99, 99–124.
685 <https://doi.org/10.1016/J.EARSCIREV.2010.02.005>
- 686 Liedigk, R., Roos, C., Brameier, M., Zinner, D., 2014. Mitogenomics of the Old World monkey
687 tribe Papionini. *BMC Evolutionary Biology* 2014 14:1 14, 1–12.
688 <https://doi.org/10.1186/S12862-014-0176-1>
- 689 Lowe, T.M., Eddy, S.R., 1997. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer
690 RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research* 25.
- 691 Lynch Alfaro, J.W., Boubli, J.P., Olson, L.E., di Fiore, A., Wilson, B., Gutiérrez-Espeleta, G.
692 a., Chiou, K.L., Schulte, M., Neitzel, S., Ross, V., Schwochow, D., Nguyen, M.T.T.,
693 Farias, I., Janson, C.H., Alfaro, M.E., 2012. Explosive Pleistocene range expansion leads
694 to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys.
695 *Journal of Biogeography* 39, 272–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02609.x>
- 696 Malukiewicz, J., 2018. A Review of Experimental, Natural, and Anthropogenic Hybridization
697 in *Callithrix* Marmosets. *International Journal of Primatology* 2018 40:1 40, 72–98.
698 <https://doi.org/10.1007/S10764-018-0068-0>
- 699 Malukiewicz, J., Boere, V., Fuzessy, L.F., Grativol, A.D., Silva, I. de O. e, Pereira, L.C.M.,
700 Ruiz-Miranda, C.R., Valença, Y.M., Stone, A.C., 2015. Natural and Anthropogenic
701 Hybridization in Two Species of Eastern Brazilian Marmosets (*Callithrix jacchus* and *C.*
702 *penicillata*). *PLOS ONE* 10, e0127268.
- 703 Malukiewicz, J., Hepp, C.M., Guschanski, K., Stone, A.C., 2017. Phylogeny of the *jacchus*
704 group of *Callithrix* marmosets based on complete mitochondrial genomes. *American*
705 *Journal of Physical Anthropology* 162, 157–169. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23105>

- 706 Malukiewicz, J., Cartwright, R.A., Curi, N.H.A., Dergam, J.A., Igayara, C.S., Moreira, S.B.,
707 Molina, C. v., Nicola, P.A., Noll, A., Passamani, M., Pereira, L.C.M., Pissinatti, A., Ruiz-
708 Miranda, C.R., Silva, D.L., Stone, A.C., Zinner, D., Roos, C., 2021a. Mitogenomic
709 phylogeny of *Callithrix* with special focus on human transferred taxa. BMC Genomics
710 2021 22:1 22, 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12864-021-07533-1>
- 711 Malukiewicz, J., Boere, V., Oliveira, M.A.B. de, D’Arc, M., Ferreira, J.V.A., French, J.,
712 Houman, G., Souza, C.A.I. de, Jerusalinsky, L., Melo, F.R. de, Valença-Montenegro,
713 M.M., Moreira, S.B., Silva, I. de O. e, Pacheco, F.S., Rogers, J., Pissinatti, A., Rosario, R.
714 del, Ross, C., Ruiz-Miranda, C.R., Pereira, L.C.M., Schiel, N., Silva, F. de F.R. da, Souto,
715 A., Šlipogor, V., Tardif, S., 2021b. An Introduction to the *Callithrix* Genus and Overview
716 of Recent Advances in Marmoset Research.
717 <https://doi.org/10.20944/PREPRINTS202011.0256.V2>
- 718 Matauschek, C., Roos, C., Heymann, E.W., 2011. Mitochondrial Phylogeny of Tamarins
719 (*Saguinus*, Hoffmannsegg 1807) with Taxonomic and Biogeographic Implications for the
720 *S. nigricollis* Species Group 574, 564–574. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21445>
- 721 Menezes, A.N., Viana, M.C., Furtado, C., Schrago, C.G., Seuáñez, H.N., 2013. Positive
722 selection along the evolution of primate mitogenomes. Mitochondrion 13, 846–851.
723 <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2013.06.001>
- 724 Meng, G., Li, Y., Yang, C., Liu, S., 2019. MitoZ: a toolkit for animal mitochondrial genome
725 assembly, annotation and visualization. Nucleic Acids Research 47, e63–e63.
726 <https://doi.org/10.1093/NAR/GKZ173>
- 727 Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: A Fast and
728 Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies.
729 Molecular Biology and Evolution 32, 268–274.
730 <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSU300>
- 731 Opazo, J.C., Wildman, D.E., Pritchko, T., Johnson, R.M., Goodman, M., 2006. Phylogenetic
732 relationships and divergence times among New World monkeys (Platyrrhini, Primates).
733 Molecular phylogenetics and evolution 40, 274–80.
- 734 Perelman, P., Johnson, W.E., Roos, C., Seuáñez, H.N., Horvath, J.E., Moreira, M.A.M.,
735 Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., Schneider, M.P.C., Silva, A., O’Brien,
736 S.J., Pecon-Slattery, J., 2011. A molecular phylogeny of living primates. PLoS Genetics
737 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001342>

- 738 Pinto, L., Rylands, A., 1997. Geographic distribution of the golden-headed lion tamarin,
739 *Leontopithecus chrysomelas*: implications for its management and conservation. *Folia*
740 *Primatologica* 68, 161–180. <https://doi.org/10.1159/000157244>
- 741 Porter, L.M., Garber, P. a., 2004. Goeldi's monkeys: A primate paradox? *Evolutionary*
742 *Anthropology: Issues, News, and Reviews* 13, 104–115.
743 <https://doi.org/10.1002/evan.20012>
- 744 Rambaut, A., Drummond, A., Xie, D., Baele, G., Suchard, M., 2018. Posterior summarization
745 in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology* 67, 901.
- 746 Ribas, C.C., Aleixo, A., Nogueira, A.C.R., Miyaki, C.Y., Cracraft, J., 2012. A
747 palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three
748 million years. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 681–689.
749 <https://doi.org/10.1098/RSPB.2011.1120>
- 750 Ronquist, F., Huelsenbeck, J., Teslenko, M., 2011. MrBayes version 3.2 manual: tutorials and
751 model summaries. *Manual MrBayes* 1–103.
- 752 Roosmalen, M.G.M. van, Roosmalen, T. van, 2003. The description of a new marmoset genus,
753 *Callibella* (Callitrichinae, Primates), including its molecular phylogenetic status.
754 *Neotropical Primates* 11, 1, 1-10.
- 755 Rosenberger, A.L., 2011. Evolutionary morphology, platyrrhine evolution, and systematics.
756 *Anatomical record* (Hoboken, N.J.: 2007) 294, 1955–74. <https://doi.org/10.1002/ar.21511>
- 757 Rosenberger, A.L., 1981. Systematics: the higher taxa. *Ecology and Behavior of Neotropical*
758 *Primates* 1, 9–27.
- 759 Rosenberger, A.L., Setoguchi, T., Shigehara, N., 1990. The fossil record of callitrichine
760 primates. *The Platyrrhine Fossil Record* 209–236. [https://doi.org/10.1016/B978-0-12-](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-260345-7.50012-6)
761 [260345-7.50012-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-260345-7.50012-6)
- 762 Rossetti, D.F., Valeriano, M.M., 2007. Evolution of the lowest amazon basin modeled from the
763 integration of geological and SRTM topographic data. *CATENA* 70, 253–265.
764 <https://doi.org/10.1016/J.CATENA.2006.08.009>
- 765 Rouse, S., Gilder, S., Farber, D., McNulty, B., Patriat, P., Torres, V., Sempere, T., 2003.
766 Paleomagnetic tracking of mountain building in the Peruvian Andes since 10 Ma.
767 *Tectonics* 22. <https://doi.org/10.1029/2003TC001508>
- 768 Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A.F., Mittermeier, R.A., 2009. The systematics and sistrubutions
769 of the marmosets (*Callithrix*, *Callibella*, *Cebuella*, and *Mico*) and *Callimico* (*Callimico*)

- 770 (Callitrichidae, Primates), in: *The Smallest Anthropoids*. Springer US, pp. 25–61.
771 https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0293-1_2
- 772 Rylands, A.B., Heymann, E.W., Lynch Alfaro, J., Buckner, J.C., Roos, C., Matauschek, C.,
773 Boubli, J.P., Sampaio, R., Mittermeier, R.A., 2016. Taxonomic review of the New World
774 tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 177, 1003–
775 1028. <https://doi.org/10.1111/ZOJ.12386>
- 776 Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating
777 inhibitors. *National Acad Sciences* 74, 12, 5463–5467.
- 778 Schneider, H., 2000. The current status of the New World monkey phylogeny. *Anais da*
779 *Academia Brasileira de Ciências* 72, 165–72.
- 780 Schneider, H., Schneider, M. P. C., Sampaio, I., Harada, M. L., Stanhope, M., Czelusniak, J.,
781 Goodman, M. (1993). Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini,
782 primates). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2, 3, 225-242.
- 783 Schneider, H., Bernardi, J.A.R., da Cunha, D.B., Tagliaro, C.H., Vallinoto, M., Ferrari, S.F.,
784 Sampaio, I., 2012. A molecular analysis of the evolutionary relationships in the
785 Callitrichinae, with emphasis on the position of the dwarf marmoset. *Zoologica Scripta*
786 41, 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2011.00502.x>
- 787 Schneider, H., Sampaio, I., 2013. The systematics and evolution of New World primates - A
788 review. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 82, 348-357.
789 <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.017>
- 790 Schroth, G., Faria, D., Araujo, M., Bede, L., van Bael, S.A., Cassano, C.R., Oliveira, L.C.,
791 Delabie, J.H.C., 2011. Conservation in tropical landscape mosaics: The case of the cacao
792 landscape of southern Bahia, Brazil. *Biodiversity and Conservation* 20, 1635–1654.
793 <https://doi.org/10.1007/S10531-011-0052-X>
- 794 Sena, L., Vallinoto, M., Sampaio, I., Schneider, H., Ferrari, S.F., Cruz Schneider, M.P., 2002.
795 Mitochondrial COII gene sequences provide new insights into the phylogeny of marmoset
796 species groups (Callitrichidae, Primates). *Folia Primatologica* 73, 240–251.
797 <https://doi.org/10.1159/000067456>
- 798 Silva, F., Malukiewicz, J., Silva, L., Carvalho, R., Ruiz-Miranda, R., Coelho, F., 2018. A survey
799 of wild and introduced marmosets (*Callithrix*: Callitrichidae) in the southern and eastern
800 portions of the state of Minas Gerais, Brazil. *Primate conservation* 32, 1–18.
- 801 Silva, F.E., Costa-Araújo, R., Boubli, J.P., Santana, M.I., Franco, C.L.B., Bertuol, F., Nunes,
802 H., de Souza Silva-Júnior, J., Farias, I., Hrbek, T., 2018. In search of a meaningful

- 803 classification for Amazonian marmosets: Should dwarf marmosets be considered *Mico*
804 congenerics? *Zoologica Scripta* 47, 133–143. <https://doi.org/10.1111/zsc.12278>
- 805 Springer, M.S., Meredith, R.W., Gatesy, J., Emerling, C. a, Park, J., Rabosky, D.L., Stadler, T.,
806 Steiner, C., Ryder, O. a, Janečka, J.E., Fisher, C. a, Murphy, W.J., 2012.
807 Macroevolutionary dynamics and historical biogeography of primate diversification
808 inferred from a species supermatrix. *PloS One* 7, e49521.
809 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049521>
- 810 Tagliaro, C.H., Schneider, M.P., Schneider, H., Sampaio, I.C., Stanhope, M.J., 1997. Marmoset
811 phylogenetics, conservation perspectives, and evolution of the mtDNA control region.
812 *Molecular biology and evolution* 14, 674–84.
- 813 Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics
814 Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38, 3022–3027.
815 <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- 816 Tom Hall, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis
817 program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95–98.
- 818 Vaidya, G., Lohman, D.J., Meier, R., 2011. SequenceMatrix: concatenation software for the
819 fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*
820 27, 171–180. <https://doi.org/10.1111/J.1096-0031.2010.00329.X>
- 821 Van Roosmalen, M. G. M.; Van Roosmalen, T., 2003. The description of a new marmoset
822 genus, *Callibella* (Callitrichinae, Primates), including its molecular phylogenetic status.
823 *Neotropical Primates*, 11, 1-10.
- 824 Van Roosmalen, M.G.M.; Van Roosmalen, M. G., Mittermeier, R. A., Fonseca, G. D., 1998. A
825 new and distinctive species of marmoset (Callitrichidae, Primates) from the lower Rio
826 Aripuanã, state of Amazonas, central Brazilian Amazonia. *Goeldiana Zoologia* 22, 1–27.
- 827 Van Roosmalen, M. G. M.; Van Roosmalen, T., 2016. On the origin of allopatric primate
828 species. *Biodiversity Journal*, 7, 1, 117-198.
- 829 Wang, W., Liu, J.Y., Wang, H.F., Yang, M.Y., Liu, Q.Y., Ding, M.X., 2016. The complete
830 mitochondrial genome of white-tufted-ear marmoset, *Callithrix jacchus* (Primates:
831 Callitrichinae). *Mitochondrial DNA Part A* 27, 1920–1921.
- 832 Wildman, D.E., Jameson, N.M., Opazo, J.C., Yi, S. v, 2009. A fully resolved genus level
833 phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). *Molecular Phylogenetics and Evolution*
834 53, 694–702. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.019>

- 835 Zeigler, S.L., Fagan, W.F., DeFries, R., Raboy, B.E., 2010. Identifying important forest patches
836 for the long-term persistence of the endangered golden-headed lion tamarin
837 (*Leontopithecus chrysomelas*). *Tropical Conservation Science* 3, 63–77.
838 <https://doi.org/10.1177/194008291000300106>
- 839 Zhang, X., Pan, F., Wu, Z.W., 2016. Complete mitochondrial genome of *Callithrix kuhlii*
840 (Primates: Callitrichinae) with phylogenetic consideration. *Mitochondrial DNA Part A* 27,
841 2943–2944.
- 842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867

868 **Tabela 1.** Lista das amostras sequenciadas neste estudo e suas respectivas procedências.

869

Espécie	Código LGBM	Procedência
<i>L. weddelli</i>	Sfw 2215	Rondônia, UHE Samuel, margem direita do Rio Jamari
<i>S. niger</i>	Sni1101	Tucuruí, UHE Tucuruí, margem direita do Rio Tocantins
<i>S. labiatus</i>	CTGA 167	Amazonas: Tapauá, margem direita do Rio Purus
<i>S. martinsi</i>	CTGAM 508	Terra Santa, margem direita do Rio Saracá
<i>S. leucopus</i>	Sg 21	Antioquia, Colômbia*
<i>S. inustus</i>	LB705	Comunidade Boa Esperança, Amanã
<i>C. goeldii</i>	Cgo27	Lagoinha (Acre)
<i>M. humilis</i>	Mhu01	Comunidade Nova Olinda, Rio Aripuanã-Amazonas
<i>M. mauesi</i>	LB521	Comunidade Nova Olinda, margem direita do Rio Abacaxis
<i>M. argentatus</i>	LB517	Cametá, Km 27, Camatá-Tucuruí, Ramal Ventura
<i>M. humeralifer</i>	LB803	Juruti (PA), Comunidade Jabuti, área projeto Bauxita
<i>M. saterei</i>	LB524	Município Borba (AM), margem esquerda do rio Mari-mari
<i>M. rondoni</i>	Cee4084	Rondônia, UHE Samuel, margem direita do Rio Jamari
<i>C. niveiventris</i>	CTGAM 170	Igarapé do Jacinto, Rio Purus, margem direita
<i>C. pygmaea</i>	Cpy105	Centro Nacional de Primatas do Pará
<i>C. pygmaea</i>	Cpy787	Margem esquerda do Solimões, Reserva Mamirauá
<i>C. aurita</i>	Cau1512	Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro
<i>L. chrysomelas</i>	Lc01	Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro

870 *Amostra fornecida por Manuel Ruiz-García (Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá DC.,

871 Colômbia).

872

873

874

875

876

877

878

879

880

881

882

883

884

885

886

887

888

889

890 **Tabela 2.** Regiões biogeográficas usadas para reconstruir a história biogeográfica da
 891 subfamília Callitrichinae.

892

Região Biogeográfica	Áreas de endemismo/bioma	Ocorrência das espécies
A	Chocó	<i>S. leucopus</i> , <i>S. oedipus</i>
B	Maranhão	<i>C. goeldii</i> , <i>C. niveiventris</i>
C	Imeri	<i>C. goeldii</i> , <i>C. pygmaea</i>
D	Napo	<i>C. goeldii</i> , <i>C. pygmaea</i>
E	Negro	<i>C. goeldii</i> , <i>C. pygmaea</i>
F	Inambari	<i>L. weddelli</i> , <i>S. inustus</i> , <i>S. labiatus</i> , <i>C. niveiventris</i>
G	Guianas	<i>S. martinsi</i>
H	Rondônia	<i>M. humilis</i> , <i>M. humeralifer</i> , <i>M. argentatus</i> , <i>M. rondoni</i> , <i>M. saterei</i> , <i>M. mauesi</i> , <i>S. niger</i>
I	Xingu	<i>M. humilis</i> , <i>M. humeralifer</i> , <i>M. argentatus</i> , <i>M. rondoni</i> , <i>M. saterei</i> , <i>M. mauesi</i> , <i>S. niger</i>
J	Belém	<i>M. humilis</i> , <i>M. humeralifer</i> , <i>M. argentatus</i> , <i>M. rondoni</i> , <i>M. saterei</i> , <i>M. mauesi</i> , <i>S. niger</i>
M	Cerrado	<i>C. penicillata</i>
O	Caatinga	<i>C. jacchus</i>
P	Mata Atlântica (Norte)	<i>L. chrysomelas</i> , <i>C. kuhlli</i> , <i>C. geoffroyi</i>
Q	Mata Atlântica (Sul)	<i>L. chrysopygus</i> , <i>L. rosalia</i> , <i>C. aurita</i>

893

894

895

896

897

898

899

900

901

902

903

904

905

906

907

908

909

910

911

912 **Tabela 3.** Comparação entre os seis modelos estimados no BioGeoBEARS. Para cada modelo implementado na análise são mostrados os valores
 913 de log-verossimilhança (LnL), os números dos parâmetros, dispersão (**d**), extinção (**e**), efeito fundador (**j**) e os critérios de informação de AIC.
 914

Modelos	Parâmetros	d	e	j	LnL	AICc	AICc_wt
DEC	2	0.014704338	0.044583765	0.00000000	-12777857	2.601.026	1,84E-18
DEC+J	3	0.009456072	0.007570176	0.03116440	-12514912	2.574.411	6,97E-18
DIVALIKE	2	0.014625972	0.032864229	0.00000000	-13237198	2.692.894	1,86E-20
DIVALIKE+J	3	0.011036606	0.011341865	0.01400999	-12910738	2.653.576	1,33E-19
BAYAREALIKE	2	0.009554035	0.127411780	0.00000000	-10393226	2.124.100	4,19E-08
BAYAREALIKE+J	3	0.001190310	0.000000100	0.04349964	-7182928	1.508.014	1,00E+06

915

916

917

918

919

920

921

922

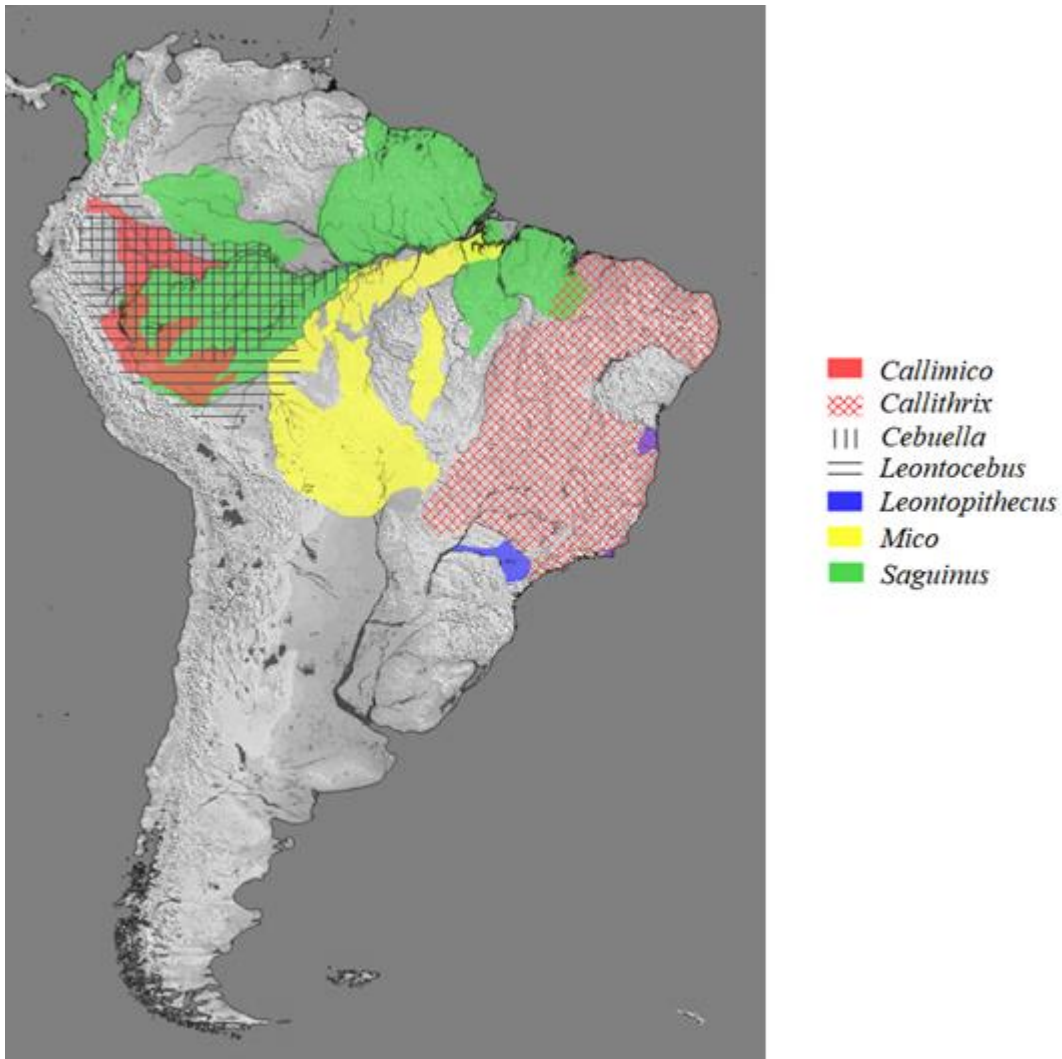
923

924

925

926

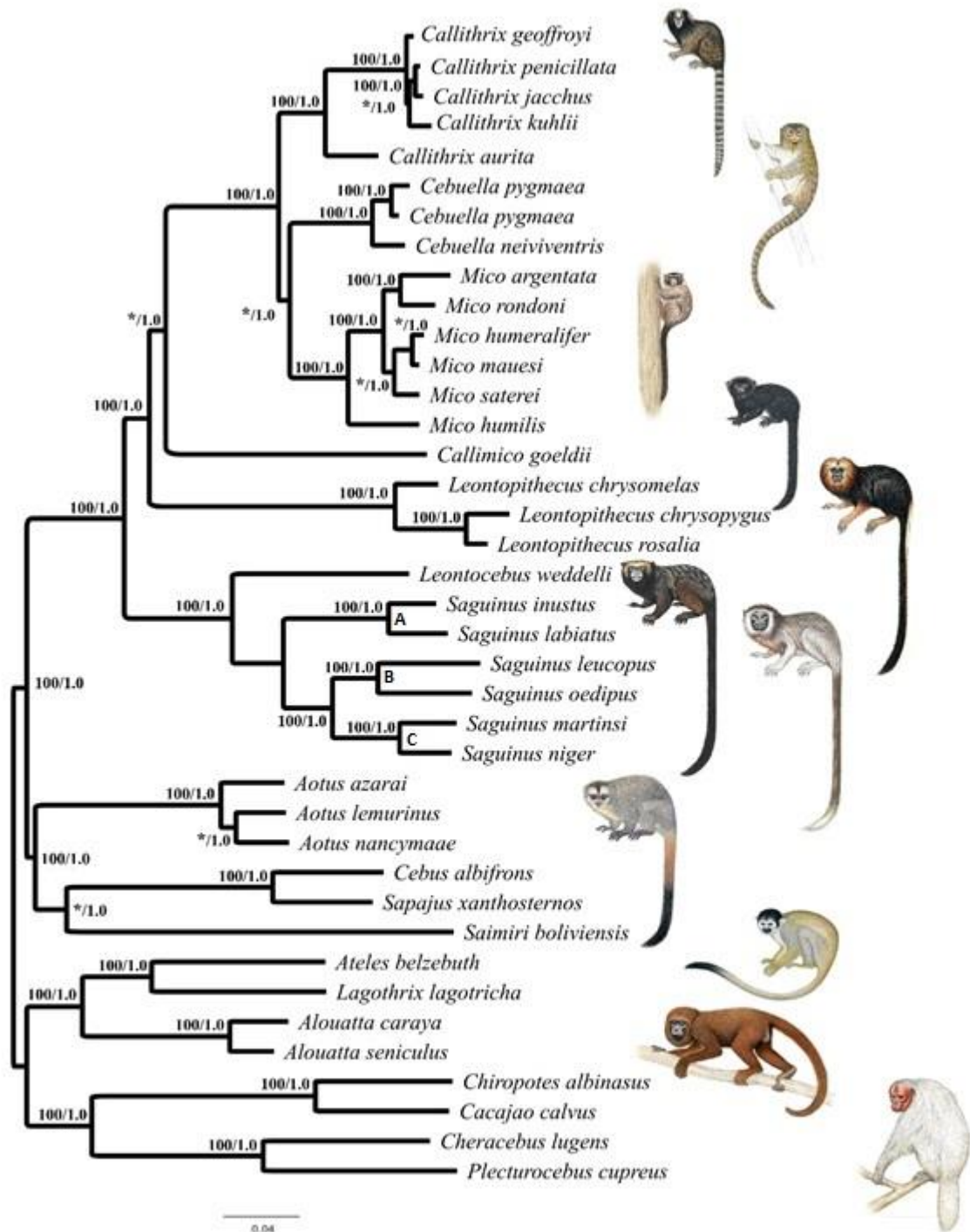
927



928

929

930 **Figura 1.** Área de distribuição geográfica da subfamília Callitrichinae. A distribuição
 931 geográfica foi obtida através da sobreposição dos *shapes* de cada gênero disponibilizados pela
 932 IUCN (2021) e corrigido com base em Kierulff et al. (2008), Porter & Garber (2004), Rylands
 933 et al. (2016), Rylands & Mittermeier (2009) e Van Roosmalem & Van Roosmalem (2016).

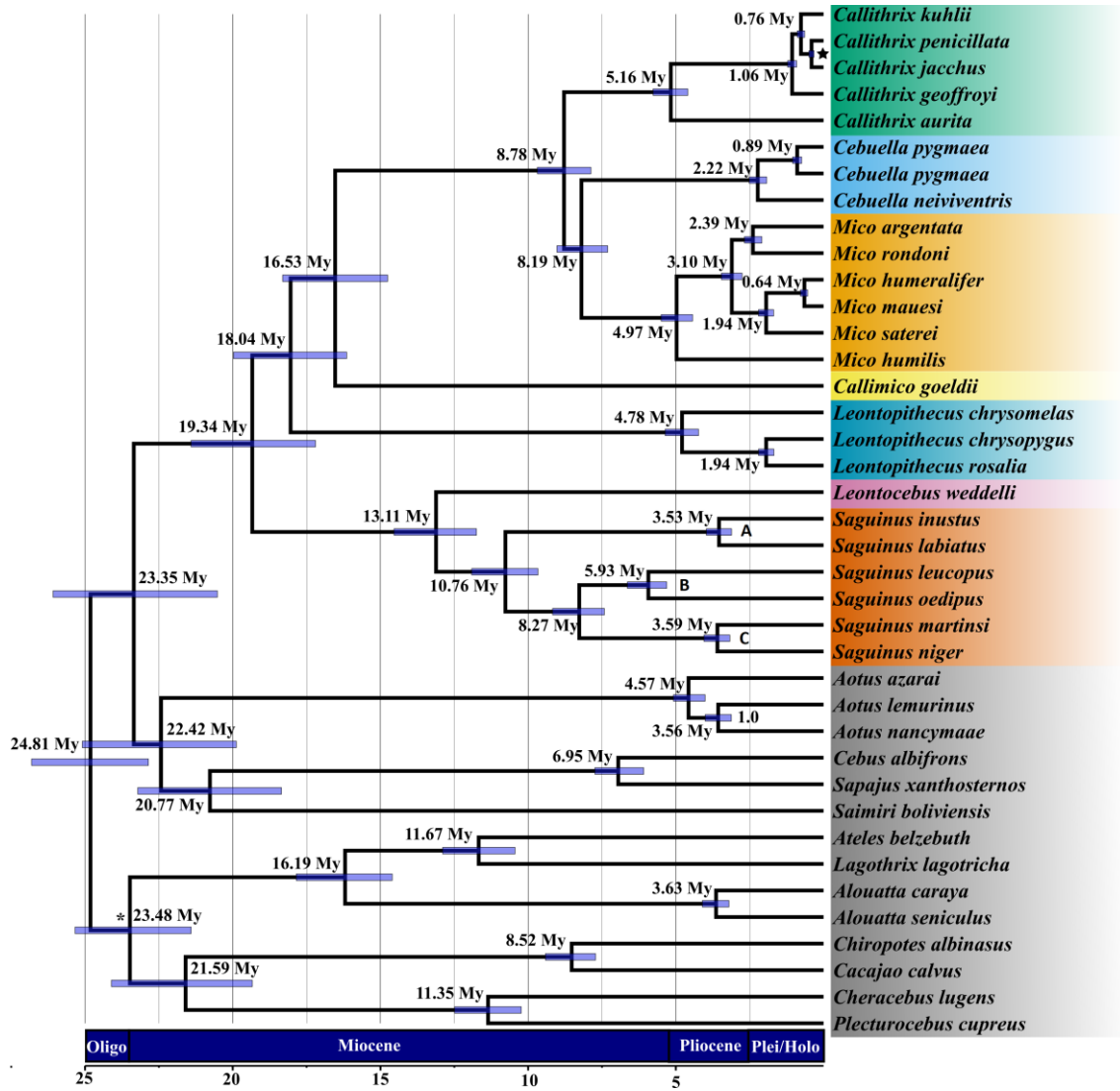


934

935 **Figura 2.** Árvore filogenética baseada nos genes codificadores de proteínas e de RNA
 936 ribossomal do genoma mitocondrial. Suporte de *bootstrap*/probabilidade posterior para análises
 937 de MV e IB são mostrados em cada nó. Os asteriscos representam valores de *bootstrap*
 938 inferiores a 95%. Desenhos autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas
 939 em Primatas.

940

941



942

943

944 **Figura 3.** Inferência Bayesiana da estimativa do tempo de divergência. As barras azuis indicam
 945 os 95% HPD de cada nó. Os números em cada nó indicam a estimativa de tempo de divergência.
 946 Todos os clados apresentam pp=1. Uma escala de tempo geológico é fornecida abaixo da
 947 árvore. O tempo é estimado em milhões de anos. Asterisco representa a diversificação de *C.*
 948 *jacchus* e *C. penicillata* (0.405 Ma).

949

950

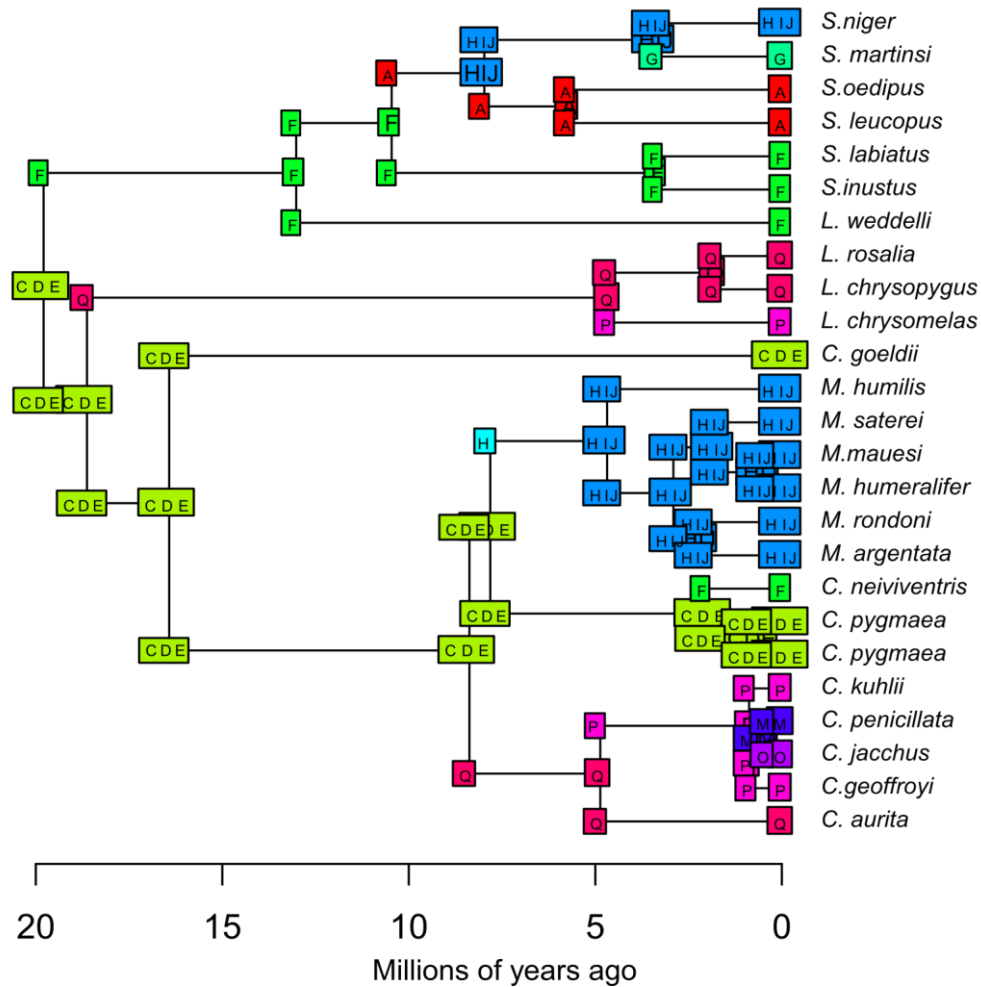
951

952

953

954

955



956

957 **Figura 4.** Reconstrução da história biogeografia da subfamília Callitrichinae. As letras em cada
 958 nó representam a área ancestral reconstruída, conforme descrito na Tabela 2.

959

960

961

962

963

964

965

966

967

968

969

970

971 **Material Suplementar**

972 Tabela S1. Primers desenvolvidos no presente estudo para a amplificação dos 26 fragmentos
 973 do genoma mitocondrial dos representantes da subfamília Callitrichinae.

974

PRIMER	SEQUÊNCIA DO PRIMER (5' --> 3')	REFERÊNCIA
Soe12S232F	AGCAGTGACAAACCTTTAGCA	Presente estudo
Soe16S1217R	CCCTTGCGGTACTGTGTCTAT	
Soe12S670F	CAGCCTGTATACCGCCATCT	Presente estudo
Soe16S1632R	TTGAGCTTGAACGCTTTCTT	
Soe16S1323F	CCCGAAACCAAGCGAGCTA	Presente estudo
Soe16S2009R	CCTTTGCACGGTCAGGGTA	
Soe16S1882F	AAAGGAACTCGGCAAACCTCT	Presente estudo
SoeLEU2676R	GTTTTATGCATTTACCGGGCT	
Soe16S2395F	ACGACCTCGATGTTGGATCA	Presente estudo
SoeND13243R	AGGAGTCAGGAGTGTCTTGT	
SoeND13071F	TGGTCCGGGTGAGCATCTA	Presente estudo
SoeND24050R	GCTTCTGTGGATCGGGGTT	
SoeGLN3752F	AGGAATCGAACCCATACCTGA	Presente estudo
SoeND24447R	TCCTATGTGGGTGATGAGGA	
SoeND24129F	CGGGCAATGATCAATTAACCC	Presente estudo
SoeTRP4960R	GGCTTTGAAGGCTCTGGTC	
SoeND24766F	CGCCTAACATACTCCATTICA	Presente estudo
SoeCOI5662R	GGATGCAAGTAGAAGGAGGAG	
SoeCOI5346F	ATGTTTCATAARYCGCTGAYTATT	Presente estudo
SoeCOI6313R	TTTGTGGAGTARTATGTACRAT	
Lweddelli COI 12F	CCAGTYCTAGCTGCHGGRATTAC	Presente estudo
Lweddelli COII 12R	TARCGTRGTGGTCGYGTTYATCC	
Soe SER 13F	CGAATACGGAAGGACTTGAACC	Presente estudo
Soe COII 13R	AGGTTCTYAAGCTTCATACTCG	
SoeATP68032F	TCAACAACCGACTCTCCTC	Presente estudo
SoeCOIII8849R	CTATTCCGTATCGAAGGCC	
SoeCOIII8635F	CCCAAGCCCTTGACCACTAA	Presente estudo
SoeND39584R	GTTGTAGGGTCCGAATCCGCA	
SoeND39505F	ACCATCGCATTCTGAATCCCA	Presente estudo
SoeND410344R	AGGGGTGATGCTAATGGATCT	
SoeND4L9948F	TCACTGCTATGTTTAGAGGGCA	Presente estudo
SoeND410850R	CTGCTGCAAGTACCATTGAGC	
SoeND410583F	GCCGGCTCGTACTTCCTAT	Presente estudo
SoeND411404R	TGGCCCTCGTTGTGTTGAG	
SoeND411225F	TGACTCCTAGCTAACCTCGCT	Presente estudo
SoeND512221R	GTGTTGGCATCTGTTCGGC	
SoeND511987F	TGTTCAACCCTGTAGCACT	Presente estudo
SoeND512933R	ATACGACGTGTTGGCGGTT	
Soe ND5 21F	TTYTCWACCTCAAGCCAACTAGG	Presente estudo
Soe ND6 21R	CGTCGTGGYCAVCCTAGAGTGCT	
SoeND512938F	ACGCCTGAGCACTCACAAC	Presente estudo
SoeND613755R	GGTGGGGACCCTATTCAAA	
SoeND613631F	TACAAAGCAGCAGCACCCG	Presente estudo
SoeCYTB14414R	ATATGGATGCGCCGTTAGC	
Lweddelli ND6 24F	GCATATGTCATTATCCCACATGG	Presente estudo
LweddelliCYTB 24R	CGTATYCGMTAGGAGCTAGTAGG	
SoeCYTB14975F	GCATACGCAATCCTACGGTC	Presente estudo
SoeDLOOP15761R	TGGTTTACGGAGGTTGGT	
SoePRO15377F	TCTACCATCAACCCAAAGC	Presente estudo
SoeDLOOP15933R	AAAGAGGGTGATAGCGCCAC	
SoeDLOOP15845F	GGTTCCTACTTCAGGGCCA	Presente estudo
Soe12S315R	GGTGGCTGGCACGAAATTG	

975

976

977

978 Tabela S2. Lista das espécies baixadas do GenBank para a análise filogenética e seus
 979 respectivos números de acesso.

980

Espécie	Número de acesso	Referência
<i>Callithrix jacchus</i>	NC025586	Wang et al. (2016)
<i>Callithrix penicillata</i>	KR817256	Malukiewicz et al. (2017)
<i>Callithrix kuhlii</i>	KR869628	Zhang et al. (2016)
<i>Callithrix geoffroyi</i>	KC757388	Finstermeier et al. (2013)
<i>Saguinus oedipus</i>	KC757409	Finstermeier et al. (2013)
<i>Leontopithecus rosalia</i>	NC021952	Finstermeier et al. (2013)
<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	NC037878	De Freitas et al. (2018),
<i>Aotus azarai</i>	NC021939	Finstermeier et al. (2013)
<i>Aotus lemurinus</i>	NC019799	Hodgson et al. (2009)
<i>Aotus nancymae</i>	JN161101	Babb et al. (2011)
<i>Lagothrix lagotricha</i>	NC021951	Finstermeier et al. (2013)
<i>Saimiri boliviensis</i>	NC018096	Chiou et al. (2011)
<i>Sapajus xanthosternos</i>	NC021961	Finstermeier et al. (2013)
<i>Cebus albifrons</i>	NC002763	Arnason et al. (2001)
<i>Cacajao calvus</i>	NC021967	Finstermeier et al., (2013)
<i>Alouatta caraya</i>	KC757384	Finstermeier et al., (2013)
<i>Ateles belzebuth</i>	NC019800	Hodgson et al. (2009)
<i>Chiropotes albinasus</i>	NC021946	Finstermeier et al. (2013)
<i>Plecturocebus cupreus</i>	NC021965	Finstermeier et al. (2013)
<i>Cheracebus lugens</i>	NC024630	Menezes et al. (2013)

981

982

983

984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995

996

Capítulo III

Artigo II: Mitogenômica comparativa revela estrutura, organização e código genético dos Primatas Neotropicais

Este artigo será submetido ao periódico *Plos One*. Seguimos as diretrizes para autores, desta forma, o manuscrito segue os tópicos, estilo de referências e citações que o periódico recomenda.

1 **Mitogenômica comparativa revela estrutura, organização e código genético dos Primatas**
2 **Neotropicais**

3

4 Fernanda Gomes¹, Aurycéia Guimarães¹, Luan Rabelo², Iracilda Sampaio¹

5 ¹Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Pará, Campus
6 Universitário de Bragança, Pará, Brasil

7 ²Laboratório de Evolução, Universidade Federal do Pará, Campus Bragança, Pará, Brasil

8

9 Autor Correspondente: Fernanda Gomes

10 Endereço de e-mail: gomesfnp@yahoo.com.br

11 Endereço Postal: Universidade Federal do Pará, Instituto de Estudos Costeiros. Alameda
12 Leandro Ribeiro s/n, 68600-000, Bragança, Pará, Brasil.

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29 Resumo

30 Realizamos um estudo comparativo com 25 mitogenomas da subfamília Callitrichinae, um
31 grupo de primata Neotropical que se distribui na Amazônia e Mata Atlântica. O genoma
32 mitocondrial completo dos primatas do Novo Mundo, corresponde a uma molécula de dupla
33 fita circular, composto por 38 genes, sendo 13 PCGs, 22 genes de tRNA, dois genes de rRNA
34 e duas regiões não codificadoras. A cadeia pesada possui 12 PCGs, 14 genes de tRNA, dois
35 genes de rRNA, e duas regiões não codificadoras, enquanto a cadeia leve contém apenas um
36 gene codificador e oito genes de tRNA. Todas as espécies estudadas, compartilham a ordem
37 dos genes de tRNA na região WANCY típica de vertebrados. Os resultados do presente estudo
38 evidenciaram a presença de uma sequência não codificadora com cerca de 32 pb entre os genes
39 de tRNA Asparagina e Cisteína. Os genes codificadores de proteínas apresentam quatro
40 diferentes *start* códons: ATG, ATA e ATT e GTG. Observou-se quatro *stop* códons completos:
41 TAG, TGA, TAA e AGG, este último exclusivo do gene COI. A frequência dos aminoácidos
42 isoleucina, leucina, prolina, serina e treonina foram dominantes em relação aos demais
43 aminoácidos. Estes aminoácidos são, em sua maioria, compostos por A ou T na segunda e
44 terceira posição do códon, contribuindo para o viés A+T de todo o mitogenoma. Não
45 observamos rearranjos de genes em todo o genoma mitocondrial e nas três famílias de primatas
46 neotropicais, a região controle é a principal fonte de variação no tamanho dos mitogenomas. Os
47 dados de mitogenômica comparativa reforçam o posicionamento de *M. humilis* no gênero *Mico*,
48 e ainda refutam o agrupamento de *Leontopithecus*, *Saguinus* e *Leontocebus* como grupo-irmão.
49 As análises de composição de bases, tamanho dos fragmentos do genoma e uso de aminoácidos
50 revelou uma forte similaridade entre os gêneros *Cebus*, *Sapajus*, *Saimiri* e *Aotus*, que por sua
51 vez, não apresentam diferenças significativas com relação ao seu grupo mais proximo
52 relacionado, a subfamília Callitrichinae. Neste estudo, fornecemos os primeiros dados de
53 mitogenômica comparativa para os sete gêneros da subfamília Callitrichinae. Além disso
54 descrevemos, pela primeira vez, o mitogenoma de representantes do gênero *Mico* e
55 *Leontocebus*.

56

57 **Palavras-chave:** Mitogenoma, Origem da Cadeia Leve, Primatas do Novo Mundo,
58 Callitrichinae

59

60

61

62 **Introdução**

63 Os avanços no sequenciamento de DNA, juntamente com os melhoramentos nos
64 programas de bioinformática facilitaram a inferência de filogenias baseadas em mitogenomas
65 [1,2]. Tais filogenias são cruciais para a reconstrução da história evolutiva dos numerosos
66 grupos taxonômicos, incluindo primatas, tornando-se uma ferramenta ainda mais vantajosa pelo
67 fato de que o genoma mitocondrial não possui íntrons e as regiões intergênicas geralmente são
68 muito pequenas [3], associado ao fato de ser de fácil amplificação e apresentar muitas cópias
69 por célula [2].

70 O genoma mitocondrial dos primatas neotropicais contém de 15 a 17 quilobases (kb) e
71 tamanho variável entre as espécies [4]. As duas fitas do mtDNA possuem composição de bases
72 diferentes e por isso recebem diferentes nomes: a cadeia H (de *heavy* ou pesada) é rica em
73 guaninas e a cadeia L (de *light* ou leve) é rica em citosinas [1]. Essa molécula contém, em sua
74 maioria, sequências não repetitivas: geralmente possui dois genes que codificam RNAs
75 ribossomais (12S e 16S rRNA), 22 genes que codificam RNAs transportadores (tRNAs), 13
76 genes codificadores de proteínas (*protein-coding genes* - PCGs), e a Região Controle não
77 codificadora que contém os sítios para replicação e início da transcrição do genoma
78 mitocondrial [5].

79 O processo de replicação do mtDNA tem início com a síntese da cadeia pesada, na
80 origem de replicação da fita H (OH) [6]. A síntese prossegue unidirecionalmente e após
81 aproximadamente um terço da fita H ter sido replicada, a origem da replicação da cadeia leve
82 (OL) torna-se exposta e, então, a replicação da fita L é iniciada, seguindo em direção oposta à
83 fita H [7]. A sequência OL, um segmento de DNA não codificador com cerca de 32 pares de
84 bases, está localizada na região WANCY, uma região que codifica cinco genes de tRNA
85 (Triptofano, Alanina, Asparagina, Cisteína e Tirosina) [8].

86 Além da amplificação e sequenciamento das porções do mtDNA, mais informações
87 podem ser acessadas a partir do sequenciamento do genoma mitocondrial completo [4]. Em
88 uma busca no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), em janeiro de 2022, foi
89 retornado um total de 124 mitogenomas disponíveis da ordem Primatas, dos quais 25
90 correspondem a primatas do Novo Mundo, mas apenas nove são da subfamília Callitrichinae.
91 Até a data da busca, não existiam sequências do genoma mitocondrial de representantes dos
92 gêneros *Mico* e *Leontocebus*.

93 As espécies da subfamília Callitrichinae apresentam características exclusivas como o
94 pequeno tamanho corporal, unhas em forma de garras, exceto no polegar (ausente em

95 *Callimico*); molares com três cúspides e ausência de terceiro molar, exceto em *Callimico*, que
96 apresenta o terceiro molar de forma reduzida; parto gemelar (exceto em *Callimico*, que
97 apresenta parto com apenas um filhote) [9,10]. No presente estudo, sequenciamos 18 genomas
98 mitocondriais completos compreendo sete gêneros que incluem os saguis amazônicos (*Mico* e
99 *Cebuella*), os saguis da Mata Atlântica (*Callithrix*), o macaco goeldi (*Callimico*), micos
100 (*Saguinus* e *Leontocebus*) e os micos-leões (*Leontopithecus*) [11–13].

101 Devido à variação dentro da subfamília Callitrichinae este grupo é ideal para realizar
102 uma análise comparativa dos mitogenomas de representantes de todos os gêneros para fornecer
103 insights sobre a evolução do genoma mitocondrial dos primatas Neotropicais.

104

105 **Material e Métodos**

106 **Extração de DNA, Montagem do Mitogenoma e Anotação**

107 As amostras utilizadas no presente estudo estão listadas na Tabela 1. O isolamento do
108 DNA total das amostras (sangue ou tecido muscular) foi realizado utilizando o “kit de DNA
109 Purification Wizard Genomic” (Promega®) de acordo com o protocolo do fabricante. A
110 amplificação do mitogenoma foi realizada utilizando 26 pares de iniciadores desenhados para
111 os calitriquíneos. O sequenciamento foi realizado pelo método didesoxiterminal [14] em
112 sequenciador automático ABI 3500XL. As sequências dos mitogenomas de *Leontopithecus*
113 *rosalia* (NC021952), *L. chrysopygus* (MG933868), *Callithrix geoffroyi* (NC021941), *C.*
114 *jacchus* (KM588314), *C. penicillata* (NC030788), *C. kuhlii* (NC027658) e *Saguinus oedipus*
115 (NC021960) foram obtidas do GenBank. Esses mitogenomas foram incluídos e analisados
116 juntamente com dados gerados no presente estudo, para fins de comparação.

117 Todos os fragmentos sequenciados no presente estudo foram alinhados e editados no
118 software Bioedit [15]. Posteriormente, os mitogenomas foram alinhados na versão online do
119 Mafft 7 [16] utilizando como referência uma base de dados composta pelos genomas
120 mitocondriais completos de *L. rosalia*, *L. chrysopygus*, *C. geoffroyi*, *C. jacchus*, *C. penicillata*,
121 *C. kuhlii*, e *S. oedipus*, obtendo assim, uma sequência consenso de todos os fragmentos para
122 cada genoma.

123 Todos os genomas foram anotados utilizando o MitoZ [17] e o MITOS 2.0 *web-server*
124 (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) [18], utilizando a configuração 02-vertebrado
125 para *Genetic Code* e RefSeq 63 Metazoa como referência, as configurações restantes foram
126 definidas de acordo com *default*. Os genes de tRNA e suas estruturas secundárias foram

127 identificados no tRNAscan-SE Search Server v.1.21 (<http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>)
128 [19]. Os PCGs, foram transcritos no programa MEGA XI [20].

129 O uso relativo de códons sinônimos (*Relative Synonymous Codon Usage – RSCU*) foi
130 calculado utilizando o PhyloSuite v1.2.2 (ZHANG, 2020).O tamanho dos genomas, a
131 composição de bases e a composição de aminoácidos foi calculada utilizando os scripts do
132 pacote Biopython (<https://biopython.org/>) e posteriormente adicionado ao pacote plotly
133 (<https://plotly.com/python/>) para a geração dos gráficos.

134 As ilustrações dos mitogenomas foram geradas através do servidor online
135 CGview (<http://cgview.ca/>) [21]. A paleta de cores das imagens do presente estudo, foi
136 adaptada para daltônicos com protanopia e deuteranopia [22]. A árvore de Máxima
137 Verossimilhança (MV) foi executada no programa IQ-Tree [23]. Para a estimativa do suporte
138 dos nós foram realizadas 1.000 réplicas de *bootstrap* a partir de uma topologia aleatória.
139 Posteriormente as árvores foram sumarizadas no TreeAnnotator 1.8.1, com exclusão das 25%
140 iniciais. A visualização e edição da árvore foi realizada no FigTree v.1.4.2 [24].

141

142 **Resultados e Discussão**

143 **Estrutura, organização e composição do genoma mitocondrial**

144 Os mitogenomas das 17 espécies de calitriquíneos, sequenciados no presente estudo,
145 correspondem a uma molécula de dupla fita circular, similar a outros genomas mitocondriais
146 da subfamília Callitrichinae [2,4,5]. O genoma mitocondrial completo destas espécies é
147 composto por 38 genes, sendo 13 PCGs (ATP6, ATP8, COI, COII, COIII, CYTB, ND1, ND2,
148 ND3, ND4, ND4L, ND5 e ND6), 22 genes de tRNA e dois genes de rRNA (12S rRNA e 16S
149 rRNA) e duas regiões não codificadoras (Região Controle e OL) (Figura 1 a 12). A ordem dos
150 genes é idêntica à de outros primatas neotropicais, e nenhum rearranjo foi observado quando
151 analisamos os mitogenomas das três famílias de platirrine (Cebidae, Atelidae e Pitheciidae).

152 O tamanho dos 25 mitogenomas, analisados no presente estudo, variaram de 16.246 bp
153 (*C. penicillata*) a 16.872 bp (*L. rosalia*), com um tamanho médio de 16,4 kb. A variação de
154 tamanho observada entre os mitogenomas pode ser atribuída principalmente à variação de
155 comprimento da Região Controle (Figura 13C). Além disso, todos os mitogenomas
156 apresentaram um forte viés de nucleotídeos AT, uma vez que o conteúdo A + T foi mais rico
157 que o conteúdo de G + C em todas as espécies analisadas, similar ao observado em outros
158 estudos [2,4] (Figura 13B).

159 Em todas as espécies analisadas, evidenciamos que a cadeia pesada possui 12 PCGs, 14
 160 genes de tRNA, dois genes de rRNA, e duas regiões não codificadoras (Região Controle e OL),
 161 enquanto a cadeia leve contém apenas um gene codificador (ND6) e oito genes de tRNA
 162 (tRNAGln, tRNAAla, tRNAAsn, tRNACys, tRNATyr, tRNASer, tRNAGlu e tRNAPro)
 163 (Tabela S1 a S9).

164

165 **Genes de RNA Ribossômico e de Transferência**

166 Os tRNAs são compostos por quatro braços, os quais correspondem a uma haste
 167 acceptora (local de ligação do aminoácido), ao braço D (alça que contém a base diidrouridina
 168 modificada), ao braço do anti-códon (alça que contém o anti-códon) e ao braço T (alça que
 169 contém a pseudouridina). Os 22 genes de tRNA espalham-se pelo genoma, onde encontram-
 170 se intercalados entre os genes de rRNA e os genes codificadores de proteínas e variam de 59
 171 pb (tRNASer) a 75 pb (tRNALeu).

172 Igual ao comumente encontrado em outras espécies de platirrini, 21 genes de tRNA
 173 podem ser dobrados na estrutura secundária típica de trevo, com exceção do tRNASer, cujo
 174 braço de diidrouridina foi perdido [2,4]. Todos os mitogenomas contém dois tRNAs
 175 codificados para serina e leucina com diferentes anticódons. As sequências dos anticódons
 176 foram conservadas em todas as espécies da subfamília Callitrichinae.

177 Todas as espécies de primatas Neotropicais estudadas, compartilham a ordem dos genes
 178 de tRNA na região WANCY típica de vertebrados (isto é, tRNATrp, tRNAAla, tRNAAsn,
 179 tRNACYS e tRNATyr). Os resultados do presente estudo evidenciam a presença de uma
 180 sequência não codificadora com cerca de 32 pb entre os genes de tRNA Asparagina e Cisteína
 181 (Figura 1 a 12). Em mamíferos, esta sequência corresponde ao local de origem da replicação da
 182 fita L, (OL) [25].

183 Os genes de tRNA da região WANCY formaram um grupo compacto com sequências
 184 intergênicas muito curtas. Em todas as espécies o tRNAAla foi separado por um nucleotídeo
 185 do tRNAAsn, que por sua vez apresentaram dois nucleotídeos que o separa da região OL. O
 186 tRNATrp e o tRNAAla apresentaram um espaço intergênico de nove nucleotídeos no gênero
 187 *Leontopithecus*, nos demais gêneros são oito. Os genes tRNACys e tRNATyr se sobrepõem por
 188 um nucleotídeo, a região OL e o tRNACys também se sobrepõem em um nucleotídeo.

189 Os dois genes de rRNA, 12S e 16S, como em outros vertebrados, estão localizados entre
 190 os genes tRNAPhe e tRNALeu, e são separados pelo tRNAVal. O rRNA 12S é menor do que

191 sua contraparte rRNA 16S, mas suas composições de nucleotídeos não diferem
192 significativamente.

193

194 **Genes Codificadores de Proteínas**

195 O código genético utilizado nas mitocôndrias de vertebrados, em *Drosophila*, em
196 leveduras e nas plantas apresentam determinadas diferenças. Um exemplo disso é a trinca AGG
197 que codifica a serina em *Drosophila* e arginina em plantas e fungos, mas corresponde a um
198 códon de parada no mtDNA de mamíferos [2,25]. Para os calitriquíneos, observamos quatro
199 códons de terminação completos: TAG, TGA, TAA e AGG. Códon de parada incompletos (T)
200 e (TA) são presumivelmente concluídos como TAA por poliadenilação pós-transcricional
201 [26].

202 O stop códon TAA foi o mais prevalente, seguido por TAG, TGA e finalmente por
203 AGG, o qual é exclusivo do gene COI. O códon de parada incompleto T foi observado nos
204 genes ND2, ND3 e COII em quase todas as espécies da subfamília Callitrichinae, com exceção
205 dos representantes do gênero *Leontopithecus*, os quais apresentaram esse *stop* códon apenas
206 no gene ND3. Todas as espécies apresentam AGG como *stop* códon do COI. O gene CYTB
207 apresenta dois *stop* códon (TAA e TAG), no gênero *Callithrix* apenas *C. aurita* apresenta TAA,
208 as demais espécies são TAG. Nos gêneros *Cebuella*, *Callimico*, *Mico*, *Leontocebus* e
209 *Leontopithecus* todas as espécies possuem stop códon TAA no CYTB. Com exceção de
210 *Callimico goeldii*, todos os demais calitriquíneos apresentaram TAA como *stop* códon do ND1.
211 Com relação ao gene ND4L, todas as espécies estudadas apresentaram *stop* códon TAA.

212 Os PGCs correspondem aproximadamente a 69,1% do mitogenoma, totalizando 11.337
213 pb. Apresentam quatro diferentes *starts* códons: ATG (Metionina), ATA e ATT (Isoleucina) e
214 GTG (Valina). ATG é o códon de iniciação de nove dos 13 PGCs, com exceção de *Saguinus*
215 e *Leontocebus* que são oito (o gene ND4L tem GTG como *start* códon). O gene ND1 apresenta
216 dois *starts* códons, dos quais ATG exclusivo de *Saguinus* e *Leontopithecus*, enquanto nos
217 demais gêneros, o códon de iniciação é GTG. Todas as espécies analisadas possuem ATA
218 como códon de iniciação do gene ND5.

219 O tamanho dos PGCs mostrou-se relativamente conservado na maioria dos gêneros de
220 primatas do Novo Mundo. Especificamente na subfamília Callitrichinae, três modificações no
221 tamanho dos genes são mais evidentes. No gênero *Saguinus*, nota-se um aumento no tamanho
222 do gene ATP8 de *S. leucopus*. Além disso, observa-se uma redução no tamanho do gene ND4L

223 de *L. chrysomelas* e nota-se também uma redução no tamanho total do gene ND5 de *M. humilis*
 224 (Figura 13C).

225 Quatro sobreposições ocorreram nos PGCs: ATPase8 e ATPase6, ATPase6 e COIII,
 226 ND4L e ND4. Os gêneros *Cebuella*, *Callimico*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Leontocebus* e
 227 *Leontopithecus* compartilham 46 pb, enquanto no gênero *Mico* são 40 nucleotídeos, sobrepostos
 228 entre os genes ATPase8 e ATPase6. Um nucleotídeo é compartilhado pelos genes ATPase6 e
 229 COIII. Com relação aos genes ND4L e ND4, nos gêneros *Cebuella*, *Callimico*, *Callithrix*,
 230 *Saguinus* e *Leontocebus* há o compartilhamento de sete nucleotídeos, em *Leontopithecus* são
 231 três. Observa-se que no gênero *Mico*, *M. rondoni*, *M. argentatus* compartilham sete
 232 nucleotídeos, o qual é corroborado pela sua proximidade filogenética, enquanto nas demais
 233 espécies são quatro.

234 Além disso, há cinco sobreposições conservadas entre os setes gêneros da subfamília
 235 Callithrinae, sendo três nucleotídeos entre tRNAIle e tRNAGln, um nucleotídeo entre OL e
 236 tRNACys, um nucleotídeo entre tRNACys e tRNATyr, um nucleotídeo compartilhado pelos
 237 genes ATPase6 e COIII e um nucleotídeo entre COIII e tRNAGly.

238 O mitogenoma dos calitriquíneos possui 15 espaçadores, variando em 1 a 36 bp. O maior
 239 espaçador intergênico está localizado entre o gene ND2 e tRNA Trp (36 nucleotídeos). O menor
 240 espaçamento intergênico total foi observado em *S. martinsi* (94 nucleotídeos) e o maior em *M.*
 241 *mauesi* (122 nucleotídeos), as demais espécies se encontram dentro da média. Esses resultados
 242 são consistentes com estudos anteriores [1,4,5,27]. Assim, a extrema compactação,
 243 característica do mtDNA de vertebrados [8,28] é bem ilustrada nos resultados do presente
 244 estudo.

245 A partir da análise RSCU identificou-se um conjunto de códons ideais entre os
 246 mitogenomas estudados (Figuras S1 a S7). A mitocôndria dos micos-leões mostrou maior
 247 variação no uso dos códons preferenciais, as mudanças ocorreram nos aminoácidos serina,
 248 alanina, ácido glutâmico, glutamina, prolina, glicina, leucina, metionina, arginina e treonina.
 249 Em relação a *Saguinus*, observaram-se diferenças nos códons preferenciais para os aminoácidos
 250 alanina, glicina, leucina, arginina, serina e valina. O gênero *Mico* apresentou diferenças nos
 251 aminoácidos alanina, glicina, metionina, glutamina, serina, treonina e valina. Essas diferenças
 252 ocorreram no nucleotídeo da terceira posição, de forma que o códon preferencial é terminado
 253 por uma base complementar.

254 O uso de aminoácidos mostra que a isoleucina, leucina, prolina, serina e treonina foram
 255 dominantes em relação aos demais aminoácidos (Figura 13D). Estes aminoácidos são, em sua

256 maioria, compostos por A ou T na segunda e terceira posição do códon. Essas composições
257 contribuem para o viés A + T de todo o mitogenoma.

258

259 **Regiões não codificadoras**

260 Existem duas regiões não codificantes no genoma mitocondrial dos primatas do Novo
261 Mundo. Uma delas, é a origem da cadeia L que se localiza na região WANCY, como em outros
262 mamíferos [25]. As linhagens de vertebrados diferem na sequência OL em peixes [8], anfíbios
263 [29], tartarugas [7] e mamíferos [25]. Essa região não codificadora está ausente em aves [29] e
264 crocodilianos [7]. Concluindo que a existência da região OL representa uma condição primitiva
265 em amniotas, uma vez que está presente em peixes e anfíbios e foi perdida no ancestral comum
266 da linhagem Crocodilia e Aves.

267 A região controle corresponde a outra região não codificante, e está localizada entre o
268 tRNAPro e o tRNAPhe, possui de 1010 a 1450 pb, sendo a principal fonte de variação no
269 tamanho dos mitogenomas. É conhecida por possuir os sítios de início da replicação do mtDNA
270 em vertebrados e invertebrados, e ainda por apresentar um alto teor de adenina e timina [25,30].

271

272 **Filogenia**

273 A árvore de MV gerada a partir de sequências dos 13 genes codificadores de proteínas
274 e dos dois genes de RNA ribossomal (12S e 16S) recuperou o monofiletismo da subfamília
275 Callitrichinae. Os dados de mitogenômica comparativa corroboram a filogenia de Gomes et al.
276 (em preparação) e reforça o posicionamento de *M. humilis* no gênero *Mico*, e ainda refutam o
277 agrupamento de *Leontopithecus*, *Saguinus* e *Leontocebus* como grupo-irmão, como sugerido
278 em estudos anteriores [2,5]. Além disso, as análises de composição de bases, tamanho dos
279 fragmentos do genoma e uso de aminoácidos revelou uma forte similaridade entre os gêneros
280 *Cebus*, *Sapajus*, *Saimiri* e *Aotus*, que por sua vez, não apresentam diferenças significativas com
281 relação ao seu grupo mais proximamente relacionado, a subfamília Callitrichinae (Figura 13A).

282

283 **Conclusões**

284 Neste estudo, fornecemos os primeiros dados de mitogenômica comparativa para os sete
285 gêneros da subfamília Callitrichinae. Além disso descrevemos, pela primeira vez, o
286 mitogenoma de representantes do gênero *Mico* e *Leontocebus*. Desta forma, a obtenção de
287 novos mitogenomas de espécies de primatas do Novo Mundo adensará o número de táxons e

288 contribui para uma melhor resolução da filogenia deste grupo de primata Neotropical. Os dados
289 de mitogenômica comparativa reforçam o posicionamento de *M. humilis* no gênero *Mico*, e
290 ainda refutam o agrupamento de *Leontopithecus*, *Saguinus* e *Leontocebus* como grupo-irmão.
291 Não observamos rearranjos de genes nas três famílias de primatas Neotropicais, Cebidae,
292 Atelidae e Pitheciidae.

293

294 **Agradecimentos**

295 Agradecemos a Stephen Nash pelos desenhos fornecidos para este estudo.

296

297 **Contribuição dos autores**

298 **Metodologia:** Fernanda Gomes

299 **Curadoria de dados:** Fernanda Gomes

300 **Análises:** Fernanda Gomes, Luan Rabelo, Aurycéia Guimarães

301 **Aquisição de financiamento:** Iracilda Sampaio

302 **Administração do projeto:** Iracilda Sampaio

303 **Supervisão:** Iracilda Sampaio

304 **Redação do manuscrito:** Fernanda Gomes

305 **Revisão e edição do manuscrito:** Aurycéia Guimarães, Luan Rabelo, Iracilda Sampaio

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321 **Referências**

- 322 1. Zhang X, Pan F, Wu ZW. Complete mitochondrial genome of *Callithrix kuhlii* (Primates:
323 Callitrichinae) with phylogenetic consideration. *Mitochondrial DNA*. 2016;27: 2943–
324 2944. doi:10.3109/19401736.2015.1060452
- 325 2. Malukiewicz J, Hepp CM, Guschanski K, Stone AC. Phylogeny of the *jacchus* group of
326 *Callithrix* marmosets based on complete mitochondrial genomes. *American Journal of*
327 *Physical Anthropology*. 2017;162: 157–169. doi:10.1002/ajpa.23105
- 328 3. Pesole G, Gissi C, Chirico A, Saccone C. Nucleotide substitution rate of mammalian
329 mitochondrial genomes. *Springer*. 1999; 48: 427-434. doi:10.1007/PL00006487
- 330 4. de Freitas PD, Mendez FL, Chávez-Congrains K, Galetti PM, Coutinho LL, Pissinatti A,
331 et al. Next-Generation Sequencing of the Complete Mitochondrial Genome of the
332 Endangered Species Black Lion Tamarin *Leontopithecus chrysopygus* (Primates) and
333 Mitogenomic Phylogeny Focusing on the Callitrichidae Family. *G3 Genes, Genomes,*
334 *Genetics*. 2018;8: 1985–1991. doi:10.1534/G3.118.200153
- 335 5. Finstermeier K, Zinner D, Brameier M, Meyer M, Kreuz E, Hofreiter M, et al. A
336 Mitogenomic Phylogeny of Living Primates. *PLoS ONE*. 2013;8.
337 doi:10.1371/journal.pone.0069504
- 338 6. Clayton DA. Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell*. 1982;28: 693–705.
339 doi:10.1016/0092-8674(82)90049-6
- 340 7. Seutin G, Lang BF, Mindell DP, Morais R. Evolution of the WANCY region in amniote
341 mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*. 1994;11: 329–340.
- 342 8. Liu T, Jin X, Wang R. Complete sequence of the mitochondrial genome of
343 *Odontamblyopus rubicundus* (Perciformes: Gobiidae): genome characterization and
344 phylogenetic analysis. *Journal of Genetics*. 2013;92: 423–432.
345 <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12041-013-0283-6.pdf>
- 346 9. Cortés-Ortiz L. Molecular phylogenetics of the Callitrichidae with an emphasis on the
347 marmosets and *Callimico*. *The Smallest Anthropoids*. 2009; 3–24.
- 348 10. Porter LM, Garber P. Goeldi's monkeys: A primate paradox? *Evolutionary*
349 *Anthropology: Issues, News, and Reviews*. 2004;13: 104–115. doi:10.1002/evan.20012

- 350 11. Schneider H. The current status of the New World monkey phylogeny. *Anais da*
351 *Academia Brasileira de Ciências*. 2000;72: 165–72.
352 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10932115>
- 353 12. Schneider H, Sampaio I. The systematics and evolution of New World primates - A
354 review. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2013; 82: 348–357.
355 doi:10.1016/j.ympev.2013.10.017
- 356 13. Rylands AB, Heymann EW, Lynch Alfaro J, Buckner JC, Roos C, Matuschek C, et al.
357 Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zoological*
358 *Journal of the Linnean Society*. 2016;177: 1003–1028. doi:10.1111/ZOJ.12386
- 359 14. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.
360 1977. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977;74: 5463–5467.
- 361 15. Tom Hall. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis
362 program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999;41: 95–98.
363 Available: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10030689140/>
- 364 16. Katoh K, Standley DM. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7:
365 Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*.
366 2013;30: 772–780. doi:10.1093/MOLBEV/MST010
- 367 17. Meng G, Li Y, Yang C, Liu S. MitoZ: a toolkit for animal mitochondrial genome
368 assembly, annotation and visualization. *Nucleic Acids Research*. 2019;47: e63–e63.
369 doi:10.1093/NAR/GKZ173
- 370 18. Bernt M, Donath A, Jühling F, Externbrink F, Florentz C, Fritsch G, et al. MITOS:
371 improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular Phylogenetics*
372 *and Evolution*. 2013;69: 313–319.
373 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790312003326>
- 374 19. Lowe TM, Eddy SR. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA
375 genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research*. 1997;25.
- 376 20. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
377 Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 2021;38: 3022–3027.
378 doi:10.1093/molbev/msab120

- 379 21. Grant JR, Stothard P. The CGView Server: a comparative genomics tool for circular
380 genomes. *Nucleic Acids Research*. 2008;36: W181–W184. doi:10.1093/NAR/GKN179
- 381 22. Wong B. Color blindness. *Nature Methods*. 2011;8: 441–442.
- 382 23. Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A Fast and Effective
383 Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Molecular*
384 *Biology and Evolution*. 2015;32: 268–274. doi:10.1093/MOLBEV/MSU300
- 385 24. Rambaut A, Drummond A, Xie D, Baele G, Suchard M. Posterior summarization in
386 Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*. 2018;67: 901.
387 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6101584/>
- 388 25. Hassanin A, Hugot JP, van Vuuren BJ. Comparison of mitochondrial genome sequences
389 of pangolins (Mammalia, Pholidota). *Comptes Rendus Biologies*. 2015;338: 260–265.
390 doi:10.1016/J.CRVI.2015.02.003
- 391 26. Ojala D, Montoya J, Attardi G. tRNA punctuation model of RNA processing in human
392 mitochondria. *Nature*. 1981;290: 470–474.
- 393 27. Wang W, Liu JY, Wang HF, Yang MY, Liu QY, Ding MX. The complete mitochondrial
394 genome of white-tufted-ear marmoset, *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichinae).
395 Mitochondrial DNA Part A, DNA mapping, sequencing, and analysis. 2016;27: 1920–
396 1921.
- 397 28. Dey P, Sharma SK, Sarkar I, Ray SD, Pramod P, Kochiganti VHS, et al. Complete
398 mitogenome of endemic plum-headed parakeet *Psittacula cyanocephala* –
399 characterization and phylogenetic analysis. *PLOS ONE*. 2021;16: e0241098.
400 doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0241098
- 401 29. Zhang J, Miao G, Hu S, Sun Q, Ding H, Ji Z, et al. Quantification and evolution of
402 mitochondrial genome rearrangement in Amphibians. *BMC Ecology and Evolution*
403 2021;21: 1–14. doi:10.1186/S12862-021-01755-3
- 404 30. Liu Y, Meng F, Liu B, Huang Y, Wang Q, Zhang T. The complete mitochondrial genome
405 of *Paracheirodon axelrodi* (Characiformes: Characidae) and phylogenetic studies of
406 Characiformes. *Mitochondrial DNA Part B* 2019; 4:3824-3825.
407 doi:10.1080/23802359.2019.1681307
- 408

409 **Tabela 1.** Lista das amostras sequenciadas neste estudo e suas respectivas procedências.

410

Espécie	Código LGBM	Procedência
<i>L. weddelli</i>	Sfw 2215	Rondônia, UHE Samuel, margem direita do Rio Jamari
<i>S. niger</i>	Sni1101	Tucuruí, UHE Tucuruí, margem direita do Rio Tocantins
<i>S. labiatus</i>	CTGA 167	Amazonas: Tapauá, margem direita do Rio Purus
<i>S. martinsi</i>	CTGAM 508	Terra Santa, margem direita do Rio Saracá
<i>S. leucopus</i>	Sg 21	Antioquia, Colômbia*
<i>S. inustus</i>	LB705	Comunidade Boa Esperança, Amanã
<i>C. goeldii</i>	Cgo27	Lagoinha (Acre)
<i>M. humilis</i>	Mhu01	Comunidade Nova Olinda, Rio Aripuanã-Amazonas
<i>M. mauesi</i>	LB521	Comunidade Nova Olinda, margem direita do Rio Abacaxis
<i>M. argentatus</i>	LB517	Cametá, Km 27, Camatá-Tucuruí, Ramal Ventura
<i>M. humeralifer</i>	LB803	Juruti (PA), Comunidade Jabuti, área projeto Bauxita
<i>M. saterei</i>	LB524	Município Borba (AM), margem esquerda do rio Mari-mari
<i>M. rondoni</i>	Cee4084	Rondônia, UHE Samuel, margem direita do Rio Jamari
<i>C. niveiventris</i>	CTGAM 170	Igarapé do Jacinto, Rio Purus, margem direita
<i>C. pygmaea</i>	Cpy105	Centro Nacional de Primatas do Pará
<i>C. pygmaea</i>	Cpy787	Margem esquerda do Solimões, Reserva Mamirauá
<i>C. aurita</i>	Cau1512	Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro
<i>L. chrysomelas</i>	Lc01	Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro

411 *Amostra fornecida por Manuel Ruiz-García (Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá DC.,

412 Colômbia).

413

414

415

416

417

418

419

420

421

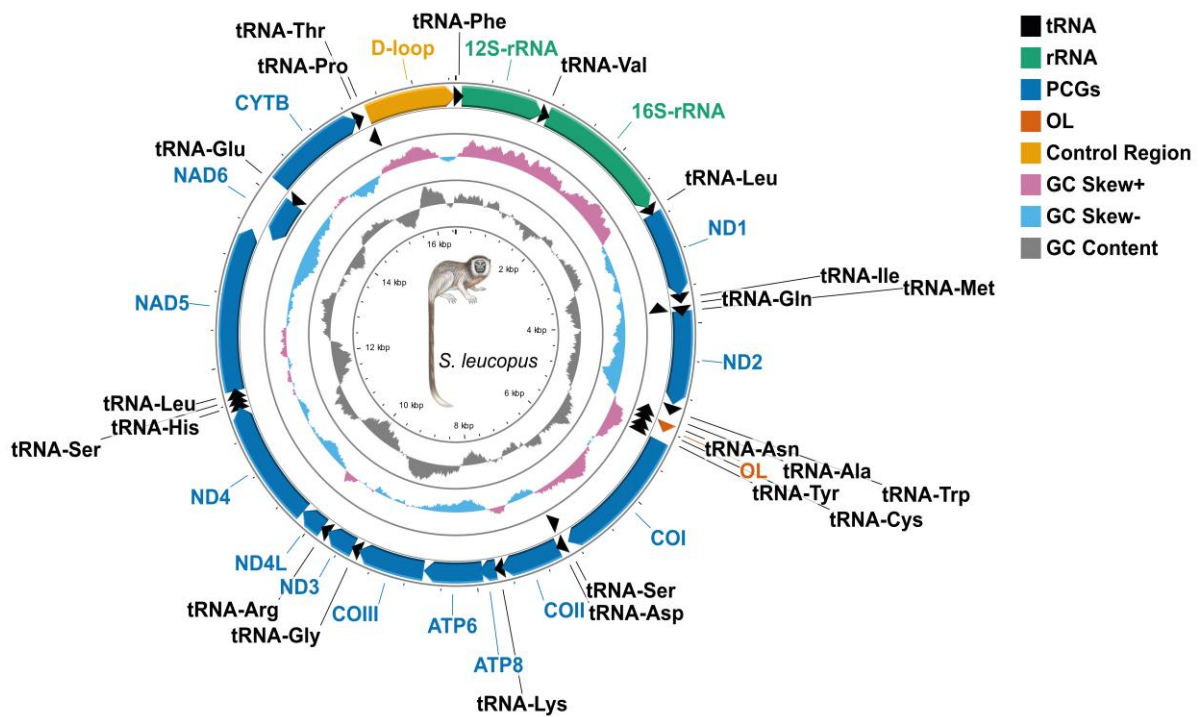
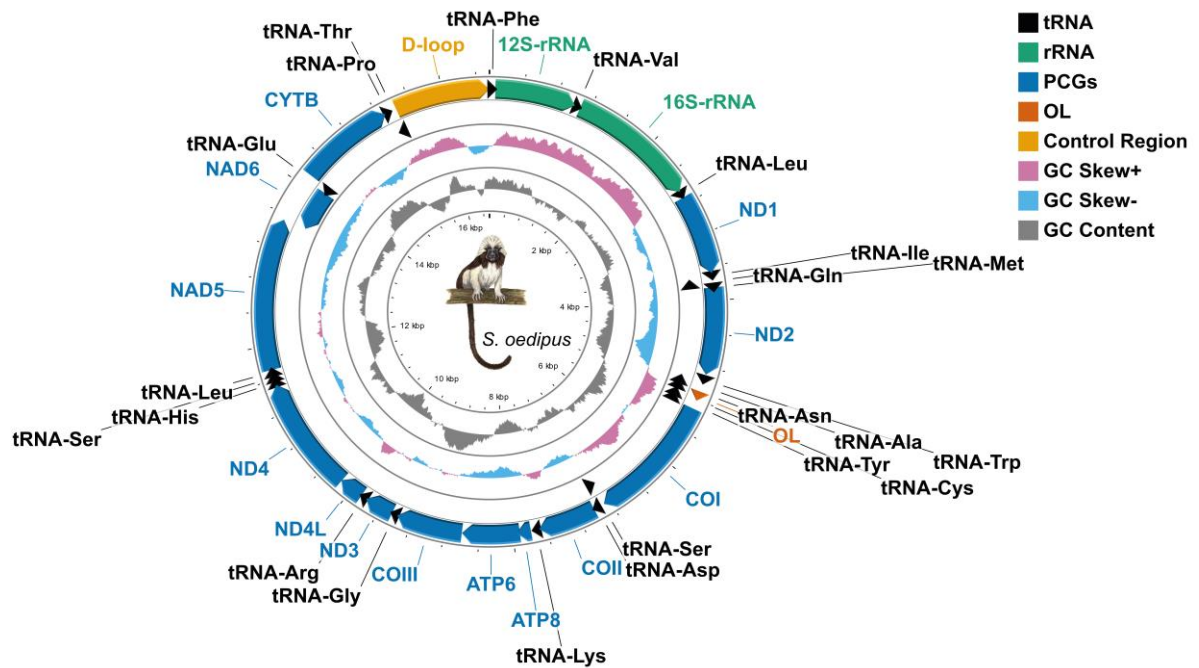
422

423

424

425

426



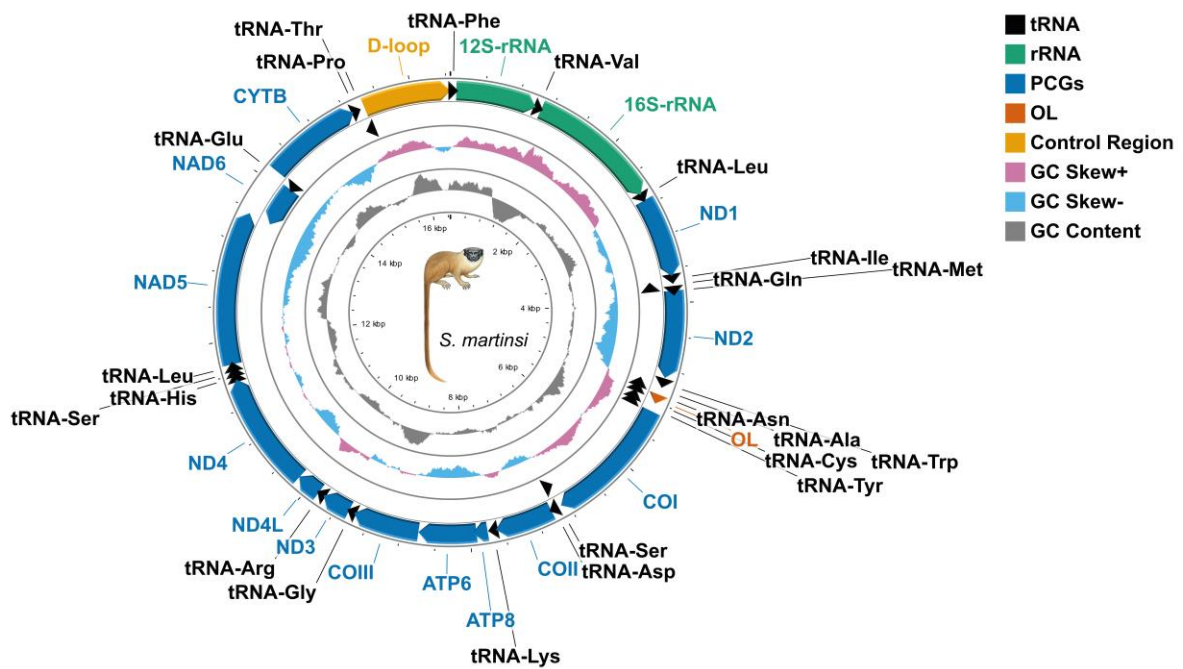
430 **Figura 1.** Genoma mitocondrial completo de *S. oedipus* e *S. leucopus*. Desenhos autorizados
 431 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

432

433

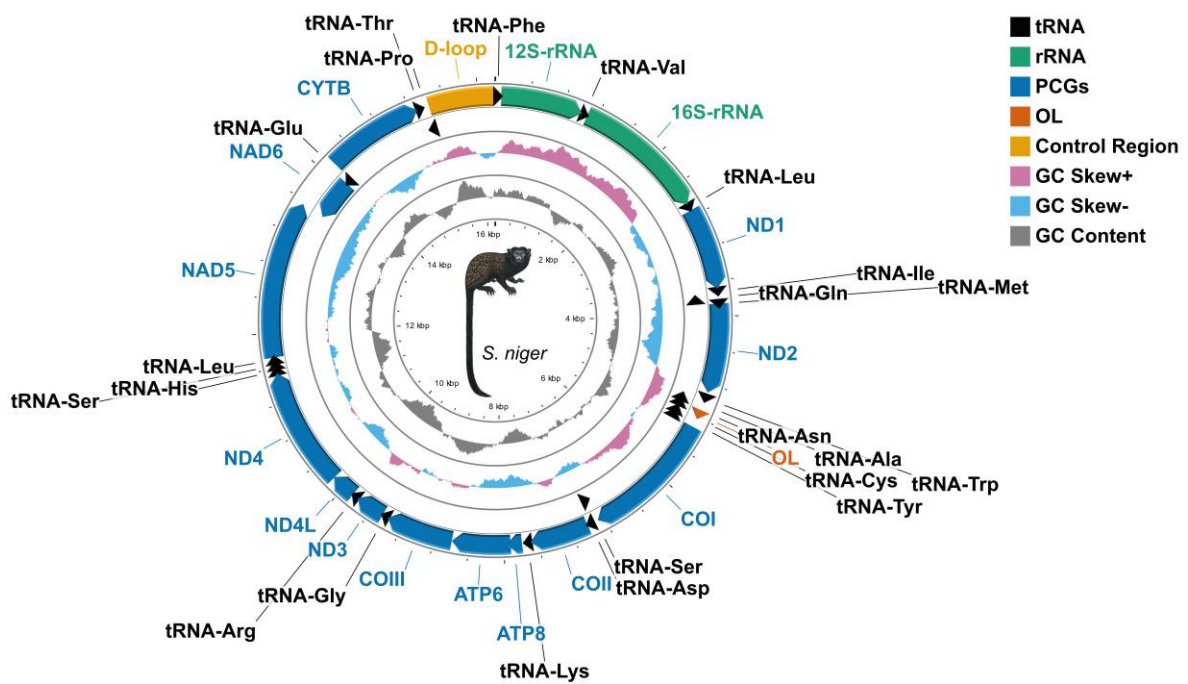
434

435



436

437



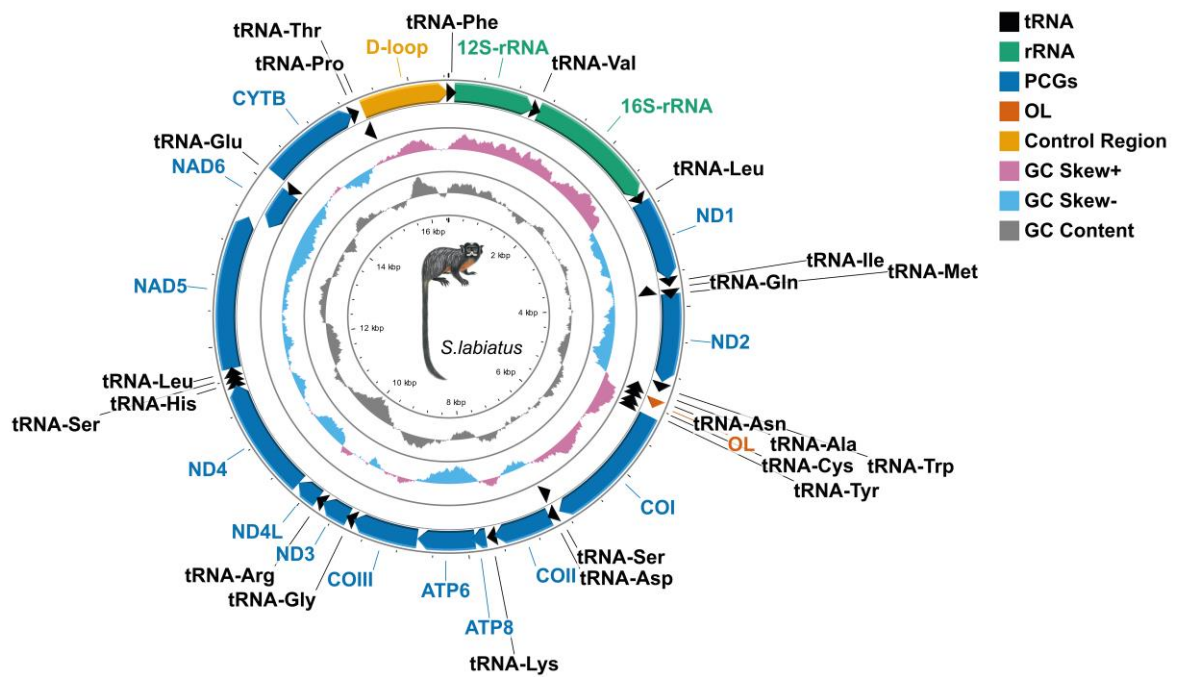
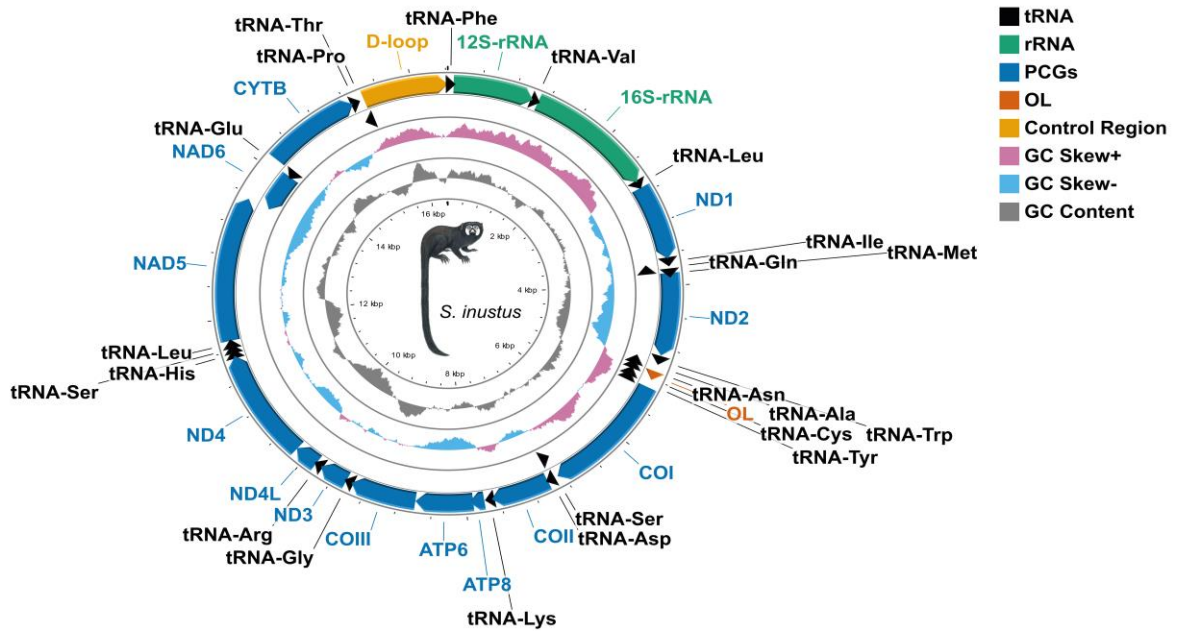
438

439 **Figura 2.** Genoma mitocondrial completo de *S. martinsi* e *S. niger*. Desenhos autorizados por
 440 Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

441

442

443

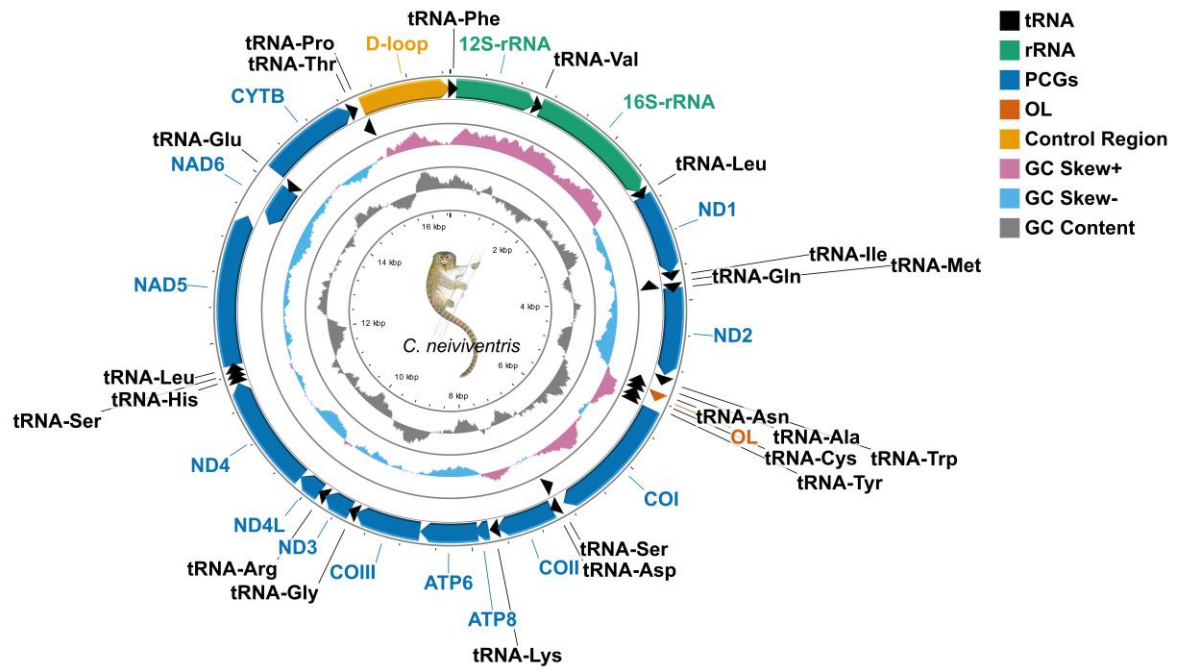


447 **Figura 3.** Genoma mitocondrial completo de *S. inustus* e *S. labiatus*. Desenhos autorizados por
 448 Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

449

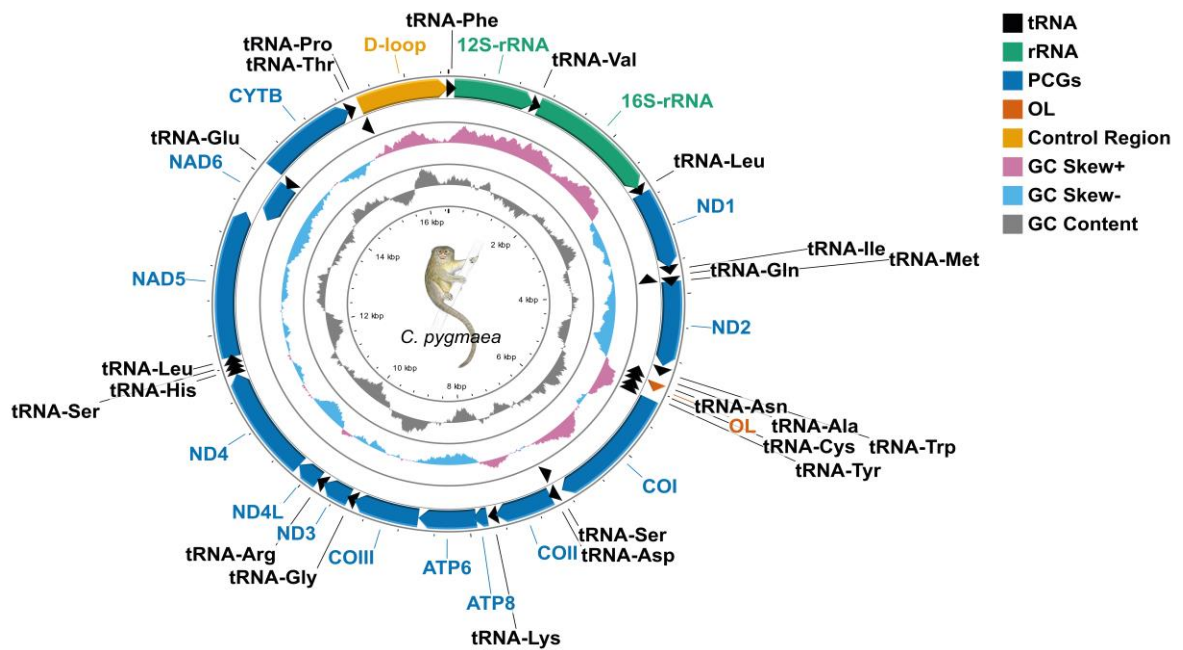
450

451



452

453



454

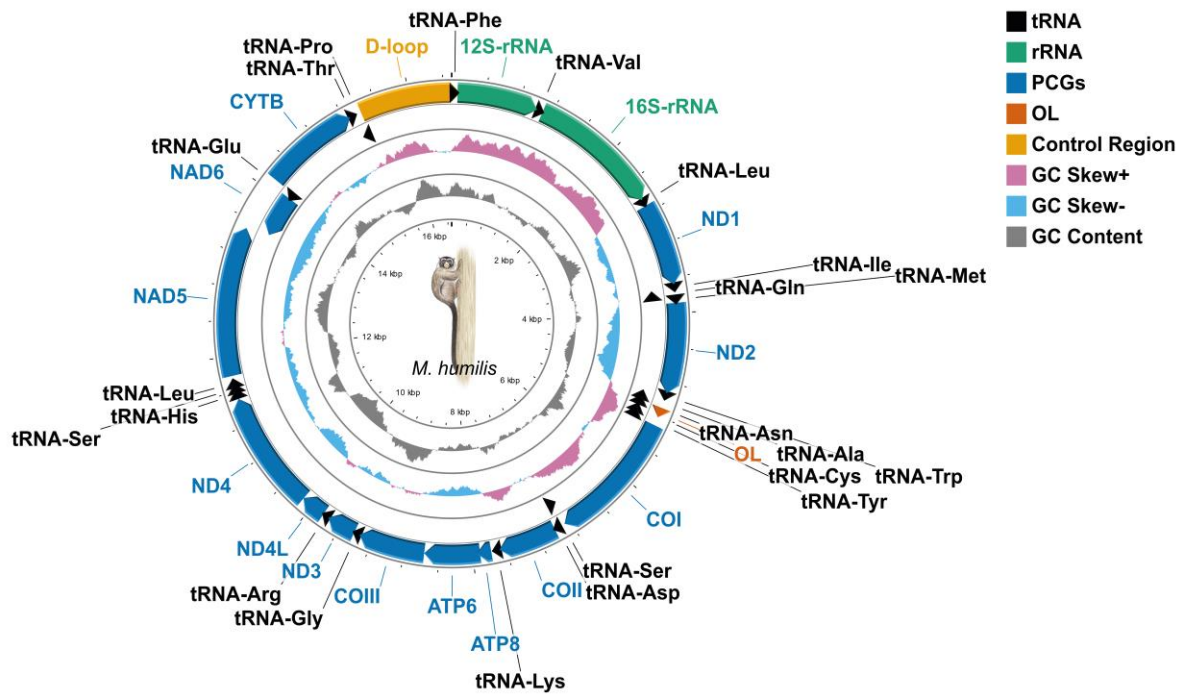
455 **Figura 4.** Genoma mitocondrial completo de *C. niveiventris* e *C. pygmaea*. Desenhos

456 autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

457

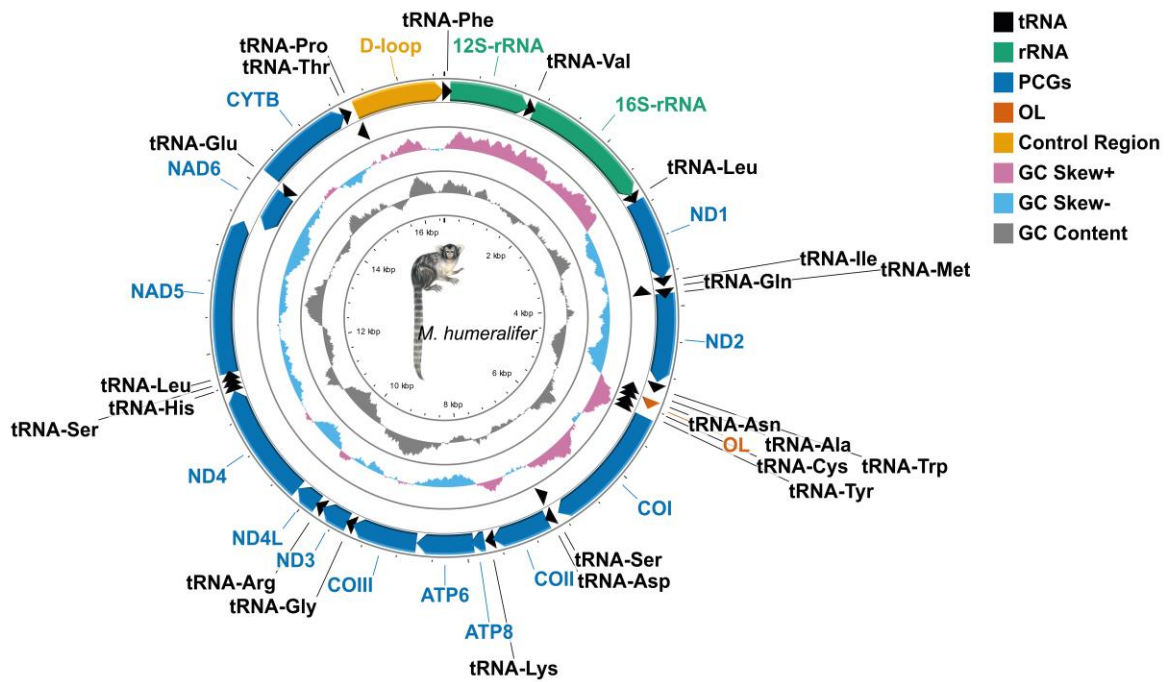
458

459



460

461

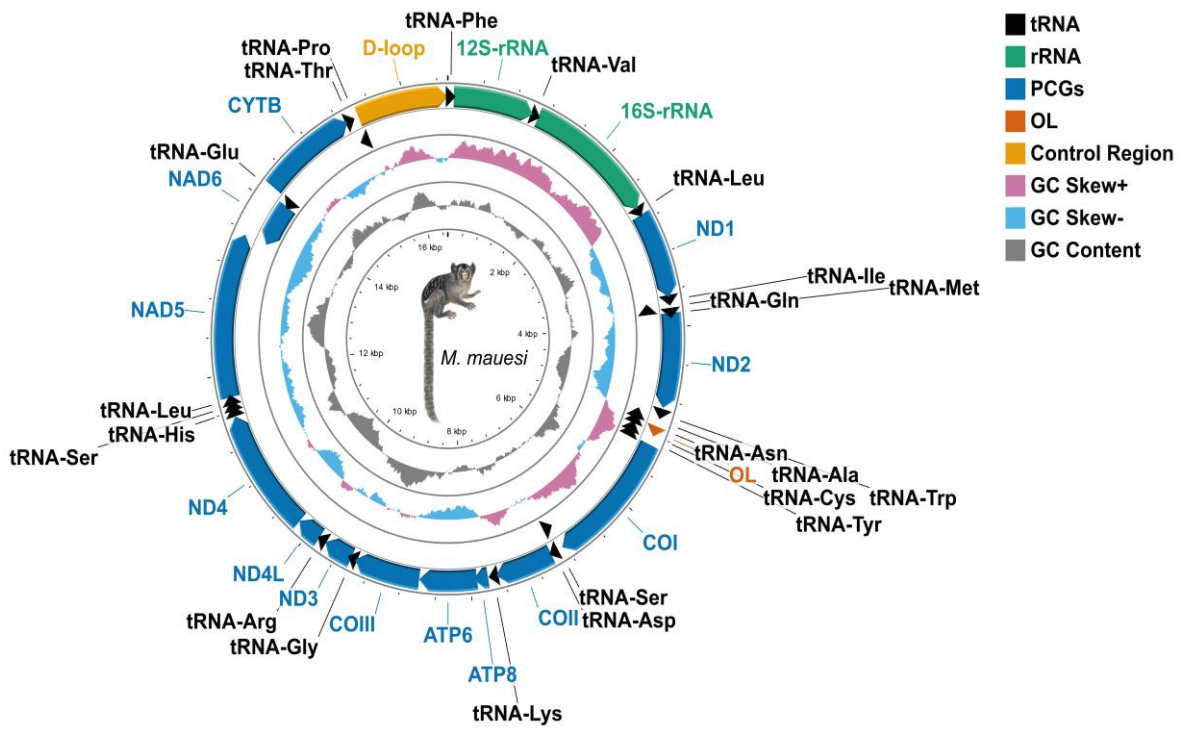


462

463 **Figura 5.** Genoma mitocondrial completo de *M. humilis* e *M. humeralifer*. Desenhos
 464 autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

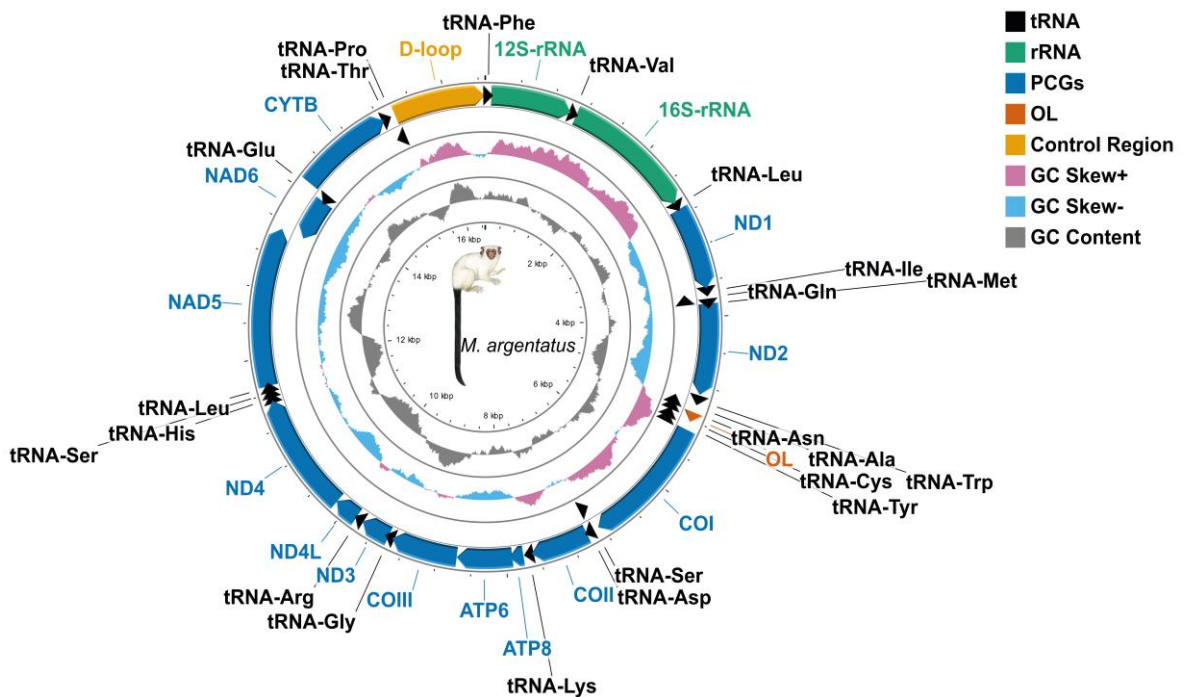
465

466



467

468

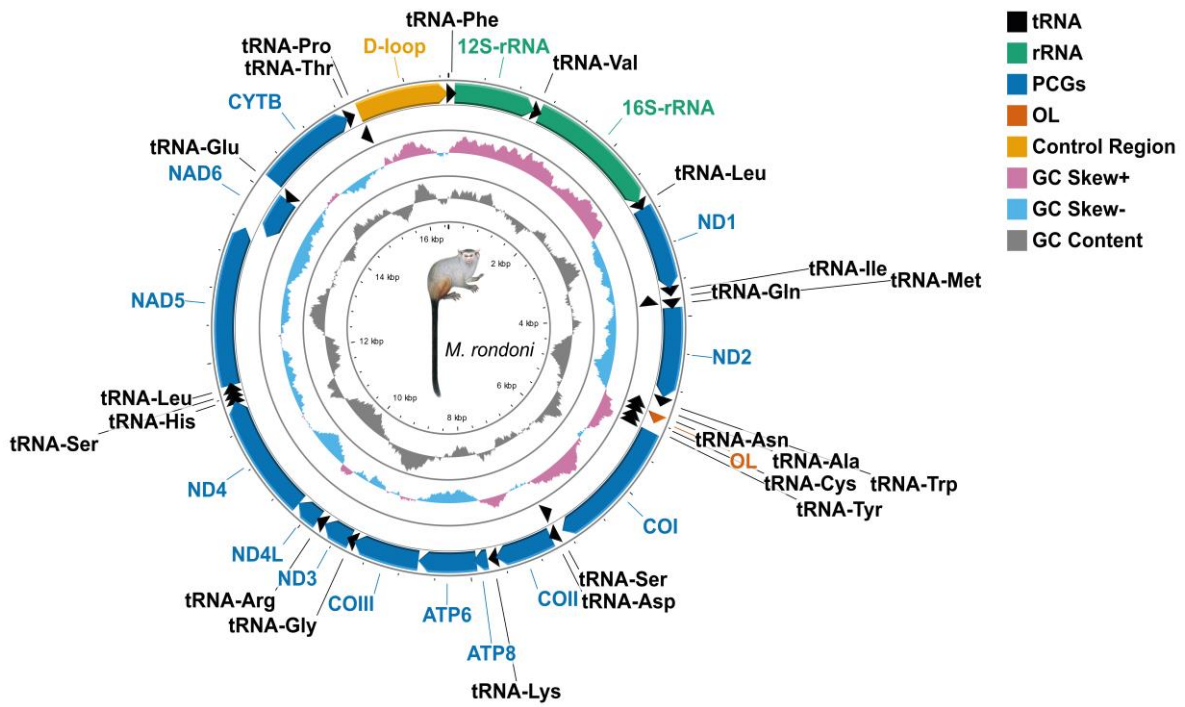


469

470 **Figura 6.** Genoma mitocondrial completo de *M. mauesi* e *M. argentatus*. Desenhos autorizados
 471 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

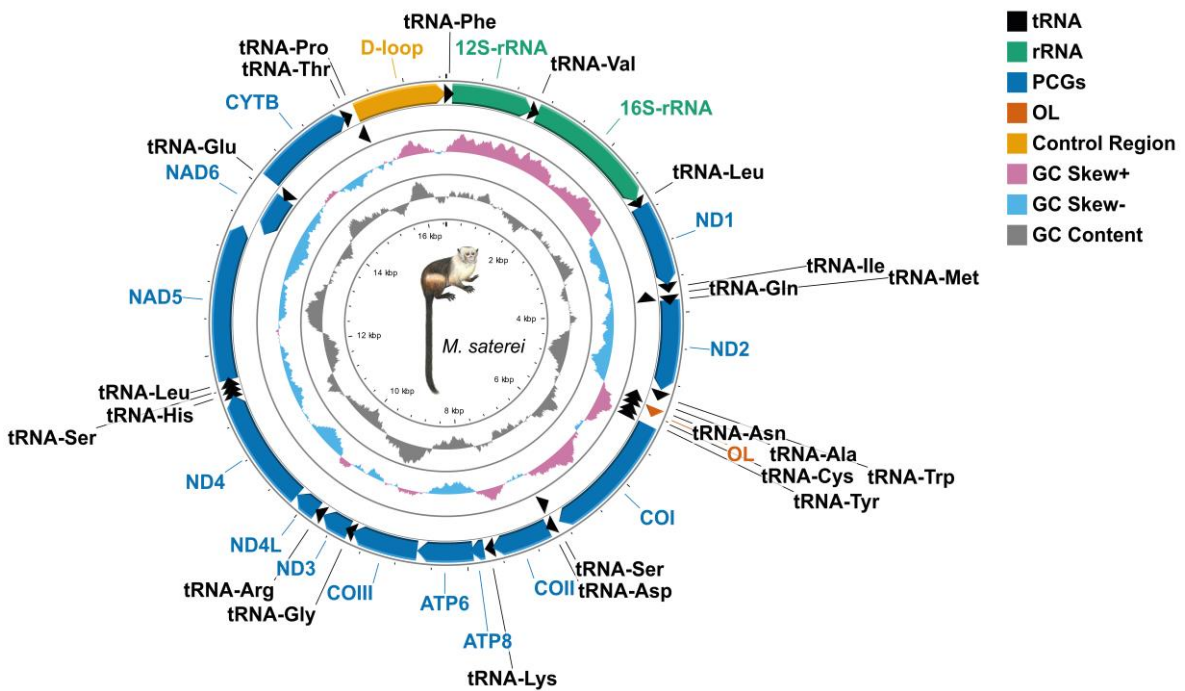
472

473



474

475

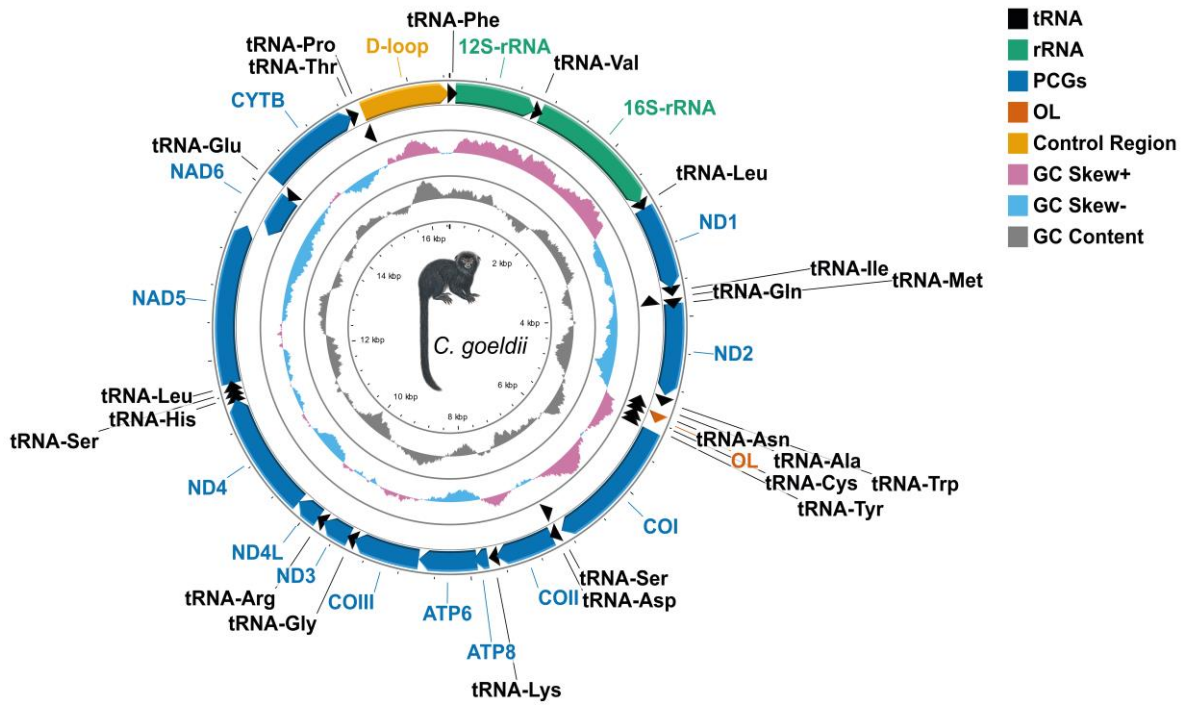


476

477 **Figura 7.** Genoma mitocondrial completo de *M. rondoni* e *M. saterei*. Desenhos autorizados
 478 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

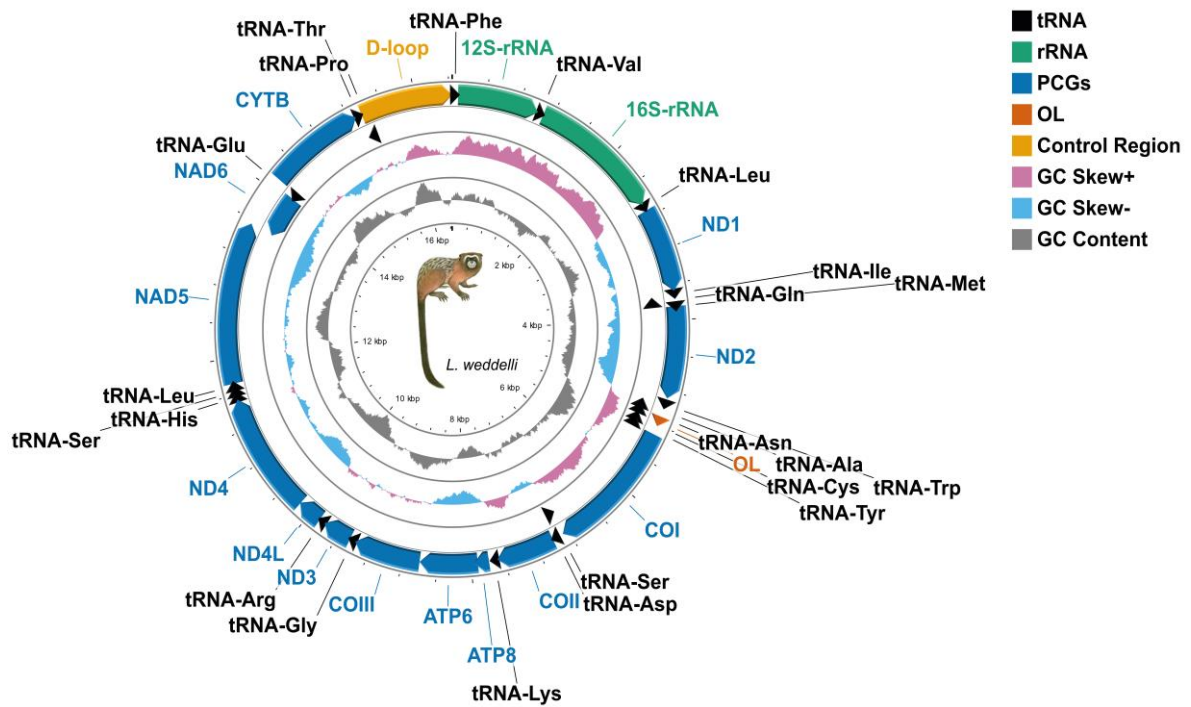
479

480



481

482



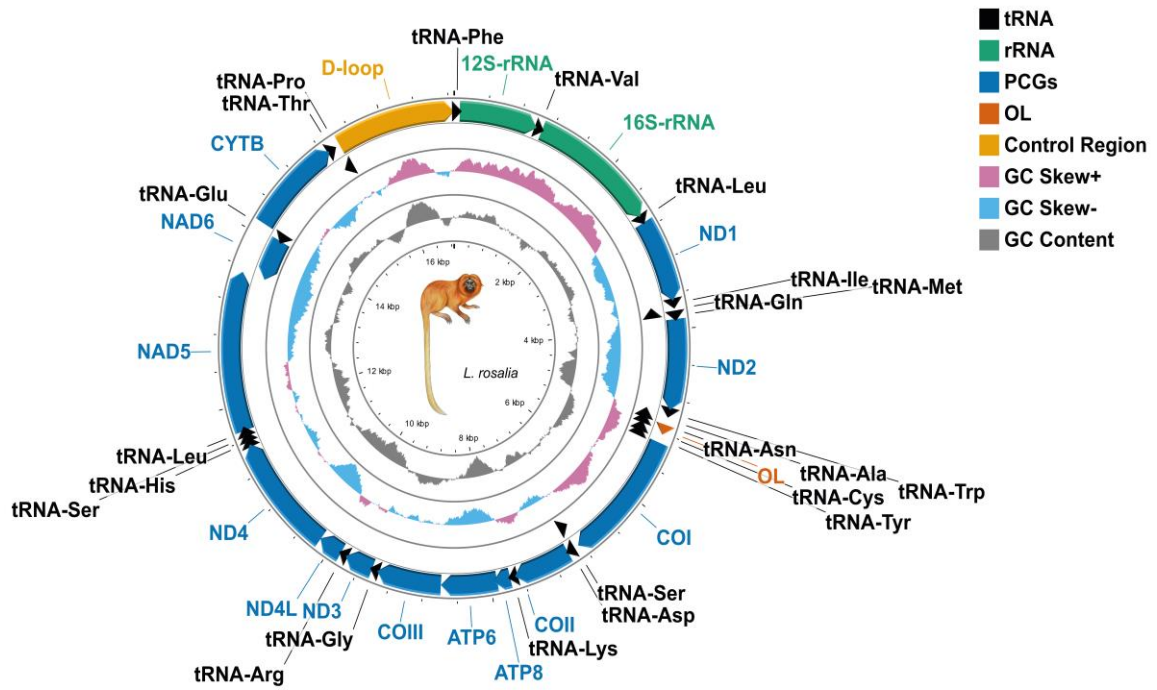
483

484 **Figura 8.** Genoma mitocondrial completo de *C. goeldii* e *L. weddelli*. Desenhos autorizados
 485 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

486

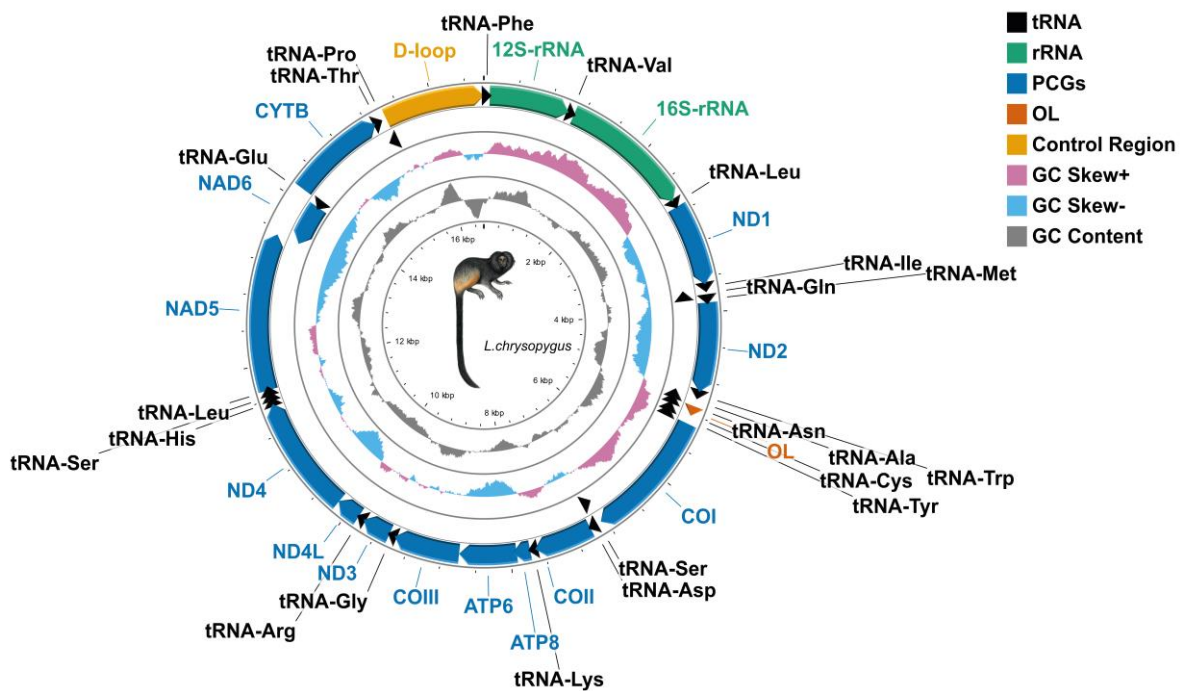
487

488



489

490



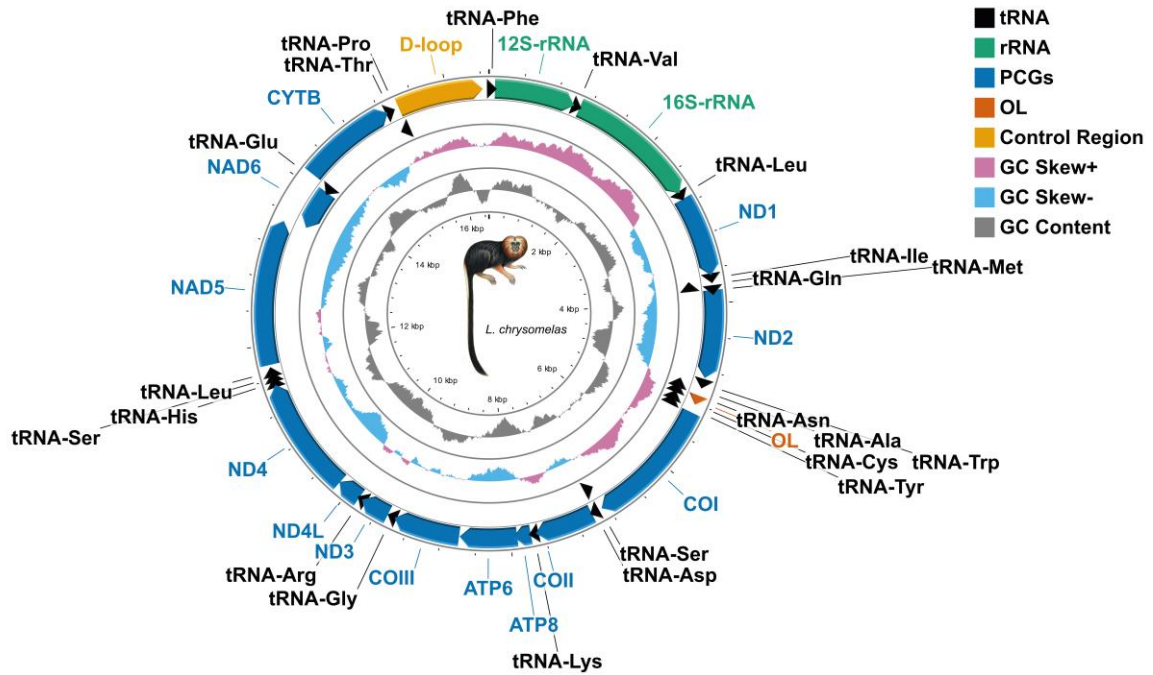
491

492 **Figura 9.** Genoma mitocondrial completo de *L. rosalia* e *L. chrysopygus*. Desenhos autorizados
 493 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

494

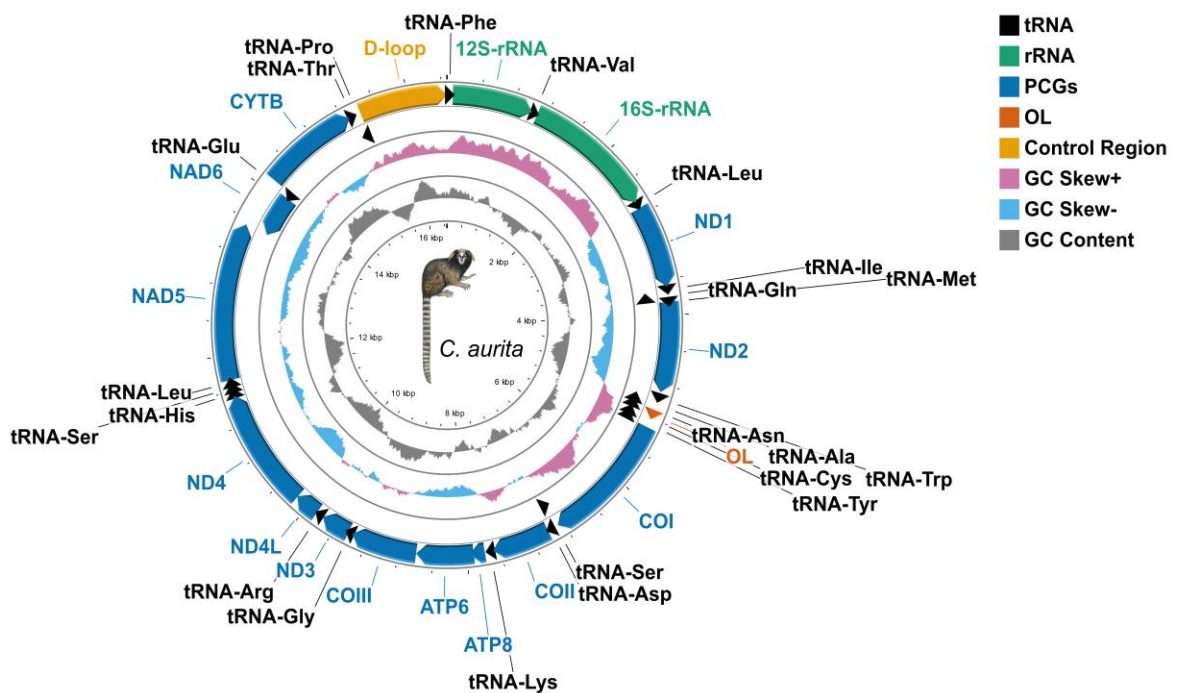
495

496



497

498



499

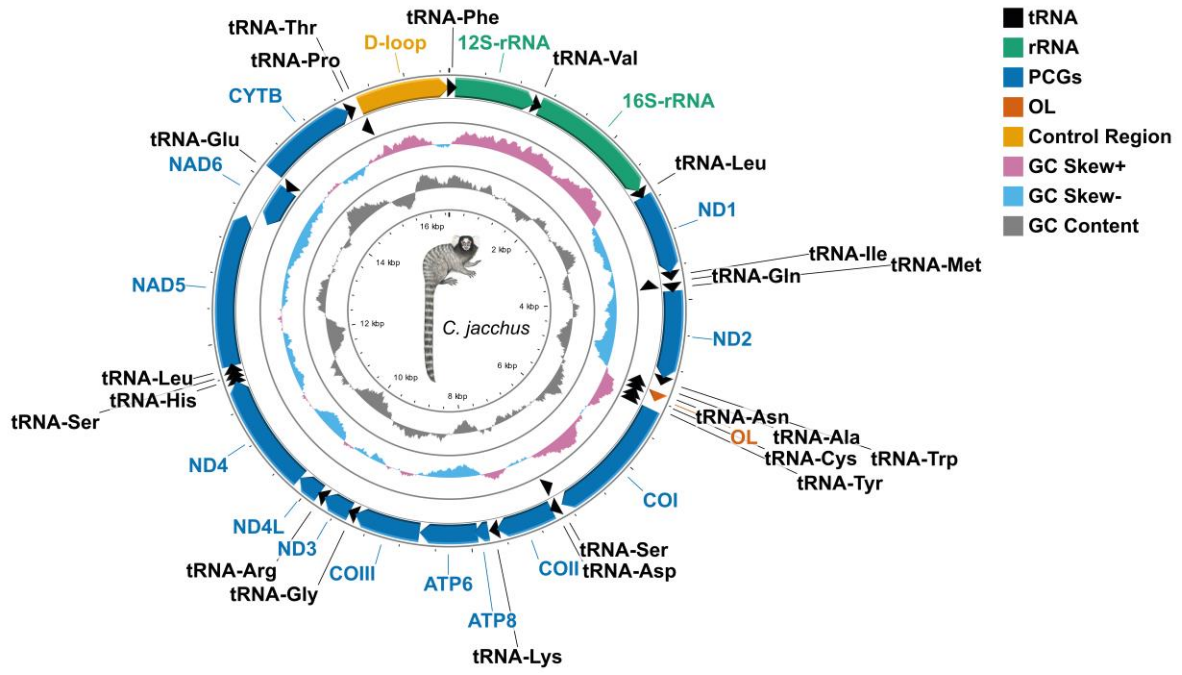
500 **Figura 10.** Genoma mitocondrial completo de *L. chrysomelas* e *C. aurita*. Desenhos

501 autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

502

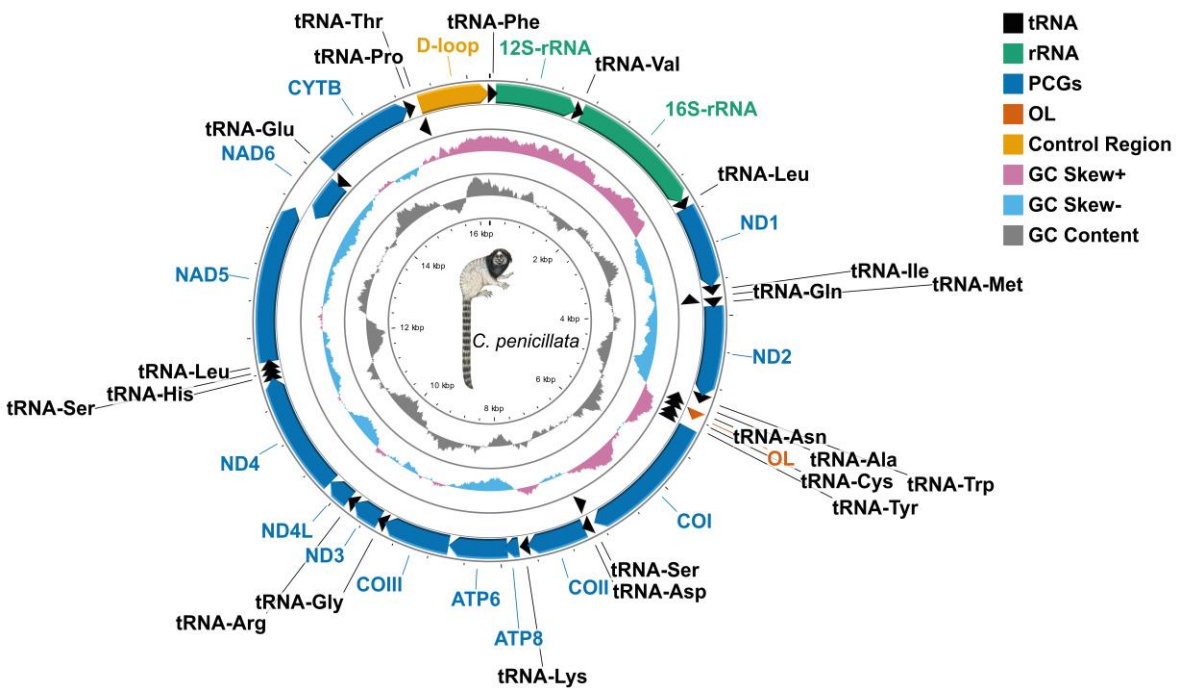
503

504



505

506



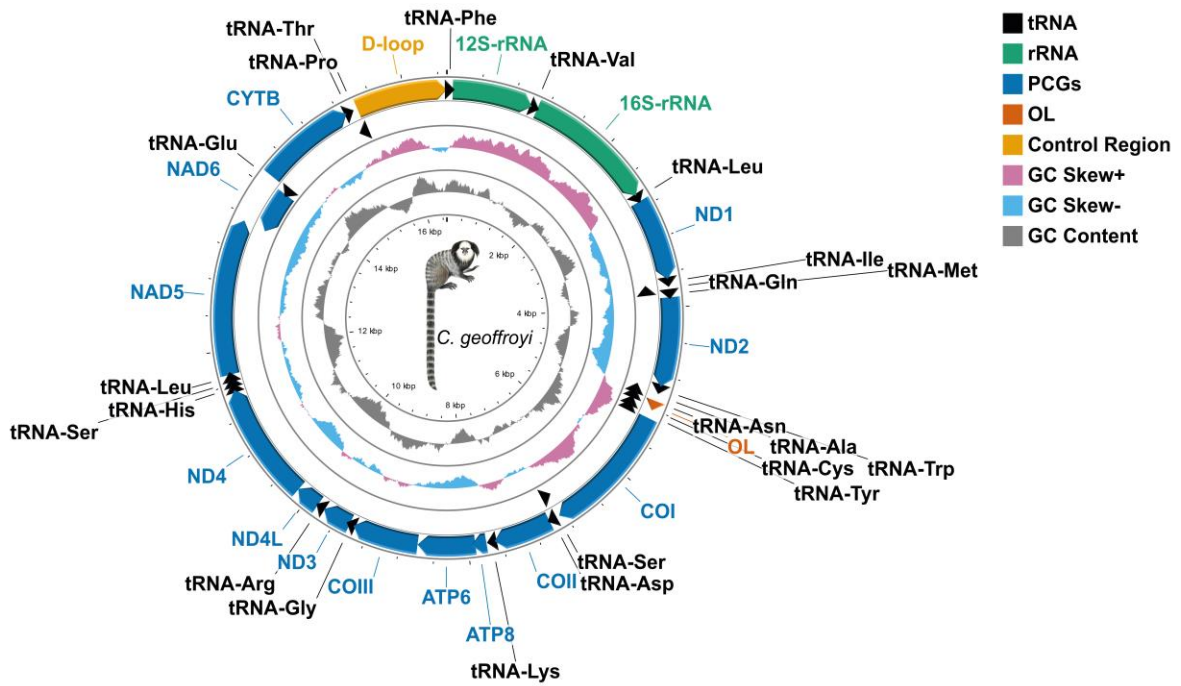
507

508 **Figura 11.** Genoma mitocondrial completo de *C. jacchus* e *C. penicillata*. Desenhos
 509 autorizados por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

510

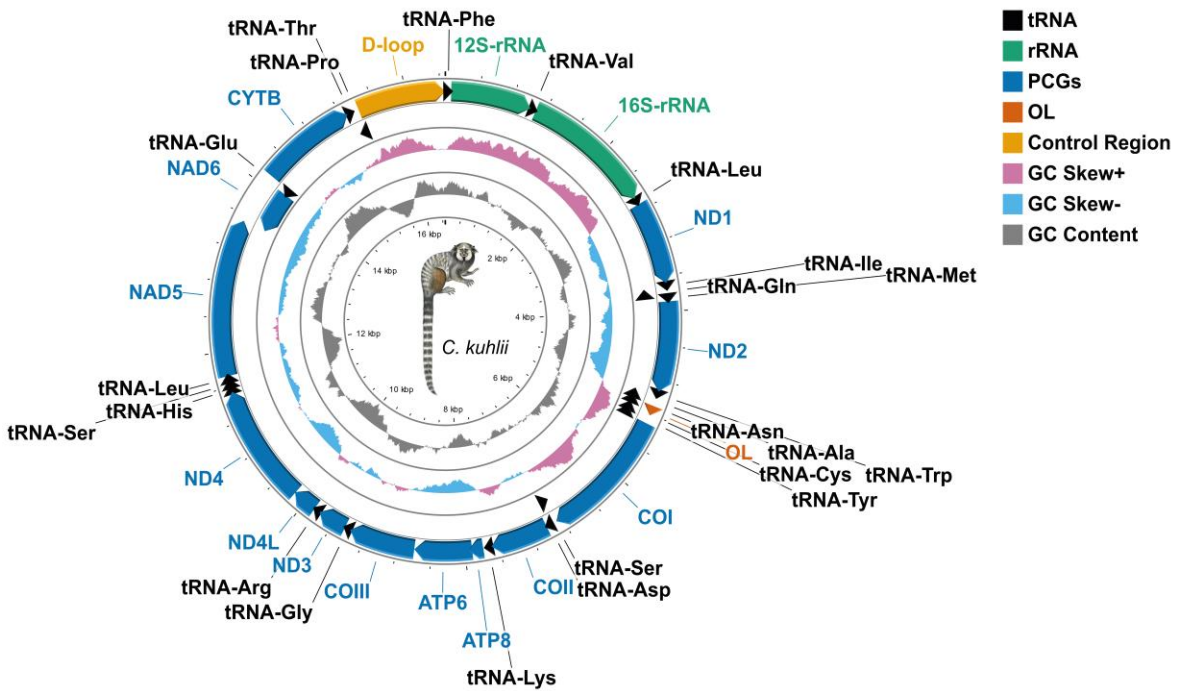
511

512



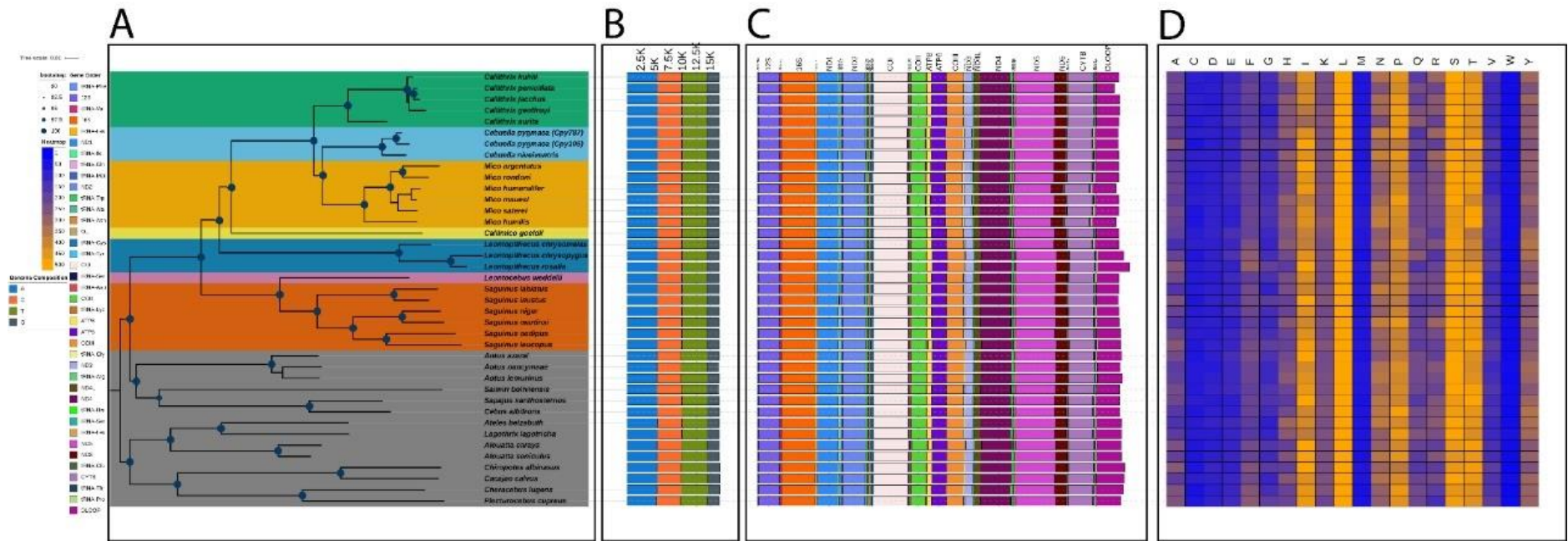
513

514



515

516 **Figura 12.** Genoma mitocondrial completo de *C. geoffroyi* e *C. kuhlii*. Desenhos autorizados
 517 por Stephen Nash/IUCN SSC Grupo de Especialistas em Primatas.



518

519 **Figura 13.** (A) Árvore de Máxima Verossimilhança baseada nos genes codificadores de proteínas e de RNA ribossomal do genoma mitocondrial
 520 de primatas do Novo Mundo. (B) Percentual de bases nucleotídicas de cada mitogenoma. (C) Tamanho dos genes codificadores de proteínas, genes
 521 ribossomais e da Região Controle do mtDNA. (D) Heatmap da frequência de aminoácidos de todas as espécies comparadas neste estudo.

522 **Material Suplementar**

523 **Tabela S1** - Anotação do genoma mitocondrial de *C. goeldii*, incluindo informações
 524 relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H:
 525 pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).

526

Gene	Posição			EI	Códon		AC	C
	Início	Final	Tamanho (bp)		Start	Stop		
tRNA-Phe	1	68	68	0			GAA	H
12S-rRNA	69	1023	955	0				H
tRNA-Val	1024	1091	68	0			TAC	H
16S-rRNA	1092	2644	1553	0				H
tRNA-Leu	2645	2719	75	2			TAA	H
ND1	2722	3678	957	-2	GTG	TAG		H
tRNA-Ile	3677	3745	69	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3743	3814	72	3			TTG	L
tRNA-Met	3818	3885	68	-37			CAT	H
ND2	3849	4890	1042	36	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4927	4993	67	8			TCA	H
tRNA-Ala	5002	5070	69	1			TGC	L
tRNA-Asn	5072	5144	73	2			GTT	L
OL	5147	5177	31	-1				H
tRNA-Cys	5177	5243	67	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5243	5308	66	7			GTA	L
COI	5316	6872	1557	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6860	6928	69	3			TGA	L
tRNA-Asp	6932	6999	68	0			GTC	H
COII	7000	7687	688	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7688	7755	68	30			TTT	H
ATP8	7786	7962	177	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7917	8597	681	-1	ATG	TAA		H
COIII	8597	9381	785	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9381	9446	66	0			TCC	H
ND3	9447	9792	346	0	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9793	9858	66	3			TCG	H
ND4L	9862	10158	297	-7	ATG	TAA		H
ND4	10152	11533	1382	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11527	11595	69	0			GTG	H
tRNA-Ser	11596	11654	59	0			GCT	H
tRNA-Leu	11655	11725	71	-9			TAG	H
NAD5	11717	13534	1818	0	ATA	TAG		H
NAD6	13535	14068	534	0	ATG	TAG		L
tRNA-Glu	14069	14137	69	4			TTC	L
Cyt b	14142	15281	1140	1	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15283	15353	71	1			TGT	H
tRNA-Pro	15355	15423	69	0			TGG	L
D-loop	15424	16467	1044					H

527

528

529 **Tabela S2** - Anotação do genoma mitocondrial de *C. aurita*, incluindo informações
 530 relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H:
 531 pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).
 532

Gene	Posição			EI	Códon		AC	C
	Início	Final	Tamanho (bp)		Start	Stop		
tRNA-Phe	1	69	69	0			GAA	H
12S-rRNA	70	1023	954	0				H
tRNA-Val	1024	1091	68	0			TAC	H
16S-rRNA	1092	2644	1553	0				H
tRNA-Leu	2645	2719	75	2			TAA	H
ND1	2722	3678	957	-1	GTG	TAA		H
tRNA-Ile	3678	3746	69	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3744	3815	72	3			TTG	L
tRNA-Met	3819	3886	68	-37			CAT	H
ND2	3850	4891	1042	36	ATT	T(AA)		H
tRNA-Trp	4928	4994	67	8			TCA	H
tRNA-Ala	5003	5071	69	1			TGC	L
tRNA-Asn	5073	5145	73	2			GTT	L
OL	5148	5178	31	-1				H
tRNA-Cys	5178	5244	67	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5244	5310	67	7			GTA	L
COI	5318	6874	1557	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6862	6930	69	3			TGA	L
tRNA-Asp	6934	7002	69	0			GTC	H
COII	7003	7690	688	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7691	7757	67	30			TTT	H
ATP8	7788	7964	177	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7919	8599	681	-1	ATG	TAA		H
COIII	8599	9383	785	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9383	9449	67	-18			TCC	H
ND3	9432	9780	349	15	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9796	9861	66	3			TCG	H
ND4L	9865	10161	297	-7	ATG	TAA		H
ND4	10155	11536	1382	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11530	11598	69	0			GTG	H
tRNA-Ser	11599	11657	59	0			GCT	H
tRNA-Leu	11658	11728	71	-9			TAG	H
NAD5	11720	13537	1818	-4	ATA	TAG		H
NAD6	13534	14067	534	0	ATG	TAA		L
tRNA-Glu	14068	14136	69	4			TTC	L
Cyt b	14141	15280	1140	2	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15283	15351	69	1			TGT	H
tRNA-Pro	15353	15421	69	0			TGG	L
D-loop	15422	16468	1047					H

553

554

555

556 **Tabela S3** - Anotação do genoma mitocondrial de *L. weddelli*, incluindo informações
 557 relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H:
 558 pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).
 559

Gene	Posição		Tamanho (bp)	EI	Códon		AC	C
	Início	Final			Start	Stop		
tRNA-Phe	1	69	69	0			GAA	H
12S-rRNA	70	1024	955	0				H
tRNA-Val	1025	1091	67	0			TAC	H
16S-rRNA	1092	2644	1553	0				H
tRNA-Leu	2645	2719	75	2			TAA	H
ND1	2722	3678	957	-1	GTG	TAA		H
tRNA-Ile	3678	3746	69	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3744	3815	72	3			TTG	L
tRNA-Met	3819	3886	68	-37			CAT	H
ND2	3850	4891	1042	36	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4928	4994	67	8			TCA	H
tRNA-Ala	5003	5071	69	1			TGC	L
tRNA-Asn	5073	5145	73	2			GTT	L
OL	5148	5179	32	-1				H
tRNA-Cys	5179	5245	67	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5245	5311	67	7			GTA	L
COI	5319	6875	1557	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6863	6932	70	3			TGA	L
tRNA-Asp	6936	7004	69	0			GTC	H
COII	7005	7692	688	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7693	7760	68	30			TTT	H
ATP8	7791	7967	177	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7922	8602	681	-1	ATG	TAA		H
COIII	8602	9386	785	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9386	9452	67	0			TCC	H
ND3	9453	9798	346	0	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9799	9864	66	1			TCG	H
ND4L	9866	10162	297	-7	GTG	TAA		H
ND4	10156	11537	1382	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11531	11599	69	0			GTG	H
tRNA-Ser	11600	11658	59	0			GCT	H
tRNA-Leu	11659	11729	71	-9			TAG	H
NAD5	11721	13556	1836	-17	ATA	TAA		H
NAD6	13540	14070	531	0	ATG	TAG		L
tRNA-Glu	14071	14139	69	4			TTC	L
Cyt b	14144	15283	1140	2	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15286	15353	68	4			TGT	H
tRNA-Pro	15358	15426	69	0			TGG	L
D-loop	15427	16513	1086					H

580

581

582

583 **Tabela S4** - Anotação do genoma mitocondrial de *L. chysomelas*, incluindo informações
 584 relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H:
 585 pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

Gene	Posição			EI	Códon		AC	C
	Início	Final	Tamanho (bp)		Start	Stop		
tRNA-Phe	1	69	69	0			GAA	H
12S-rRNA	70	1019	950	0				H
tRNA-Val	1020	1087	68	0			TAC	H
16S-rRNA	1088	2643	1558	0				H
tRNA-Leu	2644	2718	75	2			TAA	H
ND1	2721	3677	957	-1	ATG	TAA		H
tRNA-Ile	3677	3745	69	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3743	3814	72	3			TTG	L
tRNA-Met	3818	3885	68	2			CAT	H
ND2	3888	4928	1041	-2	ATT	TAG		H
tRNA-Trp	4927	4993	67	9			TCA	H
tRNA-Ala	5003	5071	69	1			TGC	L
tRNA-Asn	5073	5145	73	34			GTT	L
OL	5148	5179	32	-1				H
tRNA-Cys	5179	5245	67	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5245	5311	66	13			GTA	L
COI	5325	6875	1551	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6863	6931	69	3			TGA	L
tRNA-Asp	6935	7003	69	0			GTC	H
COII	7004	7699	696	-8	ATG	TAA		H
tRNA-Lys	7692	7758	67	15			TTT	H
ATP8	7774	7965	192	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7920	8600	675	-1	ATG	TAA		H
COIII	8600	9384	785	-1	ATG	TGA		H
tRNA-Gly	9384	9450	67	0			TCC	H
ND3	9451	9789	339	1	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9791	9856	66	11			GCG	H
ND4L	9868	10152	285	-3	ATG	TAA		H
ND4	10149	11510	1362	10	ATA	TAG		H
tRNA-His	11521	11589	69	0			GTG	H
tRNA-Ser	11590	11648	59	0			GCT	H
tRNA-Leu	11649	11719	71	3			TAG	H
NAD5	11723	13519	1797	15	ATA	TA(A)		H
NAD6	13534	14058	525	0	ATT	TAA		L
tRNA-Glu	14059	14127	69	5			TTC	L
Cyt b	14132	15265	1134	8	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15274	15342	69	1			TGT	H
tRNA-Pro	15344	15412	69	0			TGG	L
D-loop	15413	16498	1086					H

611 **Tabela S5** - Anotação do genoma mitocondrial de *S. inustus* e *S. labiatus*, incluindo
 612 informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia
 613 (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).
 614

Gene	Posição / Tamanho (bp)		EI	Códon		AC	C
	<i>S. inustus</i>	<i>S. labiatus</i>		<i>Start</i>	<i>Stop</i>		
tRNA-Phe	1-69 (69)	1-69 (69)	0			GAA	H
12S-rRNA	70-1022 (953)	70-1019 (950)	0				H
tRNA-Val	1023-1089 (67)	1020-1086 (67)	0			TAC	H
16S-rRNA	1090-2641 (1552)	1087-2639 (1553)	0				H
tRNA-Leu	2642-2716 (75)	2640-2714 (75)	8 ^a 2 ^b			TAA	H
ND1	2725-3669 (945)	2717-3673 (957)	5 ^a -1 ^b	ATG	TAA		H
tRNA-Ile	3675-3743 (69)	3673-3741 (69)	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3741-3812 (72)	3739-3810 (72)	3			TTG	L
tRNA-Met	3816-3883 (68)	3814-3881 (68)	-37			CAT	H
ND2	3847-4891 (1045)	3845-4889 (1045)	30	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4922-4988 (67)	4920-4986 (67)	8			TCA	H
tRNA-Ala	4997-5065 (69)	4995-5063 (69)	1			TGC	L
tRNA-Asn	5067-5139 (73)	5065-5137 (73)	2			GTT	L
OL	5142-5174 (33)	5140-5172 (33)	-1				H
tRNA-Cys	5174-5240 (67)	5172-5238 (67)	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5240-5305 (66)	5238-5304 (67)	8			GTA	L
COI	5314-6870 (1557)	5313-6869 (1557)	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6858-6926 (69)	6857-6925 (69)	3			TGA	L
tRNA-Asp	6930-6998 (69)	6929-6997 (69)	0			GTC	H
COII	6999-7695 (697)	6998-7685 (688)	0 ^a -7 ^b	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7687-7753 (67)	7686-7752 (67)	30			TTT	H
ATP8	7784-7960 (177)	7783-7959 (177)	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7915-8595 (681)	7914-8594 (681)	-1	ATG	TAA		H
COIII	8595-9379 (785)	8594-9378 (785)	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9379-9445 (67)	9378-9444 (67)	0			TCC	H
ND3	9446-9791 (346)	9445-9790 (346)	0	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9792-9857 (66)	9791-9856 (66)	1			TCG	H
ND4L	9859-10155 (297)	9858-10154 (297)	-7	GTG	TAA		H
ND4	10149-11530 (1382)	10148-11529 (1382)	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11524-11592 (69)	11523-11591 (69)	0			GTG	H
tRNA-Ser	11593-11651 (59)	11592-11650 (59)	0			GCT	H
tRNA-Leu	11652-11722 (71)	11651-11721 (71)	3			TAG	H
NAD5	11726-13549 (1824)	11725-13548 (1824)	-17	ATA	TAA		H
NAD6	13533-14063 (531)	13532-14062 (531)	0	ATG	TAG		L
tRNA-Glu	14064-14132 (69)	14063-14131 (69)	4			TTC	L
Cyt b	14137-15276 (1140)	14136-15275 (1140)	2	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15279-15346 (68)	15278-15345 (68)	1			TGT	H
tRNA-Pro	15348-15416 (69)	15347-15415 (69)	0			TGG	L
D-loop	15417-16426 (1010)	15416-16449 (1034)					H

615 ^a*S. inustus*

616 ^b*S. labiatus*

617

618 **Tabela S6** - Anotação do genoma mitocondrial de *S. niger*, *S. martinsi* e *S. leucopus*, incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento
619 (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons (AC).

Gene	Posição / Tamanho (bp)			EI	Códon		AC	C
	<i>S. niger</i>	<i>S. martinsi</i>	<i>S. leucopus</i>		<i>Start</i>	<i>Stop</i>		
tRNA-Phe	1-69 (69)	1-69 (69)	1-69 (69)	0			GAA	H
12S-rRNA	70-1022 (953)	70-1022 (953)	70-1024 (955)	0				H
tRNA-Val	1023-1089 (67)	1023-1089 (67)	1025-1091 (67)	0			TAC	H
16S-rRNA	1090-2650 (1562)	1090-2650 (1561)	1092-2653 (1562)	0				H
tRNA-Leu	2651-2725 (75)	2651-2725 (75)	2654-2728 (75)	2			TAA	H
ND1	2728-3684 (957)	2728-3684 (957)	2731-3687 (957)	-1	ATG	TAA		H
tRNA-Ile	3684-3752 (69)	3684-3752 (69)	3687-3755 (69)	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3750-3821 (72)	3750-3821 (72)	3753-3824 (72)	3			TTG	L
tRNA-Met	3825-3892 (68)	3825-3892 (68)	3828-3895 (68)	-37			CAT	H
ND2	3856-4894 (1039)	3856-4900 (1045)	3859-4903 (1045)	36 ^a 30 ^{b,c}	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4931-4997 (67)	4931-4997 (67)	4934-5000 (67)	8 ^{a,b} 9 ^c			TCA	H
tRNA-Ala	5006-5074 (69)	5006-5074 (69)	5010-5078 (69)	1			TGC	L
tRNA-Asn	5076-5148 (73)	5076-5148 (73)	5080-5152 (73)	2			GTT	L
OL	5151-5182 (32)	5151-5182 (32)	5155-5186 (32)	-1				H
tRNA-Cys	5182-5248 (67)	5182-5248 (67)	5186-5252 (67)	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5248-5314 (67)	5248-5314 (67)	5252-5320 (69)	7 ^{a,b} 8 ^c			GTA	L
COI	5322-6878 (1557)	5322-6878 (1557)	5329-6885 (1557)	-13	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6866-6934 (69)	6866-6934 (69)	6873-6941 (69)	3			TGA	L
tRNA-Asp	6938-7006 (69)	6938-7006 (69)	6945-7013 (69)	0			GTC	H
COII	7007-7694 (688)	7007-7694 (688)	7014-7710 (697)	0 ^{a,b} -8 ^c	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7695-7761 (67)	7695-7761 (67)	7702-7768 (67)	30			TTT	H
ATP8	7792-7968 (177)	7792-7968 (177)	7769-7976 (208)	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7923-8603 (681)	7923-8603 (681)	7930-8610 (681)	-1	ATG	TAA		H
COIII	8603-9387 (785)	8603-9387 (785)	8610-9394 (785)	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9387-9453 (67)	9387-9453 (67)	9394-9460 (67)	0 ^{a,b} 51 ^c			TCC	H

620

ND3	9454-9799 (346)	9454-9799 (346)	9461-9807 (347)	0 ^{ab} 13 ^c	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9800-9865 (66)	9800-9865 (66)	9807-9873 (66)	1			TCG	H
ND4L	9867-10163 (297)	9867-10163 (297)	9874-10170 (297)	-7	GTG	TAA		H
ND4	10157-11538 (1382)	10157-11538 (1382)	10164-11545 (1382)	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11532-11600 (69)	11532-11600 (69)	11539-11607 (69)	0			GTG	H
tRNA-Ser	11601-11659 (59)	11601-11659 (59)	11608-11666 (59)	0			GCT	H
tRNA-Leu	11660-11730 (71)	11660-11730 (71)	11667-11737 (71)	-9			TAG	H
NAD5	11722-13557 (1836)	11722-13557 (1836)	11729-13564 (1836)	-17	ATA	TAA		H
NAD6	13541-14071 (531)	13541-14071 (531)	13548-14078 (531)	0	ATG	TAG		L
tRNA-Glu	14072-14140 (69)	14072-14140 (69)	14079-14147 (69)	4			TTC	L
Cyt b	14145-15284 (1140)	14145-15284 (1140)	14152-15291 (1140)	2	ATG	TAG		H
tRNA-Thr	15287-15354 (68)	15287-15354 (68)	15294-15361 (68)	1			TGT	H
tRNA-Pro	15356-15424 (69)	15356-15424 (69)	15353-15431 (69)	0			TGG	L
D-loop	15425-16455 (1031)	15425-16455 (1031)	15432-16475 (1044)					H

621 **Tabela S7** - Anotação do genoma mitocondrial de *M. argentatus*, *M. rondoni* e *M. saterei*, incluindo informações relacionadas ao tamanho do
 622 fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons
 623 (AC).

624
 625

Gene	Posição / Tamanho (bp)			EI	Códon		AC	C
	<i>M. argentatus</i>	<i>M. rondoni</i>	<i>M. saterei</i>		<i>Start</i>	<i>Stop</i>		
tRNA-Phe	1-70 (70)	1-70 (70)	1-70 (70)	0			GAA	H
12S-rRNA	71-1027 (957)	71-1027 (957)	71-1027 (957)	0				H
tRNA-Val	1028-1095 (68)	1028-1095 (68)	1028-1095 (68)	0			TAC	H
16S-rRNA	1096-2647 (1552)	1096-2647 (1552)	1096-2648 (1553)	0				H
tRNA-Leu	2648-2722 (75)	2648-2722 (75)	2649-2723 (75)	2			TAA	H
ND1	2725-3681 (957)	2725-3681 (957)	2726-3682 (957)	-1	GTG	TAA		H
tRNA-Ile	3681-3749 (69)	3681-3749 (69)	3682-3750 (69)	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3747-3818 (72)	3747-3818 (72)	3748-3819 (72)	3			TTG	L
tRNA-Met	3822-3889 (68)	3822-3889 (68)	3823-3890 (68)	-37 ^{ac} 5 ^b			CAT	H
ND2	3853-4897 (1045)	3895-4914 (1020)	3854-4895 (1042)	33 ^a 16 ^b 36 ^c	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4931-4997 (67)	4931-4997 (67)	4932-4998 (67)	8			TCA	H
tRNA-Ala	5006-5074 (69)	5006-5074 (69)	5007-5075 (69)	1			TGC	L
tRNA-Asn	5076-5148 (73)	5076-5148 (73)	5077-5149 (73)	2			GTT	L
OL	5151-5182 (32)	5151-5182 (32)	5152-5183 (32)	-1				H
tRNA-Cys	5182-5248 (67)	5182-5248 (67)	5183-5249 (67)	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5248-5313 (66)	5248-5313 (66)	5249-5314 (66)	7 ^a 8 ^{b,c}			GTA	L
COI	5321-6856 (1536)	5322-6857 (1536)	5323-6858 (1536)	8	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6865-6933 (69)	6866-6934 (69)	6867-6935 (69)	3			TGA	L
tRNA-Asp	6937-7005 (69)	6938-7006 (69)	6939-7007 (69)	0			GTC	H
COII	7006-7693 (688)	7007-7694 (688)	7008-7695 (688)	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7694-7760 (67)	7695-7761 (67)	7696-7762 (67)	30			TTT	H
ATP8	7791-7961 (171)	7792-7962 (171)	7793-7963 (171)	-40	ATG	TAA		H
ATP6	7922-8575 (654)	7923-8603 (681)	7924-8577 (654)	-1	ATG	TAA		H
COIII	8575-9359 (785)	8603-9387 (785)	8577-9361 (785)	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9359-9425 (67)	9387-9453 (67)	9361-9427 (67)	-18			TCC	H

ND3	9408-9756 (349)	9436-9784 (349)	9410-9758 (349)	15	ATA ^{a,b} ATG ^c	T(AA)		H
tRNA-Arg	9772-9837 (66)	9800-9865 (66)	9774-9839 (66)	3			TCG	H
ND4L	9841-10137(297)	9869-10165 (297)	9843-10139 (297)	-7 ^{a,b} 4 ^c	ATG	TAA		H
ND4	10131-11512 (1382)	10159-11540 (1382)	10133-11514 (1382)	-7	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11506-11574 (69)	11534-11602 (69)	11508-11576 (69)	0			GTG	H
tRNA-Ser	11575-11633 (59)	11603-11661 (59)	11577-11635 (59)	0			GCT	H
tRNA-Leu	11634-11704 (71)	11662-11732 (71)	11636-11706 (71)	-21 ^a -9 ^{b,c}			TAG	H
NAD5	11684-13507 (1824)	11724-13535 (1812)	11698-13509 (1812)	4	ATA	TAA		H
NAD6	13512-14045 (534)	13540-14073 (534)	13514-14047 (534)	0	ATG	TAA		L
tRNA-Glu	14046-14114 (69)	14074-14142 (69)	14048-14116 (69)	4			TTC	L
Cyt b	14119-15248 (1130)	14147-15276 (1130)	14121-15250 (1130)	1	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15250-15318 (69)	15278-15346 (69)	15252-15320 (69)	1			TGT	H
tRNA-Pro	15320-15388 (69)	15348-15416 (69)	15322-15390 (69)	0			TGG	L
D-loop	15391-16472 (1082)	15417-16496 (1080)	15391-16472 (1082)					H

626

627 ^a*M. argentatus*628 ^b*M. rondoni*629 ^c*M. saterei*

630

631

632

633

634

635

636 **Tabela S8** - Anotação do genoma mitocondrial de *M. humilis*, *M. humeralifer* e *M. mauesi*, incluindo informações relacionadas ao tamanho do
 637 fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons e anticódons
 638 (AC).

639

Gene	Posição / Tamanho (bp)			EI	Códon		AC	C
	<i>M. humilis</i>	<i>M. humeralifer</i>	<i>M. mauesi</i>		<i>Start</i>	<i>Stop</i>		
tRNA-Phe	1-69 (69)	1-69 (69)	1-70 (70)	0			GAA	H
12S-rRNA	70-1021 (952)	70-1021 (952)	71-1022 (952)	0				H
tRNA-Val	1022- 1089 (68)	1022- 1089 (68)	1023-1090 (68)	0			TAC	H
16S-rRNA	1090-2642 (1553)	1090-2641 (1552)	1091-2643 (1553)	0				H
tRNA-Leu	2643-2717 (75)	2642-2716(75)	2644-2718 (75)	2			TAA	H
ND1	2720-3676 (957)	2719 -3675 (957)	2721-3677 (957)	-1	GTG	TAA		H
tRNA-Ile	3676-3744 (69)	3675- 3743 (69)	3677-3745 (69)	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3742-3813 (72)	3741- 3812 (72)	3743-3814 (72)	3			TTG	L
tRNA-Met	3817-3884 (68)	3816-4883 (68)	3818-3885 (68)	2 ^a -37 ^{b,c}			CAT	H
ND2	3887-4927 (1041)	3847-4888 (1042)	3849-4890 (1042)	-2 ^a 36 ^{b,c}	ATT ^{a,b} ATA ^c	TAG ^a T(AA) ^b		H
tRNA-Trp	4926-4992 (67)	4925-4991 (67)	4927-4993 (67)	8			TCA	H
tRNA-Ala	5001-5069 (69)	5000-5068(69)	5002-5070 (69)	1			TGC	L
tRNA-Asn	5071-5143 (73)	5070-5142 (73)	5072-5144 (73)	2			GTT	L
OL	5146-5177 (32)	5145-5176 (32)	5147-5178 (32)	-1				H
tRNA-Cys	5177-5243 (67)	5176-5242 (67)	5178-5244 (67)	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5243-5308 (66)	5242-5308 (67)	5244-5309 (66)	8 ^{a,c} 7 ^b			GTA	L
COI	5317-6873 (1557)	5316-6851 (1536)	5318-6853 (1536)	-13 ^a 8 ^{b,c}	ATG	AGG		H
tRNA-Ser	6861-6929 (69)	6860-6928 (69)	6862-6930 (69)	3			TGA	L
tRNA-Asp	6933-7001 (69)	6932-7000 (69)	6934-7002 (69)	0			GTC	H
COII	7002-7689 (688)	7001-7688 (688)	7003-7690 (688)	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7690-7756 (67)	7689-7755 (67)	7691-7757 (67)	30			TTT	H
ATP8	7787-7957 (171)	7786-7956 (171)	7788-7958 (171)	-40	ATG	TAA		H
ATP6	7918-8571 (654)	7917-8597 (681)	7919-8599 (681)	-1	ATG	TAA		H
COIII	8571-9355 (785)	8597-9381 (785)	8599-9383 (785)	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9355-9421 (67)	9381-9447 (67)	9383-9449 (67)	0 ^{a,b} -18 ^c			TCC	H

ND3	9422-9767 (346)	9448-9793 (346)	9432-9780 (349)	0 ^{a,b} 15 ^c	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9768-9833 (66)	9794-9859 (66)	9796-9861 (66)	3			TCG	H
ND4L	9837-10133 (297)	9863-10159 (297)	9865-10161 (297)	4	ATG	TAA		H
ND4	10130-11506 (1347)	10156-11535 (1380)	10158-11537 (1380)	22	ATG	TA(A)		H
tRNA-His	11529-11597 (69)	11558-11626 (69)	11560-11628 (69)	0			GTG	H
tRNA-Ser	11598-116656 (59)	11627-11685 (59)	11629-11687 (59)	0			GCT	H
tRNA-Leu	11657-11727 (71)	11686-11756 (71)	11688-11758 (71)	48 ^a -9 ^{b,c}			TAG	H
NAD5	11776-13497 (1722)	11748-13559 (1812)	11750-13561 (1812)	37 ^a 4 ^{b,c}	ATA	TAA		H
NAD6	13535-14068 (534)	13564-14097 (534)	13566-14099 (534)	0	ATG	TAA		L
tRNA-Glu	14069-14137 (69)	14098-14166 (69)	14100-14168 (69)	4			TTC	L
Cyt b	14142-15269 (1128)	14171-15298 (1128)	14173-15300 (1128)	1	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15271-15339 (69)	15300-15368 (69)	15302-15370 (69)	1			TGT	H
tRNA-Pro	15341-15409 (69)	15370-15438 (69)	15372-15440 (69)	0			TGG	L
D-loop	15410- 16449 (1040)	15439-16526 (1088)	15441-16522 (1081)					H

640 ^a *M. humilis*641 ^b *M. humeralifer*642 ^c *M. mauesi*

643

644 **Tabela S9** - Anotação do genoma mitocondrial de *Cebuella pygmaea* e *C. niveiventris*,
 645 incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene,
 646 localização da cadeia (C) (H: pesada/L: leve), espaçamento intergênico (EI), *start* e *stop* códons
 647 e anticódons (AC).

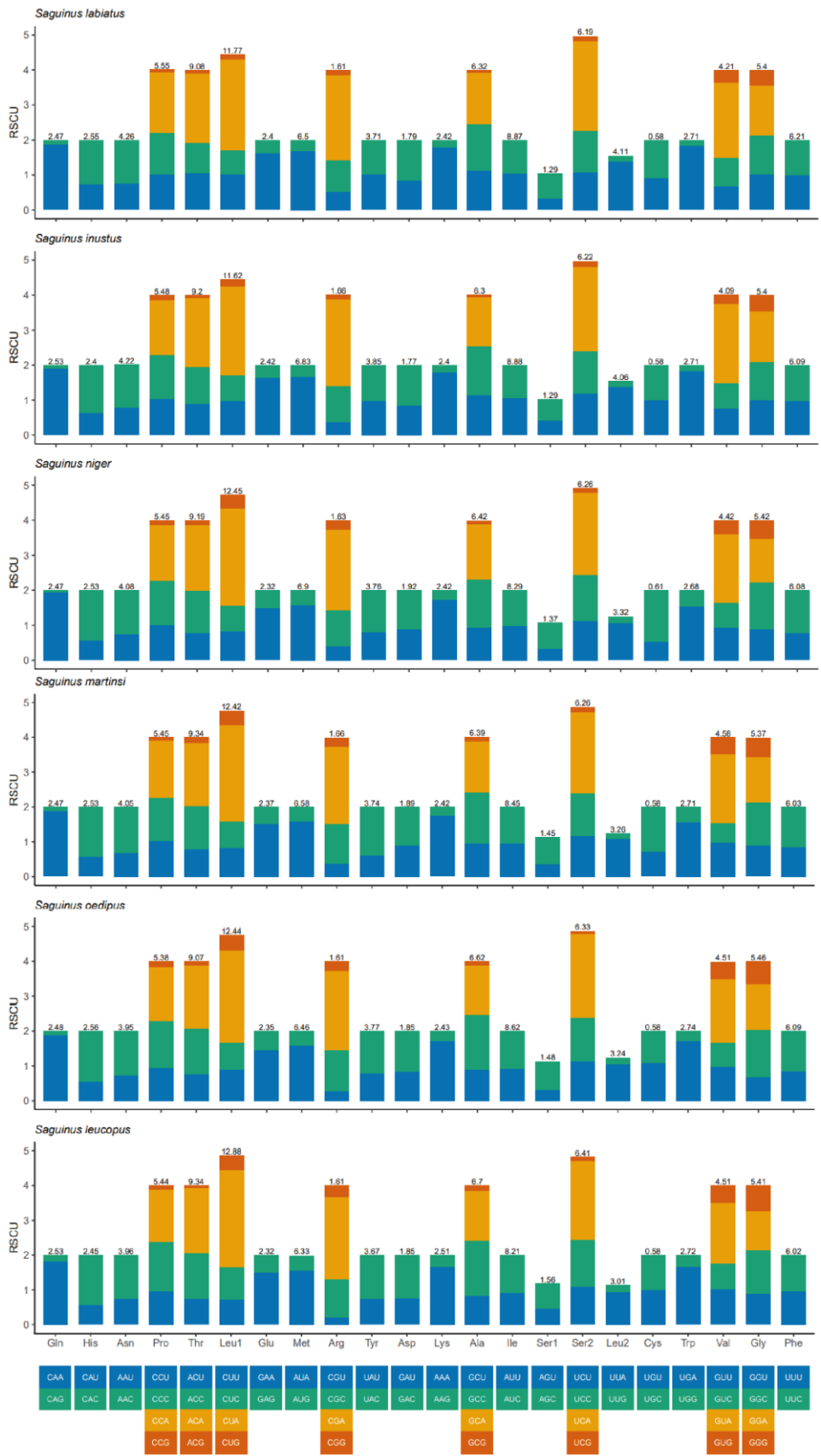
648

Gene	Posição / Tamanho (bp)		EI	Códon		AC	C
	<i>C. pygmaea</i>	<i>C. niveiventris</i>		<i>Start</i>	<i>Stop</i>		
tRNA-Phe	1-69 (69)	1-69 (69)	0			GAA	H
12S-rRNA	70-1021 (952)	70-1022 (953)	0				H
tRNA-Val	1022-1089 (68)	1023-1090 (68)	0			TAC	H
16S-rRNA	1090-2641 (1552)	1091-2642 (1552)	0				H
tRNA-Leu	2642-2716 (75)	2643-2717 (75)	2			TAA	H
ND1	2719-3675 (957)	2702-3676 (975)	-1	GTG	TAA		H
tRNA-Ile	3675-3743 (69)	3676-3744 (69)	-3			GAT	H
tRNA-Gln	3741-3812 (72)	3742-3813 (72)	3			TTG	L
tRNA-Met	3816-3883 (68)	3817-3884 (68)	-37			CAT	H
ND2	3847-4888 (1042)	3848-4892 (1045)	36	ATA	T(AA)		H
tRNA-Trp	4925-4991 (67)	4926-4992 (67)	8			TCA	H
tRNA-Ala	5000-5068 (69)	5001-5069 (69)	1			TGC	L
tRNA-Asn	5070-5142 (73)	5071-5143 (73)	2			GTT	L
OL	5145-5176 (32)	5146-5177 (32)	-1				H
tRNA-Cys	5176-5242 (67)	5177-5243 (67)	-1			GCA	L
tRNA-Tyr	5242-5308 (67)	5243-5309 (67)	8			GTA	L
COI	5317-6852 (1536)	5318-6853 (1536)	8	ATG	TAA		H
tRNA-Ser	6861-6929 (69)	6862-6930 (69)	3			TGA	L
tRNA-Asp	6933-7001 (69)	6934-7002 (69)	0			GTC	H
COII	7002-7689 (688)	7003-7690 (688)	0	ATG	T(AA)		H
tRNA-Lys	7690-7756 (67)	7691-7757 (67)	30			TTT	H
ATP8	7787-7963 (177)	7788-7964 (177)	-46	ATG	TAG		H
ATP6	7918-8598 (681)	7919-8599 (681)	-1	ATG	TAA		H
COIII	8598-9382 (785)	8599-9383 (785)	-1	ATG	TA(A)		H
tRNA-Gly	9382-9448 (67)	9383-9449 (67)	0			TCC	H
ND3	9449-9794 (346)	9450-9795 (346)	0	ATA	T(AA)		H
tRNA-Arg	9795-9860 (66)	9796-9861 (66)	3			TCG	H
ND4L	9864-10160 (297)	9865-10161 (297)	-7	ATG	TAA		H
ND4	10154-11500 (1347)	10155-11501 (1347)	22	ATG	TAA		H
tRNA-His	11523-11591 (69)	11524-11592 (69)	0			GTG	H
tRNA-Ser	11590-11648 (59)	11593-11651 (59)	0			GCT	H
tRNA-Leu	11651-11721 (71)	11652-11722 (71)	-9			TAG	H
NAD5	11713-13524 (1812)	11714-13525 (1812)	4	ATA	TAA		H
NAD6	13529-14062 (534)	13530-14063 (534)	0	ATG	TAA		L
tRNA-Glu	14063-14131 (69)	14064-14132 (69)	4			TTC	L
Cyt b	14136-15275 (1140)	14137-15277 (1141)	1	ATG	TAA		H
tRNA-Thr	15277-15345 (69)	15278-15346 (69)	1			TGT	H
tRNA-Pro	15347-15415 (69)	15348-15416 (69)	0			TGG	L
D-loop	15416-16483 (1068)	15417-16483 (1067)					H

649

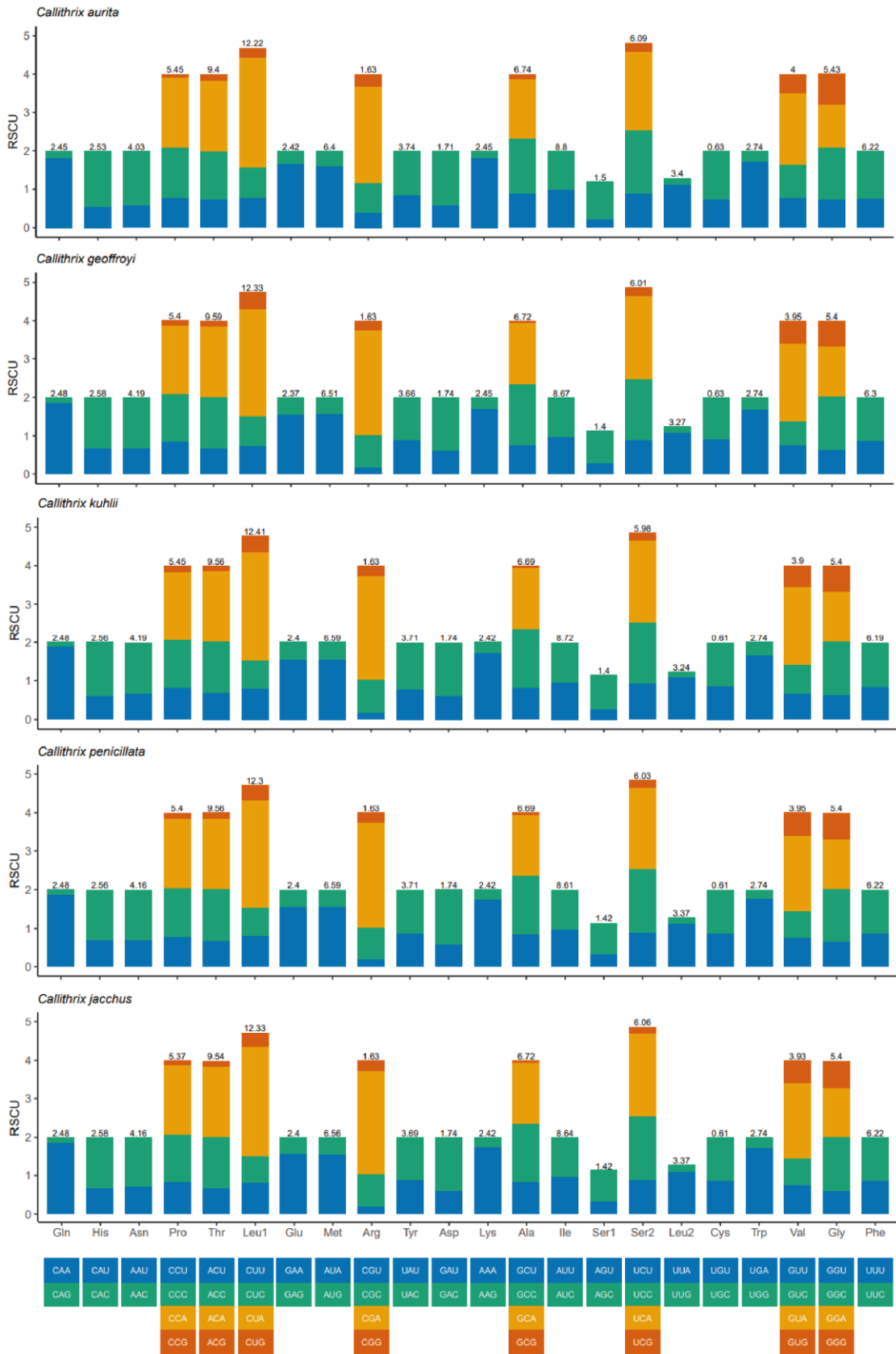
650

651



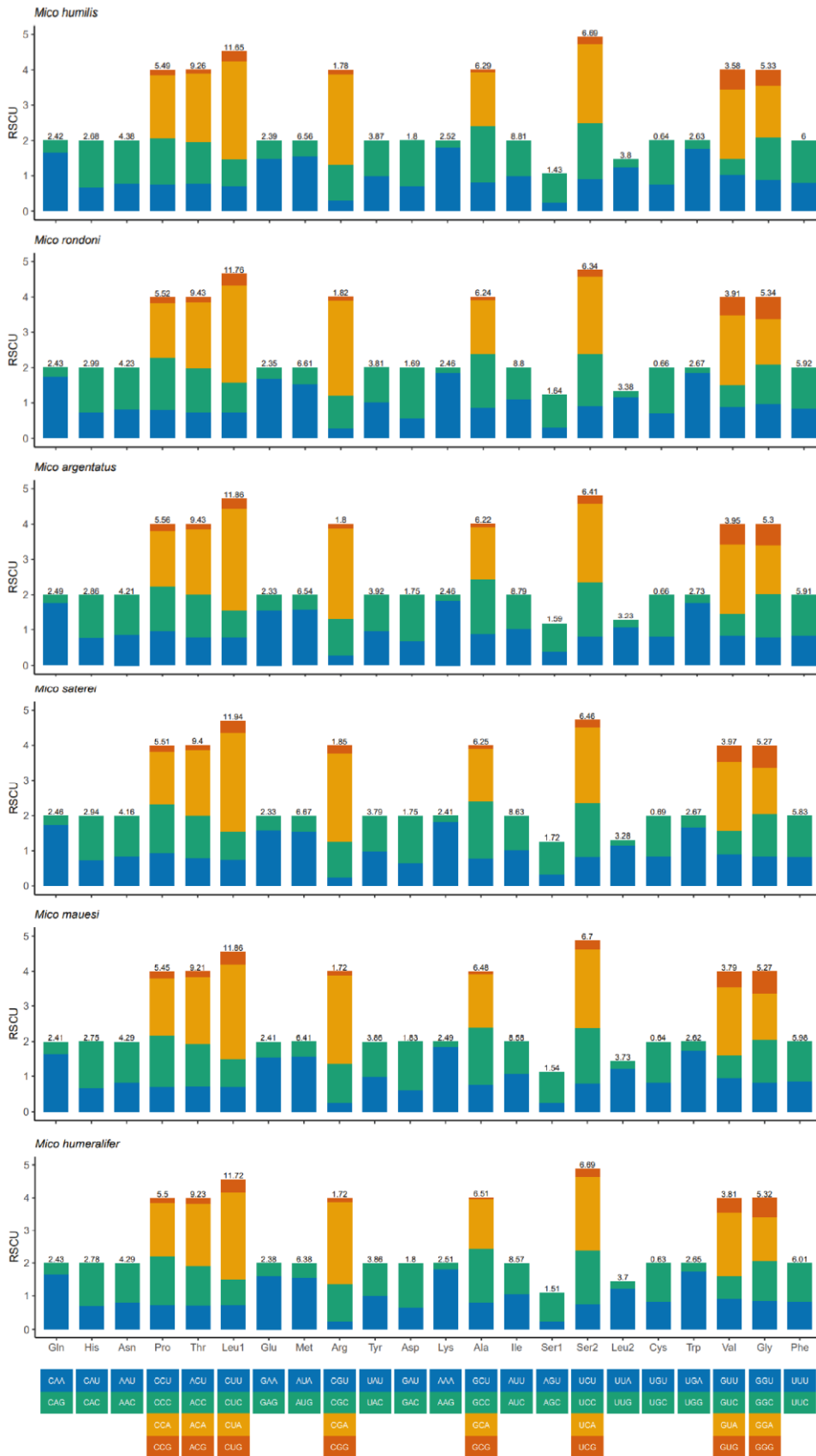
652

653 **Figura S1.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas de seis espécies do
 654 gênero *Saguinus*.



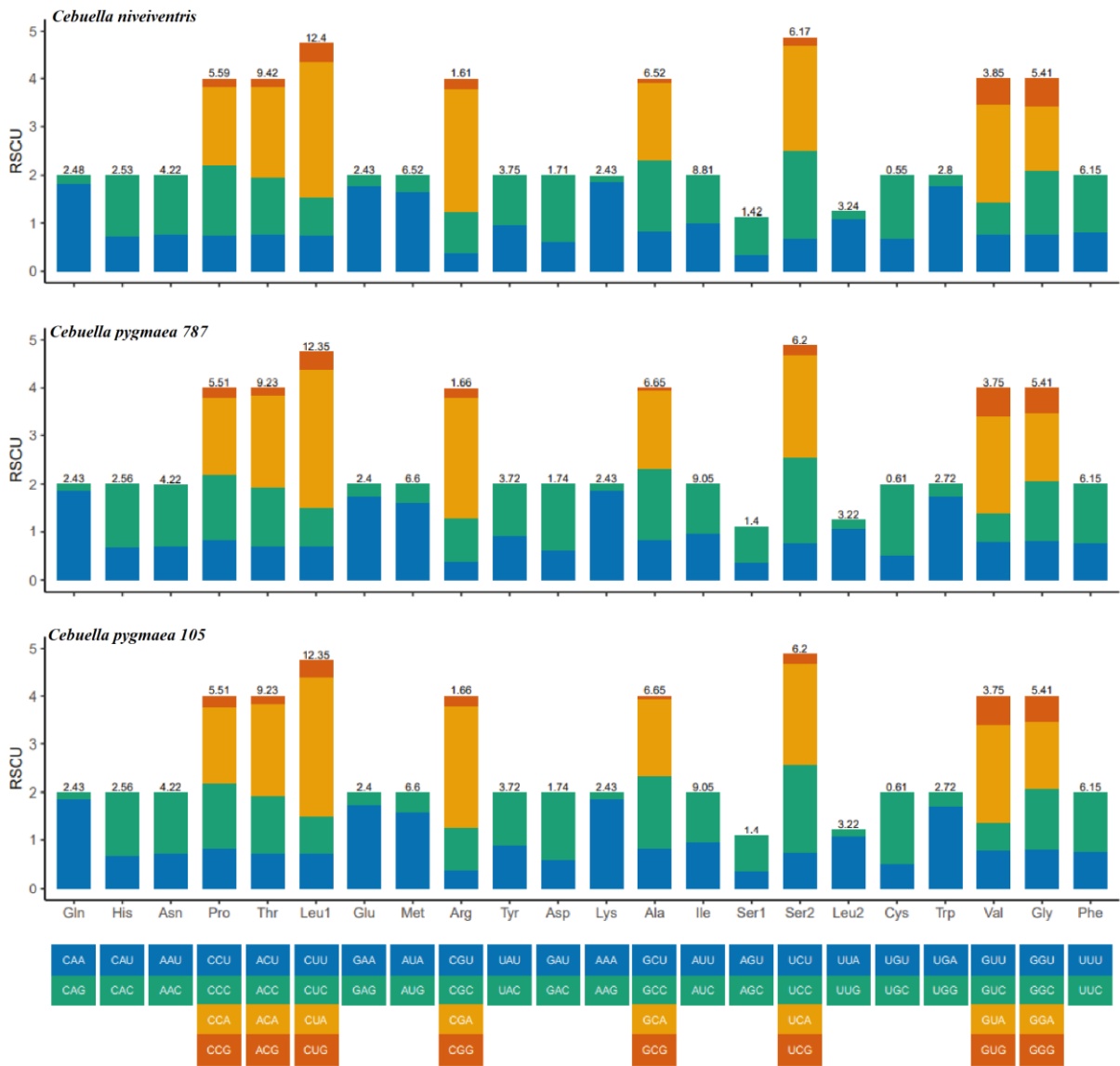
655

656 **Figura S2.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero
 657 *Callithrix* analisadas no presente estudo.



658

659 **Figura S3.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero
 660 *Mico* sequenciadas no presente estudo.



661

662 **Figura S4.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas das espécies do gênero
 663 *Cebuella* sequenciadas no presente estudo.

664

665

666

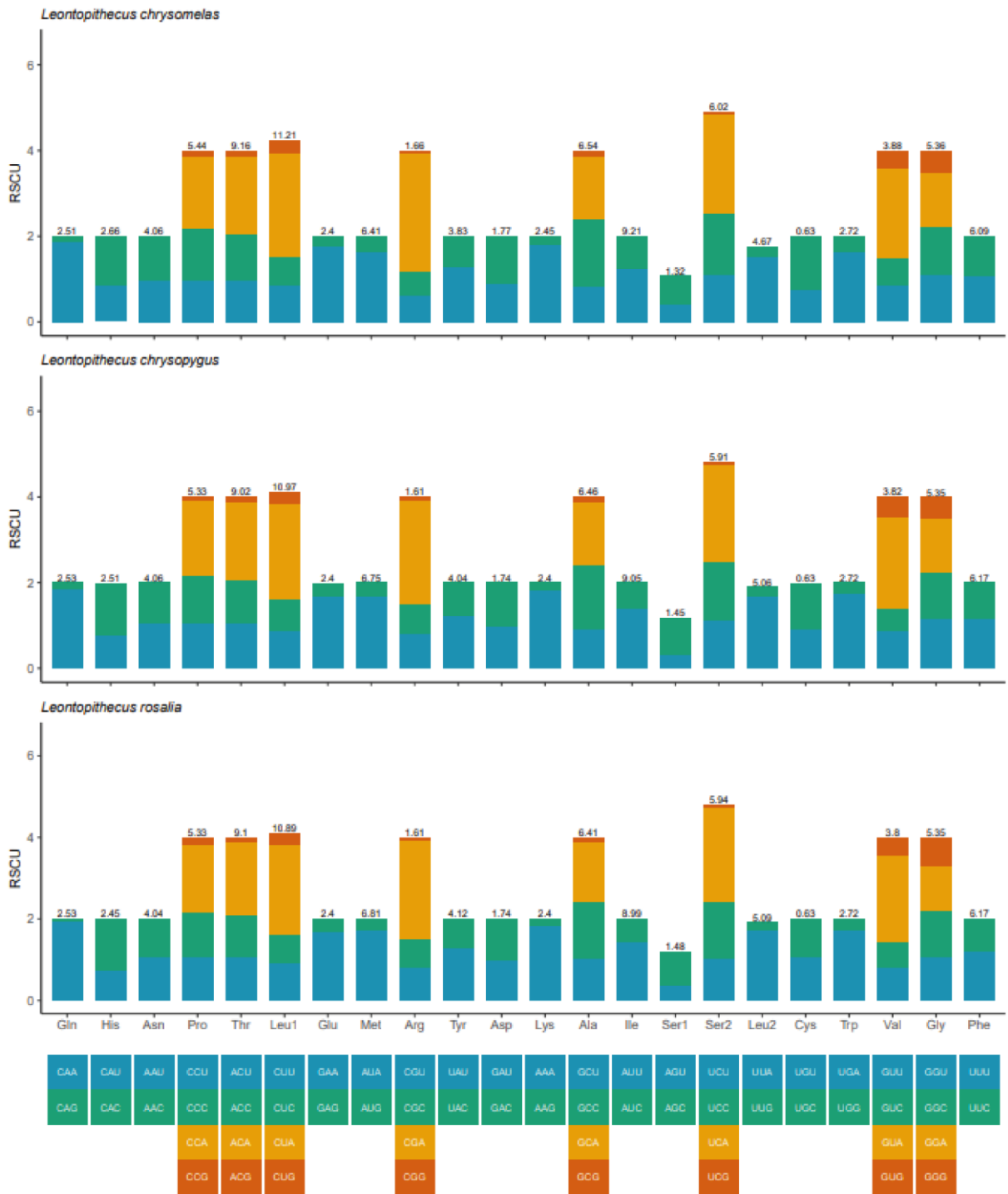
667

668

669

670

671



672

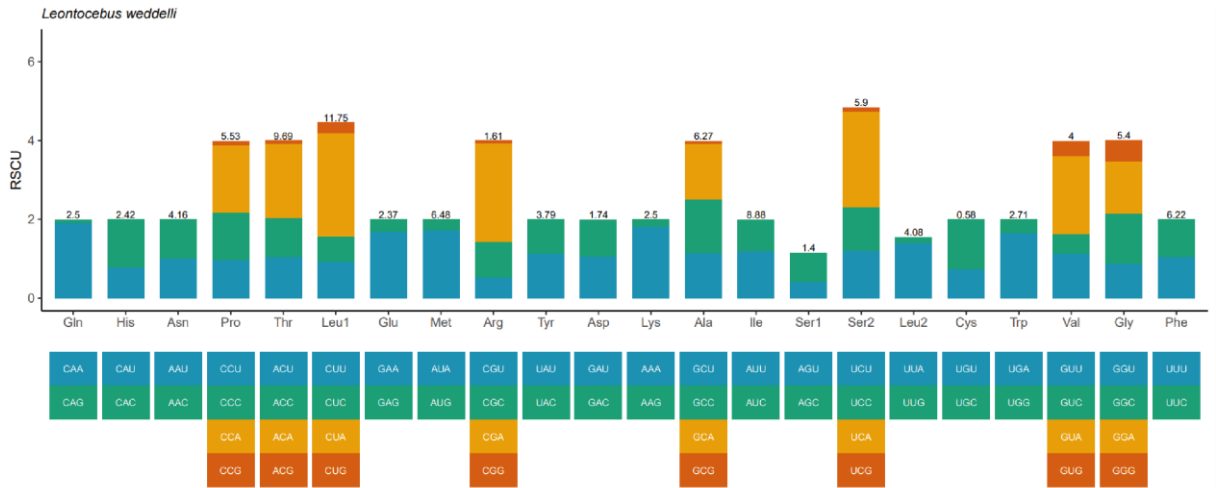
673 **Figura S5.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) de mitogenomas de três espécies
 674 ameaçadas do gênero *Leontopithecus*.

675

676

677

678



679

680 **Figura S6.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) do mitogenoma de *L. weddelli*.

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

698



699

700 **Figura S7.** Uso relativo de códon sinônimo (RSCU) do genoma mitocondrial de *Callimico*
 701 *goeldii*.

CAPÍTULO IV

Artigo III: Análise filogenética baseada no genoma mitocondrial completo do mico-leão de cara dourada *Leontopithecus chrysomelas* traz novos insights sobre as interações na subfamília Callitrichinae

Artigo a ser submetido para o periódico *Mitochondrial DNA Part B*.

Análise filogenética baseada no genoma mitocondrial completo do mico-leão de cara dourada *Leontopithecus chrysomelas* traz novos insights sobre as interações na subfamília Callitrichinae

Fernanda Gomes^a, Aurycéia Guimarães^a, Luan Rabelo^b, Iracilda Sampaio^a

^aLaboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Pará, Instituto de Estudos Costeiros.

^bLaboratório de Evolução, Universidade Federal do Pará, Campus Bragança, Pará, Brasil

Autor Correspondente: Fernanda Gomes

Endereço de e-mail: gomesfnp@yahoo.com.br

Endereço Postal: Universidade Federal do Pará, Alameda Leandro Ribeiro s/n, 68600-000, Bragança, Pará, Brasil.

Resumo

Nós descrevemos a sequência completa do genoma mitocondrial de *Leontopithecus chrysomelas*, um primata neotropical atualmente ameaçado na natureza. O mitogenoma desta espécie contém 13 genes codificadores de proteínas, dois genes de RNA ribossômico, 22 genes de RNA de transferência e duas regiões não codificadoras (Região Controle e OL). A topologia evidenciou *L. chrysomelas* como a espécie mais divergente do gênero e *L. chrysopygus* e *L. rosalia* compartilham um ancestral comum exclusivo. Este estudo não suporta o agrupamento de *Saguinus* e *Leontopithecus* como gêneros irmãos.

Palavras-chave: Mitogenoma, Filogenia, Primatas do Novo Mundo

Introdução

O gênero *Leontopithecus* Lesson, 1840, subfamília Callitrichinae, classifica quatro espécies de micos-leões que são facilmente distinguidos usando padrões de coloração da pelagem: *L. rosalia*, *L. chrysomelas*, *L. caissara* e *L. chrysopygus* (Rylands et al., 2009). As quatro espécies são endêmicas da Mata Atlântica e apresentam distribuição alopátrica, onde atualmente são encontradas apenas em algumas poucas unidades de conservação (Iucn, 2021). Filogenias baseadas em dados moleculares recuperaram *Saguinus* e *Leontopithecus* como os primeiros gêneros a divergir dos demais Calitriquíneos (Harris et al., 2014; Schneider, 2000; Schneider et al., 2012), enquanto outros estudos contestaram esta relação ao evidenciarem *Saguinus* e *Leontopithecus* como grupos irmãos (Finstermeier et al., 2013; Malukiewicz et al., 2017). Desta forma, o posicionamento de *Leontopithecus* ainda permanece em discussão.

Material e Métodos

A fim de inferir as relações de parentesco entre as espécies do gênero *Leontopithecus* e determinar o seu posicionamento filogenético na subfamília Callitrichinae foi sequenciado o genoma mitocondrial completo da espécie *L. chrysomelas*. O espécime utilizado neste estudo é proveniente do Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro e faz parte do banco de amostras de primatas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Pará. O DNA total foi obtido utilizando o Protocolo de Extração de DNA do Kit comercial Wizard® (PROMEGA).

Para a amplificação do genoma mitocondrial completo foram desenhados 26 pares de primers. Os fragmentos do genoma foram sequenciados pelo método de Sanger et al. (1977). O mitogenoma foi anotado usando o MitoZ (Meng et al., 2019) e o servidor web MITOS 2.0 (Bernt et al., 2013). Os genes codificadores de proteína, foram transcritos no programa MEGA XI (Tamura et al., 2021). Os genes de tRNA e suas estruturas secundárias foram identificados por meio do tRNAscan-SE Search Server v.1.21 (Lowe and Eddy, 1997).

Resultados e Discussões

O genoma mitocondrial de *L. chrysomelas* corresponde a uma molécula de dupla fita circular. Possui um total de 16.426 pb organizados em 38 genes, dos quais 13 genes são codificadores de proteínas, 22 de tRNA e 2 de rRNA e duas regiões não codificadoras (Região Controle e OL) (Figura S1). Observa-se que o conteúdo A + T (62,1%) é mais rico que o conteúdo de G + C. A composição total de nucleotídeos é 32,8% de A, 29,3% de T, 13,1% de G e 24,8% de C. A maioria dos genes foram codificados na cadeia pesada, com exceção do gene ND6 e de oito tRNAs que são codificados na cadeia leve.

Os genes de tRNAs variam de 59 pb (tRNASer) a 75 pb (tRNALeu) e existem duas formas destes tRNAs particularmente. O tRNASer (GCT) é diferente de outros tRNAs, pois este não possui o braço de dihidrouridina e desta forma não pode dobrar em estrutura secundária típica de trevo (Figura S2). Os dois genes de rRNA, 12S e 16S, possuem 950 pb e 1558 pb, respectivamente. Estão localizados entre os genes tRNAPhe, e tRNALeu e são separados pelo tRNAVal. Os 13 genes codificadores de proteínas apresentam quatro diferentes códons de início: ATG, ATA, ATT e GTG. Apenas dois genes apresentam códons de parada incompletos, que são presumivelmente concluídos como TAA por poliadenilação pós-transcricional.

Existem duas regiões não codificantes no genoma de *L. chrysomelas*. Uma delas é a origem da cadeia L (OL), com 32 pb, a qual se localiza em um grupo de cinco genes de tRNA, mais precisamente entre a Asparagina e Cisteína (Figura S3). A Região Controle possui 1086 pb e está localizada entre o tRNAPro e o tRNAPhe.

A topologia evidenciou *Saguinus* como grupo irmão dos demais Calitriquíneos, e não suportou o agrupamento de *Saguinus* e *Leontopithecus* como gêneros irmãos como sugerido em estudos anteriores. Com base nos dados, *L. chrysomelas* é a espécie mais divergente do gênero e *L. chrysopygus* e *L. rosalia* compartilham um ancestral comum exclusivo (Figura 1). Considerando que as espécies do gênero *Leontopithecus* estão ameaçadas, a compreensão de

suas relações filogenéticas é importante para a conservação desses animais, nos casos em que as decisões de manejo dependem de uma filogenia representativa e bem suportada.

Agradecimentos

Gratidão a Horacio Schneider.

Financiamento

O trabalho foi financiado com recursos da Capes (Número do processo: 88882.347945/2019-01).

Referências

- Bernt, M., Donath, A., Jühling, F., Externbrink, F., Florentz, C., Fritzsche, G., Stadler, P.F., 2013. MITOS: improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69, 313–319.
- Finstermeier, K., Zinner, D., Brameier, M., Meyer, M., Kreuz, E., Hofreiter, M., Roos, C., 2013. A Mitogenomic Phylogeny of Living Primates. *PLoS ONE* 8, 1-10.
- Harris, R.A., Tardif, S.D., Vinar, T., Wildman, D.E., Rutherford, J.N., Rogers, J., Worley, K.C., Aagaard, K.M., 2014. Evolutionary genetics and implications of small size and twinning in callitrichine primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111, 1467–1472.
- Iucn, 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>
- Lowe, T.M., Eddy, S.R., 1997. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research* 25.
- Malukiewicz, J., Hepp, C.M., Guschanski, K., Stone, A.C., 2017. Phylogeny of the jacchus group of *Callithrix* marmosets based on complete mitochondrial genomes. *American Journal of Physical Anthropology* 162, 157–169.
- Meng, G., Li, Y., Yang, C., Liu, S., 2019. MitoZ: a toolkit for animal mitochondrial genome assembly, annotation and visualization. *Nucleic Acids Research* 47, e63–e63.
- Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A.F., Mittermeier, R.A., 2009. The Systematics and Distributions of the Marmosets (*Callithrix*, *Callibella*, *Cebuella*, and *Mico*) and *Callimico* (*Callimico*) (Callitrichidae, Primates), in: *The Smallest Anthropoids*. Springer US, pp. 25–61.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences* 74, 5463–5467.
- Schneider, H., 2000. The current status of the New World monkey phylogeny. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 72, 165–72.
- Schneider, H., Bernardi, J.A.R., da Cunha, D.B., Tagliaro, C.H., Vallinoto, M., Ferrari, S.F., Sampaio, I., 2012. A molecular analysis of the evolutionary relationships in the Callitrichinae, with emphasis on the position of the dwarf marmoset. *Zoologica Scripta* 41, 1–10.
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38, 3022–3027.

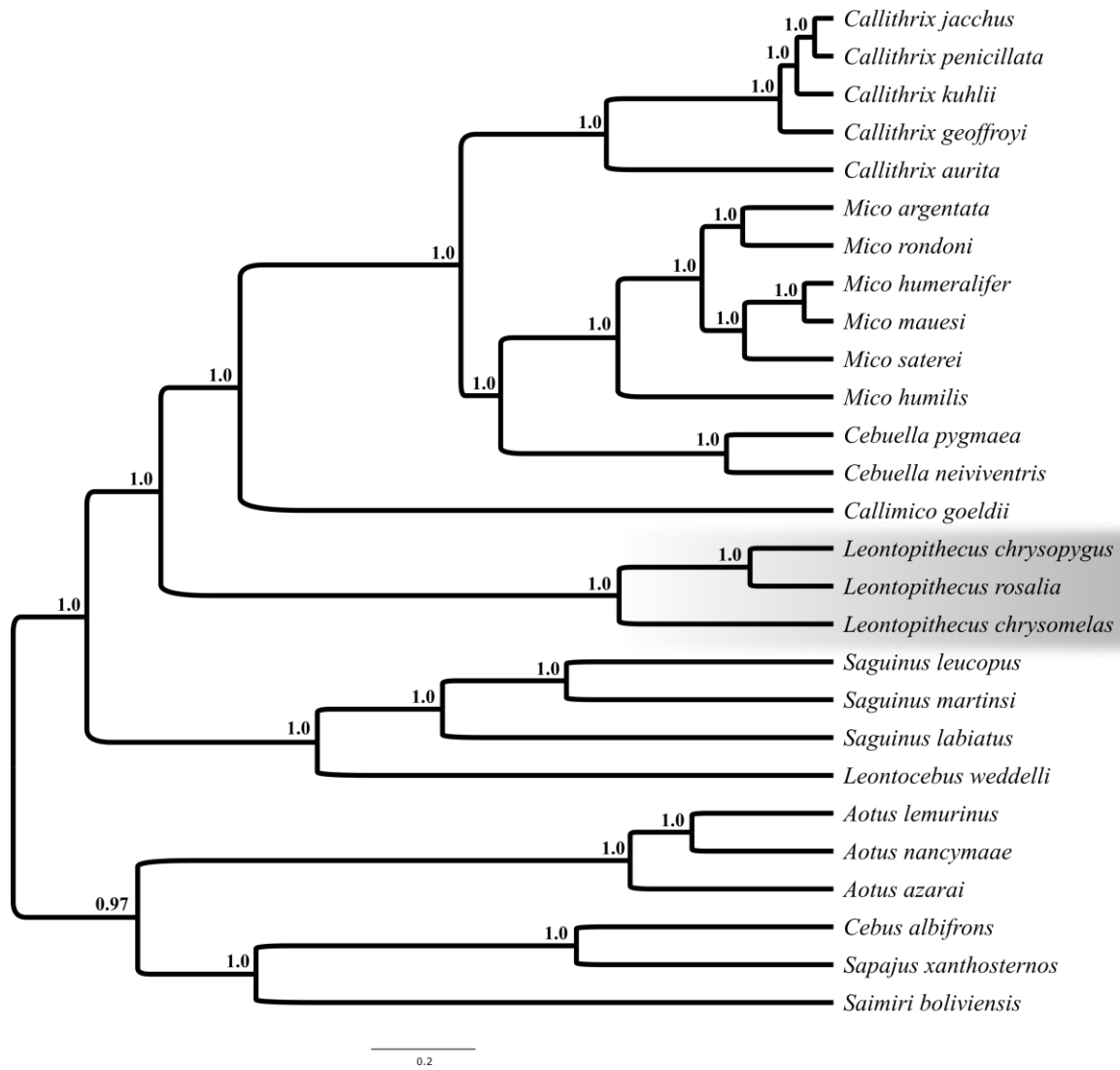


Figura 1. Posição filogenética de *L. chrysomelas* no gênero *Leontopithecus* estimada por análise de Inferência Bayesiana. O clado que agrupa *L. chrysomelas* foi marcado em cinza.

Material Suplementar

Tabela S1 - Anotação dos genes mitocondriais de *L. chrysomelas*, incluindo informações relacionadas ao tamanho do fragmento (pb), posição do gene, localização da cadeia (pesada/leve), espaçamento intergênico, *start* e *stop* códons e anticódons.

Gene	Posição			Cadeia	Espaçamento intergênico	Códon		Anticódon
	Início	Final	Tamanho (bp)			Start	Stop	
tRNA-Phe	1	69	69	Pesada	0			GAA
12S-rRNA	70	1019	950	Pesada	0			
tRNA-Val	1020	1087	68	Pesada	0			TAC
16S-rRNA	1088	2643	1558	Pesada	0			
tRNA-Leu	2644	2718	75	Pesada	2			TAA
ND1	2721	3677	957	Pesada	-1	ATG	TAA	
tRNA-Ile	3677	3745	69	Pesada	-3			GAT
tRNA-Gln	3743	3814	72	Leve	3			TTG
tRNA-Met	3818	3885	68	Pesada	2			CAT
ND2	3888	4928	1041	Pesada	-2	ATT	TAG	
tRNA-Trp	4927	4993	67	Pesada	9			TCA
tRNA-Ala	5003	5071	69	Leve	1			TGC
tRNA-Asn	5073	5145	73	Leve	34			GTT
OL	5148	5179	32	Pesada	-1			
tRNA-Cys	5179	5245	67	Leve	-1			GCA
tRNA-Tyr	5245	5311	66	Leve	13			GTA
COI	5325	6875	1551	Pesada	-13	ATG	AGG	
tRNA-Ser	6863	6931	69	Leve	3			TGA
tRNA-Asp	6935	7003	69	Pesada	0			GTC
COII	7004	7699	696	Pesada	-8	ATG	TAA	
tRNA-Lys	7692	7758	67	Pesada	15			TTT
ATP8	7774	7965	192	Pesada	-46	ATG	TAG	
ATP6	7920	8600	675	Pesada	-1	ATG	TAA	
COIII	8600	9384	785	Pesada	-1	ATG	TGA	
tRNA-Gly	9384	9450	67	Pesada	0			TCC
ND3	9451	9789	339	Pesada	1	ATA	T(AA)	
tRNA-Arg	9791	9856	66	Pesada	11			GCG
ND4L	9868	10152	285	Pesada	-3	ATG	TAA	
ND4	10149	11510	1362	Pesada	10	ATA	TAG	
tRNA-His	11521	11589	69	Pesada	0			GTG
tRNA-Ser	11590	11648	59	Pesada	0			GCT
tRNA-Leu	11649	11719	71	Pesada	3			TAG
NAD5	11723	13519	1797	Pesada	15	ATA	TA(A)	
NAD6	13534	14058	525	Leve	0	ATT	TAA	
tRNA-Glu	14059	14127	69	Leve	5			TTC
Cyt b	14132	15265	1134	Pesada	8	ATG	TAA	
tRNA-Thr	15274	15342	69	Pesada	1			TGT
tRNA-Pro	15344	15412	69	Leve	0			TGG
D-loop	15413	16498	1086	Pesada				

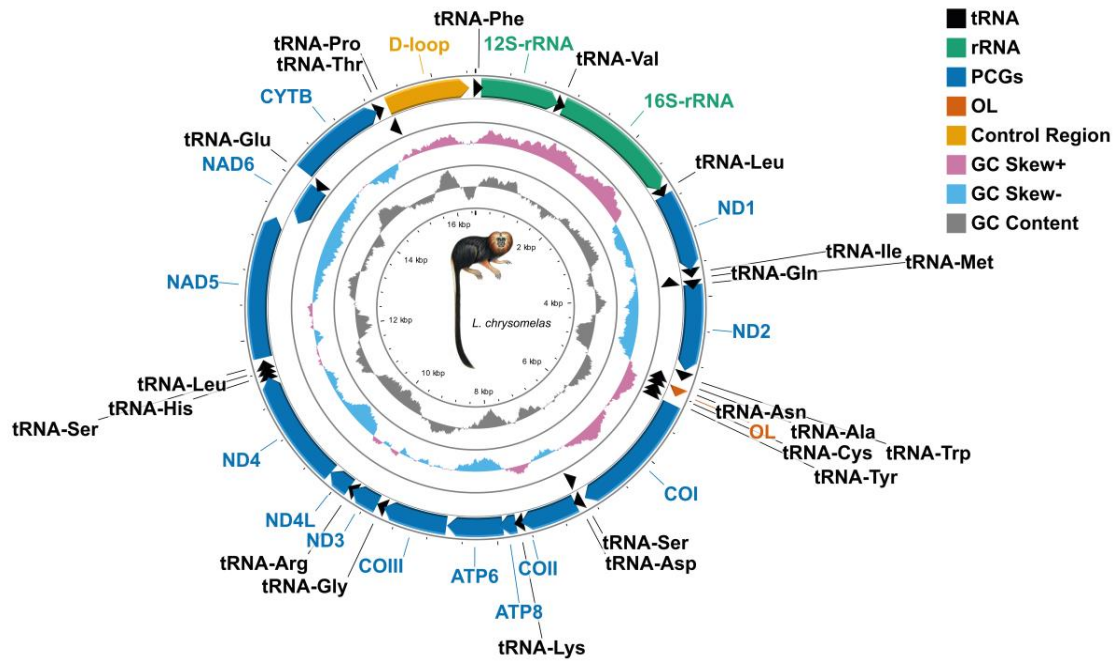


Figura S1. Genoma mitocondrial completo de *L. chrysomelas* gerado no presente estudo. Ilustração: Stephen Nash IUCN/SSC Grupo de Especialistas em Primatas.

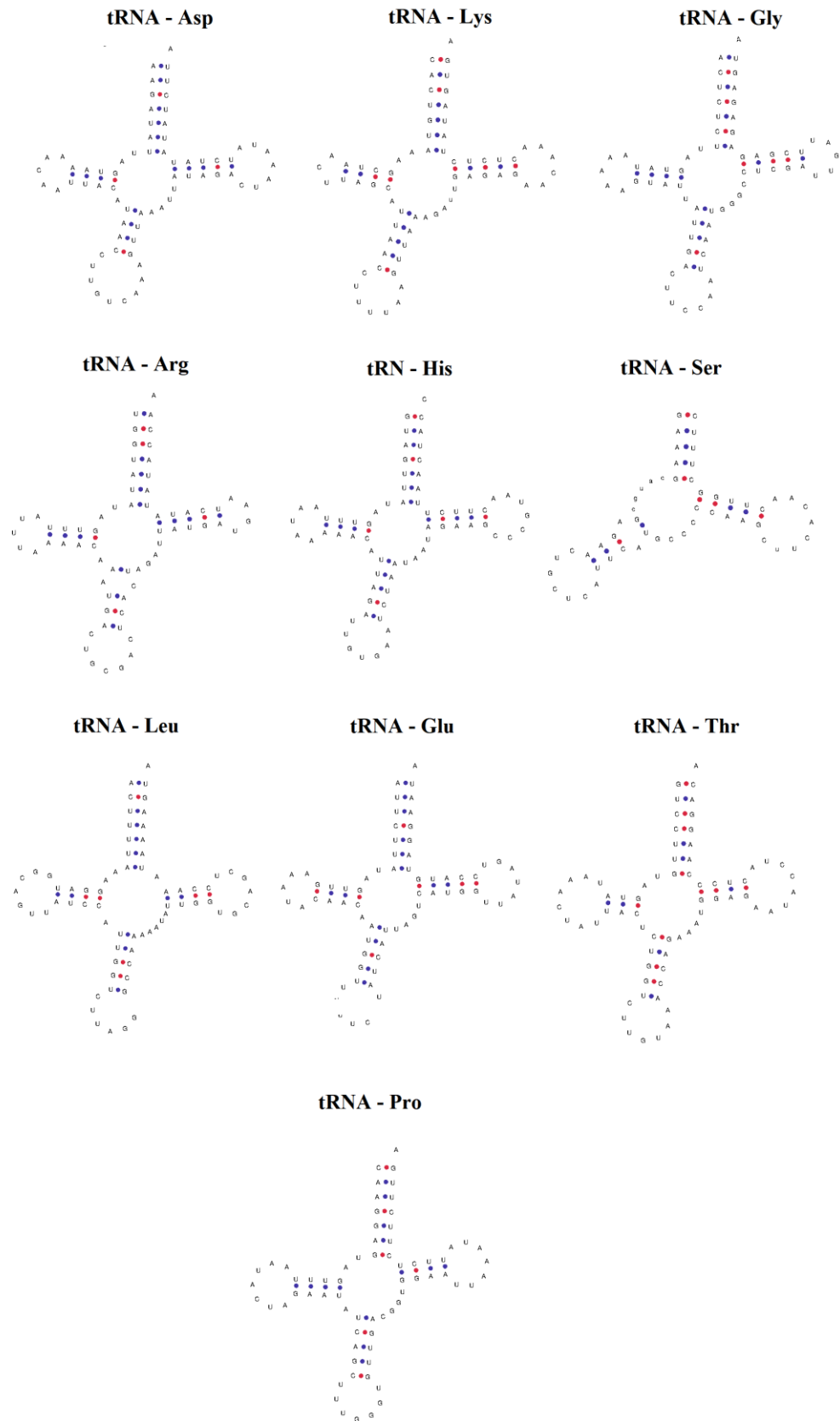


Figura S2. Estrutura secundária dos genes de tRNA do genoma de *L. chrysomelas*.

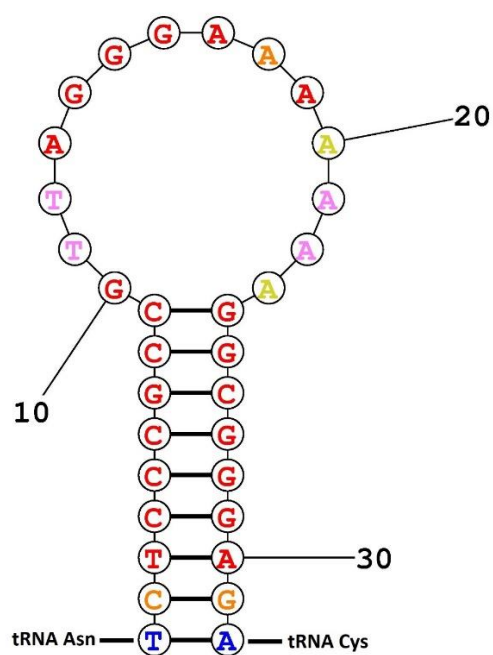


Figura S3. Estrutura secundária da Origem de Replicação da Cadeia L (OL), de *L. chrysomelas*, posicionada entre os genes tRNAAsn e tRNACys.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas análises filogenéticas, biogeográfica e de mitogenômica comparativa da subfamília Callitrichinae, pode-se concluir que:

- Os gêneros *Mico* e *Callithrix* são monofiléticos.
- A linhagem “*humilis*” deve ser considerada uma espécie do gênero *Mico* e não um gênero novo como proposto por Van Roosmalen & Van Roosmalen (2003).
- *Mico humilis* e *Callithrix aurita* são as linhagens mais divergentes de seus respectivos gêneros e surgiram em um tempo evolutivo bem similar.
- O gênero *Callithrix* compreende dois grupos monofiléticos distintos, o grupo *aurita* delimitado ao sul da Mata Atlântica e grupo *jacchus* com distribuição ao norte Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado.
- *C. kuhlii* é grupo irmão de *C. jacchus* e *C. penicillata*, embora ocorra na mesma área geográfica de *C. geoffroyi*.
- *Cebuella* é a linhagem mais externa dos pequenos saguis amazônicos.
- Os dois espécimes de *C. pygmaea* divergiram há 890 mil anos, uma estimativa superior ao observado entre algumas espécies do gênero *Mico* e *Callithrix*, evidenciando uma possível diversidade de táxons que necessita de maiores investigações.
- *Leontocebus* é grupo irmão de *Saguinus*, ao invés do gênero *Leontopithecus* como proposto em alguns estudos.
- *L. chrysomelas* é a espécie mais divergente do gênero, *L. chrysopygus* e *L. rosalia* compartilham um ancestral comum exclusivo.
- Os resultados obtidos revelam três clados em *Saguinus*, as quais corroboram parcialmente com os grupos de espécies de Hershkovitz (1977).
- *Aotus* é grupo-irmão dos Cebídeos, estando estes mais proximamente relacionados com a subfamília Callitrichinae.
- A história biogeografia subfamília Callitrichinae teve seu início com a fragmentação de um ancestral com ampla distribuição amazônica.
- A formação do sistema Pebas durante o Mioceno, o soerguimento da Cordilheira Oriental dos Andes, a formação da ilha do Marajó, o declínio do sistema Pebas durante o Plioceno, a conexão da Amazônia e Mata Atlântica, a conformação dos rios amazônicos e as mudanças climáticas do Pleistoceno foram os principais

impulsionadores da origem e diversificação das espécies atuais de Calitriquíneos na Amazônia.

- A origem e diversificação do gênero *Callithrix* na Mata Atlântica está associada as mudanças climáticas do Plio- Pleistoceno e a formação dos rios, evidenciados pelos eventos vicariantes e recente expansão por colonização em áreas da Caatinga e Cerrado.
- O genoma mitocondrial completo dos primatas do Novo Mundo, corresponde a uma molécula de dupla fita circular, composto por 38 genes, sendo 13 PCGs, 22 genes de tRNA, dois genes de rRNA e duas regiões não codificadoras.
- A cadeia pesada possui 12 PCGs, 14 genes de tRNA, dois genes de rRNA, e duas regiões não codificadoras, enquanto a cadeia leve contém apenas um gene codificador e oito genes de tRNA.
- Todas as espécies estudadas, compartilham a ordem dos genes de tRNA na região WANCY típica de vertebrados.
- Os resultados do presente estudo evidenciam a presença de uma sequência não codificadora com cerca de 32 pb entre os genes de tRNA Asparagina e Cisteína.
- Os genes codificadores de proteínas apresentam quatro diferentes *start* códons: ATG, ATA, ATT e GTG.
- Observou-se quatro *stop* códons completos: TAG, TGA, TAA e AGG, este último exclusivo do gene COI.
- A frequência dos aminoácidos isoleucina, leucina, prolina, serina e treonina foram dominantes em relação aos demais aminoácidos. Estes aminoácidos são, em sua maioria, compostos por A ou T na segunda e terceira posição do códon, contribuindo para o viés A+T de todo o mitogenoma.
- Não observamos rearranjos de genes em todo o genoma mitocondrial.
- Nas famílias Cebidae, Atelidae e Pitheciidae, a região controle é a principal fonte de variação no tamanho dos mitogenomas.