



**FURG**

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG



PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

**Análise citogenética de nove espécies de mamíferos de pequeno porte  
(Didelphimorphia, Rodentia) da Região Sul da Planície Costeira do Rio Grande do  
Sul, Brasil.**

Thaís Morales Vergara Antunes

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande, como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande, Julho de 2011



**FURG**

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG



PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS  
LABORATÓRIO DE GENÉTICA

**Análise citogenética de nove espécies de mamíferos de pequeno porte  
(Didelphimorphia, Rodentia) da Região Sul da Planície Costeira do Rio Grande do  
Sul, Brasil.**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Adriana Gava (FURG)  
Co-orientador: Prof. Dr. Guassenir G. Born (FURG)  
Banca examinadora: Prof. Dr. Ralf Kersanach (FURG)  
Prof. Dr. Edison Zefa (UFPEL)

Rio Grande, Julho de 2011

Dedico este imenso trabalho a todos  
que sempre me estendem as mãos:  
meu grande amor Maicon,  
meus amorosos e compreensivos  
pais Lija e Wagner,  
meu querido irmão André,  
meus maravilhosos amigos  
Cristiane, Fábio e Emerson.  
Amo muito todos vocês!

*“Um país, uma civilização, pode ser julgada pela forma  
com que trata seus animais.”  
(Mahatma Gandhi)*

## **Agradecimentos**

Em ordem cronológica, primeiramente agradeço meu querido primo e amigo Emerson Carlotto que me levou à FURG, me apresentou o mestrado, os professores e a possibilidade de ser aluno especial. Sem ele, esse momento não seria possível (fora os outros momentos e oportunidades maravilhosas que sempre está me proporcionando).

A todos os professores do curso que me aceitaram como aluna especial em todas as matérias, ajudando e incentivando uma pessoa completamente perdida e sozinha na cidade de Rio Grande.

Muito obrigada ao meu grande amigo e orientador, professor Dr. Guassenir, que tão carinhosamente me acolheu no laboratório de genética, e juntos descobrimos que com boa vontade é possível fazer mágica. Obrigada por ser tão compreensível, amigável, acessível e bem humorado.

A professora Dra. Adriana Gava que se dispôs a substituir meu primeiro orientador que se aposentou, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Leandro Bugoni que tão prontamente resolveu tudo o que foi necessário.

Aos queridos amigos de laboratório: André Castillo, Cristiane Carvalho, Franco Telöken, Milene Stangler, Manoel Garcia, Francine e Priscila Ramos pelos deliciosos cafés da tarde, almoços e risadas durante esse fantástico processo de aprendizagem e amadurecimento. Obrigada Pri, pela oportunidade de ser sua co-orientadora no TCC.

As queridas amigas que fiz no grupo de dança: Laís, Bilú, Loira, Pri, Jose e Polly. Valeram as viagens, apresentações, noites sem dormir, frio, prêmio, valeu a luta.

Obrigada ao amigo Maurício Beux, pelo tempo em me ajudar na citogenética, pelas dicas, pelo incentivo, pelos artigos, pela disponibilidade e correções.

Minha querida amiga Vera e toda sua família pelos deliciosos fins de semana,

com cafés, churrascos, vinhos, salgadinhos, os papos sem fim que acalmavam tanto minha ansiedade. Graças a tudo isso, consegui 3kg a mais e perdi todas as minhas calças jeans.

Ao meu grande amigo Fábio Plotegher por tanto aturar meus lamentos, estresses, risadas, medos, por contribuir com sugestões de e-mail a resumo do artigo, só sendo um irmão mais velho pra me aturar tanto!

Minha amada amiga Cristiane da Silva, já são mais de 10 anos de estrada juntas, risadas online, descobrir bobagens dos maridos, jogar sinuca, shows do Metallica e você sempre tem uma palavra amiga e de incentivo pra me dar, muito obrigada!

Mesmo que não saibam ler, minhas queridas fofoteles Meg e Nina, por sempre estarem de bem com a vida, me darem tanto carinho, tantas brincadeiras e estarem sempre dispostas a um passeio. Minha querida Preta que encontrada atropelada no viaduto, me trouxe tanto sentido à vida, me ensinou que o amor pode curar até ossos quebrados. Ao salvar a sua vida, eu salvei a minha.

Amados e queridos “veínhos”, Lija e Wagner, por ouvirem tantos choros, tantos sorrisos, pelas “mesadas”, visitas, viagens, ligações a cobrar.... obrigada pela oportunidade de existir.

Ao meu maravilhoso irmão André Vergara, que sempre tem um vídeo engraçado pra me mandar, uma piada ou um delicioso jantar japonês pra fazer meu sorriso aparecer.

Ao grande amor que tenho nessa vida, Maicon Antunes, meu companheiro, meu suporte, o sangue que passa por dentro do meu coração. Obrigada por fazer da minha existência, algo a qual posso de fato chamar de viver!

Obrigada!!

## Apresentação

Esta dissertação está organizada em uma introdução geral com informações relevantes a respeito da história da citogenética, número de mamíferos (marsupiais e roedores) reconhecidos atualmente, sua diversidade, ocupação de nicho e importância ecológica.

Também há dois manuscritos e uma short communication intitulados respectivamente: “Citogenética de três marsupiais (*Didelphimorphia*) da Região Sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil”; “Citogenética de cinco roedores (*Rodentia*) da Região Sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil” e “Banda C, G de *Deltamys kemp*i e macho com  $2n=38$ ”.

São apresentados dados citogenéticos sobre as espécies utilizadas neste estudo: *Cryptonanus guahybae*, *Didelphis albiventris*, *Lutreolina crassicaudata*, *Deltamys kemp*i, *Oligoryzomys flavescens*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oxymycterus nasutus*, *Scapteromys tumidus* e *Rattus rattus*.

Os manuscritos e a short communication referem-se a todos os resultados citogenéticos obtidos neste estudo, enfatizando as diferenças encontradas por outros autores para as espécies mencionadas e serão submetidos ao periódico *Journal of Mammalian Biology* cujas instruções para submissão estão no anexo 1.

Boa leitura!

Thaís Antunes

## Resumo

O cariótipo de 35 espécimes de pequenos mamíferos, que representam 3 espécies (3 gêneros) de marsupiais (Didelphidae) e 6 espécies (5 gêneros) de roedores (Rodentia) foi apresentado. Dados como banda C e Ag-RON's também foram descritos. O bandamento G foi obtido em apenas uma fêmea de *Deltamys kemp*. Foram coletados exemplares de *Cryptonanus guahybae*, *Didelphis albiventris*, *Lutreolina crassicaudata*, *D. kemp*, *Oligoryzomys flavescens*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oxymycterus nasutus*, *Scapteromys tumidus* e *Rattus rattus* em um fragmento de mata palustre e um fragmento de mata arenosa ciliar na Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Os marsupiais mostraram um cariótipo com características semelhantes as descritas por outros autores entretanto encontramos ambos os cromossomos sexuais acrocêntricos para *C. guahybae*. Para os roedores, foi identificado em *D. kemp* machos e fêmeas com  $2n=38$ , sendo que este cromossomo a mais em machos pode ser classificado como  $Y_2$ , compondo um sistema sexual descrito pela primeira vez, do tipo  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$  ou a primeira descrição de um cromossomo B para esta espécie. A banda C mostrou-se centromérica nos cromossomos sexuais de *O. nasutus* e em *R. rattus* as bandas se fizeram presentes no centrômero de todos os pares cromossômicos, inclusive no cromossomo X sendo o Y totalmente heterocromático. As Ag-RON's de *R. rattus* ocorreu nos braços curtos dos cromossomos 14 e 18, sendo que estes resultados também não haviam sido descritos até o momento.

**Palavras-chave:** Cariótipo, Banda C- G e Ag-RON's, roedores, marsupiais.

## Abstract

The karyotypes of 32 specimens of small mammals, representing 3 species (3 genera) of marsupials (Didelphidae) and 6 species (5 genera) of rodents (Rodentia) are presented. Data such as C and G banding and NOR (nucleolus organizer region) are also described. We collected specimens of *Cryptonanus guahybae*, *Didelphis albiventris*, *Lutreolina crassicaudata*, *Deltamys kempfi*, *Oligoryzomys flavescens*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oxymycterus nasutus*, *Scapteromys tumidus* and *Rattus rattus* in a peat wood fragment and a riparian sandy wood fragment in the coastal plain of Rio Grande do Sul, Brazil. The marsupial showed a conservative karyotype, and we describe for the first time the C-banding of *C. guahybae*, present at the centromere and telomere of pairs 4 and 5. We also found both acrocentric sex chromosomes for this species. For rodents, in *D. kempfi* an extra chromosome was identified ( $2n = 38$ ) in males, being a multiple sexual system, described for the first time as  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$ . The C-band showed centromeric bands on the sex chromosomes of *O. nasutus* and *R. rattus* presented bands at the centromere of all chromosomes, including the X chromosome, and the Y is entirely heterochromatic. The NOR of *Rattus rattus* was obtained in the short arms of chromosomes 14 and 18, and those results have not been described so far.

**Keywords:** Small mammals, C and G-banding and NOR, Didelphidae, Rodentia, Karyotype.

## Sumário

Introdução .....	14
Referências Bibliográficas .....	23
Objetivos .....	30
Manuscrito 1 .....	31
Manuscrito 2 .....	55
Short Communication .....	90

## Lista de Tabelas

### Manuscrito 1:

Tabela 1: Dados cariotípicos de *C. guahybae*, *D. albiventris* e *L. crassicaudata*.....40

Tabela 2: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo número de tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.....42

### Manuscrito 2:

Tabela 1: Dados cariotípicos de *O. flavescens*, *O. nigripes*, *O. nasutus*, *S. tumidus* e *R. Rattus*.....68

Tabela 2: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo número de tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.....73

### Short Communication:

Tabela 1: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo número de tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.....97

## Lista de Figuras

Manuscrito 1:

Figura 1: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América do Sul. B) Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo: 1) Fragmento de mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar. ....	43
Figura 2: Cariótipo em Giemsa de <i>C. guahybae</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	44
Figura 3: Cariótipo em Giemsa de <i>D. albiventris</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	45
Figura 4: Cariótipo em Giemsa de <i>L. crassicaudata</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	46
Figura 5: Cariótipo com banda C de <i>C. guahybae</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	47
Figura 6: Cariótipo com banda C de <i>D. albiventris</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	48
Figura 7: Cariótipo com banda C de <i>L. crassicaudata</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	49
Figura 8: Cariótipo com Ag-RONs de <i>C. guahybae</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	50
Figura 9: Cariótipo com Ag-RONs de <i>D. albiventris</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	51
Figura 10: Cariótipo com Ag-RONs de <i>L. crassicaudata</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	52

Manuscrito 2:

Figura 1: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América do Sul. B) Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo: 1) Fragmento de mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar. ....	74
Figura 2: Cariótipo em Giemsa de <i>O. flavescens</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	75
Figura 3: Pares cromossômicos e número de identificação na amostra dos machos (A) e fêmeas (B) de <i>O. nigripes</i> com polimorfismos. ....	76
Figura 4: Cariótipo em Giemsa de <i>O. nigripes</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	77
Figura 5: Cariótipo em Giemsa de <i>O. nasutus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	78
Figura 6: Cariótipo em Giemsa de <i>S. tumidus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	79
Figura 7: Cariótipo em Giemsa de <i>R. rattus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	80
Figura 8: Cariótipo com banda C de <i>O. flavescens</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais da mesma fêmea de outra metáfase. ....	81
Figura 9: Cariótipo com banda C de <i>O. nigripes</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	82
Figura 10: Cariótipo com banda C de <i>O. nasutus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	83
Figura 11: Cariótipo com banda C de <i>S. tumidus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	84
Figura 12: Cariótipo com banda C de <i>R. rattus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos. ....	85

Figura 13: Metáfase com Ag-RONs de <i>O. nigripes</i> . As setas indicam os cromossomos com as Ag-RONs.....	86
Figura 14: Metáfase com Ag-RONs de <i>O. nasutus</i> . As setas indicam os cromossomos com as Ag-RONs.....	87
Figura 15: Cariótipo com Ag-RONs de <i>S. tumidus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos.....	88
Figura 16: Cariótipo com Ag-RONs de <i>R. rattus</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos.....	89

Short Communication:

Figura 1: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América do Sul. B) Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo: 1) Fragmento de mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar. ....	98
Figura 2: Cariótipo em Giemsa de <i>D. kempfi</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos.....	99
Figura 3: Cariótipo com banda C de <i>D. kempfi</i> . O quadrado indica os cromossomos sexuais dos machos.....	100
Figura 4: Cariótipo com banda G de uma fêmea de <i>D. kempfi</i> .....	101

## Lista de Anexos

Anexo 1: Instructions to authors: Journal of Mammalian Biology .....	102
--	-----

## Introdução

Desde 1960, os estudos citogenéticos vêm acrescentando conhecimento nas áreas da genética, taxonomia e toxicologia do meio-ambiente (Cucchi e Baruffaldi, 1990). O trabalho de Michele *et al.*, (1977) já apontava que os estudos dos cromossomos permitiam classificar espécies e entender sua evolução; Patton e Sherwood (1983) tentavam explicar a especiação e a evolução dos cromossomos em roedores; Toledo e Foresti (1985) vislumbravam que os estudos citogenéticos detalhados em peixes, poderiam contribuir para um melhor entendimento de alguns aspectos da citogenética dos vertebrados de um modo geral e Qumsiyeh (1994) buscou compreender a evolução do número e da morfologia dos cromossomos em mamíferos, ressaltando que certas forças seletivas (recombinação e estabilidade do núcleo) poderiam guiar a evolução dos cromossomos sob condições limitadas.

O estudo do cariótipo permite caracterizar e diferenciar espécies e raças através de identificação de rearranjos cromossômicos e cromossomos B (ou supernumerários), determinação do sexo, localização da heterocromatina constitutiva e regiões organizadoras de nucléolos (Hayman, 1990; Svartman, 2009). Quando esses estudos são associados a técnicas moleculares e dados morfológicos, permitem uma ampla discussão sobre filogenia, taxonomia e evolução (Hayman, 1990; Qumsiyeh, 1994; Costa, 2006; Svartman, 2009). Na sistemática, o estudo do cariótipo pode ser uma ferramenta adicional para a identificação e caracterização de espécies taxonomicamente problemáticas (Garcia, 2005). O reconhecimento de alterações cromossômicas que eventualmente comprometam a reprodução animal pode promover a

preservação de uma determinada população (Lima, 2000, Svartman, 2009). A citogenética também é útil nos campos da mutagênese e aquicultura (Foresti *et al.*, 1993).

O estudo sobre mamíferos sempre esteve concentrado em espécies comercialmente importantes (Silva, 1984). Poucos gêneros de marsupiais brasileiros têm sido objeto de estudo, além disso, uma compreensão abrangente da variação morfológica é praticamente inexistente (Costa e Patton, 2006), sendo a maioria dos estudos restrita a descrições cariotípicas geralmente sem padrões de bandas (Svartman, 2009).

De um modo geral, os estudos citogenéticos em marsupiais permitem o entendimento dos mecanismos básicos de genética e evolução cromossômica em mamíferos por possuírem um cariótipo sem grandes variações entre populações (conservado) (Haymanm, 1990; Svartman, 2009).

Alguns roedores podem apresentar grande variação cariotípica, como é o caso de espécies como *Oligoryzomys nigripes* que possui até 46 cariótipos distintos (citótipos) nos indivíduos originários do Brasil e Uruguai (Paresque *et al.*, 2007). Nesse sentido, estudos cariológicos têm sido empregados para esclarecer a taxonomia de algumas espécies e entender a diversificação do gênero *Oligoryzomys*, devido a sua grande similaridade nos atributos morfológicos (Andrades-Miranda *et a.l.*, 2001; Lima *et al.*, 2003).

Impulsionado pela escassez de estudos na região sul do Rio Grande do Sul, Quintela (2009) realizou sua dissertação de mestrado relatando a assembleia de pequenos mamíferos (Didelphimorphia e Rodentia) em dois fragmentos de matas de restinga, sendo eles: mata arenosa ciliar e mata palustre (ambos possuem como principal característica corpos d'água

permanentemente ou periodicamente alagados) e verificou uma riqueza de espécies semelhante àquela encontrada em outras formações florestais do Brasil.

Das 5676 espécies de mamíferos descritos atualmente (Wilson e Reeder, 2005), a ordem Didelphimorphia é composta por 92 espécies distribuídas em 19 gêneros, sendo que no Brasil estão presentes 16 gêneros, 8 dos quais ocorrem no estado do Rio Grande do Sul (Rossi *et al.*, 2006). Os marsupiais são encontrados apenas na Austrália e no continente Americano (Svartman, 2009), moderadamente diversificados, de pequeno porte e na maioria restritos aos ambientes tropicais e temperados (Costa e Patton, 2006). Muitos possuem uma bolsa (marsúpio) bem desenvolvida, mas outros não têm essa estrutura. A maioria é onívora ou carnívora e parcialmente arborícola, sendo que alguns representantes tornaram-se aquáticos ou semi-aquáticos (ex: *Lutreolina crassicaudata*). São solitários com exceção da época reprodutiva, onde interagem com outros indivíduos da mesma espécie (Myers, 2001; Rossi *et al.*, 2006).

A ordem Rodentia é a mais diversificada: com 2405 espécies, representando aproximadamente 42% da diversidade de todos os mamíferos do mundo (Musser e Carleton, 2005). Dos 481 gêneros que compõem os Rodentia (Wilson e Reeder, 2005), 74 gêneros ocorrem no Brasil, 30 deles estão presentes no Rio Grande do Sul (Bonvicino, *et al.*, 2008). São incrivelmente variados e adaptados para os mais diferentes nichos ecológicos, estão presentes no mundo inteiro com exceção da Antártida, Nova Zelândia, e em algumas ilhas oceânicas. Podem pesar de 5 gramas (camundongo pigmeu) até 70 quilos (como as capivaras). Ecologicamente podem passar a vida inteira

no dossel das florestas tropicais ou sob o solo, serem aquáticos ou desérticos, onívoros ou possuírem uma dieta altamente especializada (Myers, 2000). Desempenham papéis de presas, predadores e dispersores de sementes (Poor, 2005). Essas características diversas são responsáveis pelo sucesso na ampla ocupação de nicho por esses animais, sendo espécies-chave para a manutenção e equilíbrio dos ambientes onde são encontrados.

### **Marsupiais**

*Criptonanus* é um novo gênero descrito por Voss *et al.*, (2005) sendo que *C. guaybae* está restrita ao estado do Rio Grande do Sul (Voss *et al.*, 2005; D'Elia e Martinez, 2006; Rossi *et al.*, 2006). Seu cariótipo apresenta características bem conservadoras sendo  $2n=14$  e  $NF=24$ . As Ag-RON's (região organizadora de nucléolo) estão presentes no par 6 e o cromossomo X é classificado como submetacêntrico e o Y como acrocêntrico (Carvalho *et al.*, 2002; Quintela *et al.*, no prelo).

Garcia *et al.* (2010) coletaram espécimes classificados como *Criptonanus sp.* no Mato Grosso e observaram os mesmos resultados cromossômicos descritos para *C. guahybae* por outros autores, com exceção do cromossomo X, que é subtelocêntrico.

Há também divergências quanto à medição dos braços cromossômicos em alguns pares, sendo os pares 5, 6, X e Y classificados como acrocêntricos (Pereira e Geise, 2007) em espécimes coletados na Bahia e identificados como *Gracilinanus microtarsus*, Pereira *et al.* (2008) classificou todos os cromossomos de *G. microtarsus* oriundos de São Paulo como submetacêntricos e o X como metacêntrico e Garcia *et al.* (2010) descrevem o

par 4 como submetacêntrico e o X como subtelocêntrico com espécimes identificados como *Criptonanus* sp. coletados em Minas Gerais. Não há resultados de banda C para esta espécie. Em uma comunicação pessoal, Carvalho *et al.*, (2002) informaram a reclassificação dos espécimes coletados de *G. microtarsus* para *C. guahybae* (anexo 2).

O marsupial *Didelphis albiventris* está distribuído pela Colômbia, Equador, Peru, Brasil, Bolívia, Paraguai, Uruguai e até a metade norte da Argentina (Rossi *et al.*, 2006). Mesmo assim, seu cariótipo é composto por  $2n=22$ ,  $NF=20$  e a banda C está presente na região centromérica de todos os cromossomos autossômicos e no X, sendo o Y totalmente heterocromático. As Ag-RONs estão presentes no telômero do braço longo (q) dos pares 4 e 5 (Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1982; Carvalho e Mattevi, 2000; Carvalho *et al.*, 2002).

Outra espécie que também possui estas características conservadas em seu cariótipo é *Lutreolina crassicaudata*. Está distribuída pela América do Sul em duas populações: leste da Colômbia, Venezuela e oeste da Guiana; leste da Bolívia, sudeste do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina e sul da província de Buenos Aires (Rossi *et al.*, 2006). Seu cariótipo possui  $2n=22$  e  $NF=20$ , não apresenta heterocromatina constitutiva em seus cromossomos autossomos, mas sim nos sexuais, sendo o Y totalmente heterocromático, bem como o braço curto (p) do X, sendo que o braço longo (q) possui bandas teloméricas. As Ag-RONs foram localizadas em dois pares cromossômicos por Yonenaga-Yassuda *et al.* (1982) e nos pares 5p e 7q por Carvalho *et al.* (2002).

## Roedores

*Deltamys kemp* está distribuído pelo centro leste Argentina, Uruguai e Rio Grande do Sul (Oliveira e Bonvicino, 2006) e é uma raridade entre os mamíferos por exibir um sistema sexual múltiplo composto por  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ . O cariótipo das fêmeas é composto por  $2n=38$  e dos machos  $2n=37$ , a banda C apresenta blocos de heterocromatina centromérica em todos os pares cromossômicos, inclusive no  $X_2$ , pericentroméricas no  $X_1$  e totalmente heterocromática no Yp. As Ag-RONs estão presentes em 2 a 7 cromossomos. Fusões cêntricas foram observadas entre os cromossomos 2:3 e 9:15, alterando o  $2n$  da espécie para 35, 36 e 37 em espécimes coletados em Tapes e Tramandaí (Fronza *et al.*, 1981; Sbalqueiro *et al.*, 1984; Castro *et al.*, 1991).

Outros cricetídeos podem ocupar muitas regiões a ponto de terem seus limites de distribuição incertos: *Oligoryzomys flavescens* ocupa o Paraguai, Uruguai, Argentina e Brasil (Rio Grande do Sul até Bahia) (Oliveira e Bonvicino, 2006). Seu cariótipo varia de  $2n=64$  a 67 e  $NF=66$  até 68 devido à presença de 0 a 3 cromossomos B. A banda C revela heterocromatina centromérica em todos os cromossomos autossomos, inclusive nos sexuais, o Y é polimórfico e as Ag-RONs marcaram de 2 a 8 cromossomos (Brum, 1965; Sbalqueiro *et al.*, 1991; Aniskin e Volobouev, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2001).

Até o presente momento, 55 espécies de mamíferos apresentam cromossomos B (Vujošević e Blagojević, 2004). Estes cromossomos, geralmente, são heterocromáticos e ainda não puderam ser correlacionados a qualquer característica morfológica (Vujošević e Blagojević, 2004). Alguns trabalhos os têm relacionado com comportamento (Shellhammer, 1969). São menos frequentes em mamíferos do que em outros organismos (Vujošević e

Blagojević, 2004) e sua dinâmica evolutiva, embora ainda não esclarecida, tem sido relacionada com a deriva genética e seleção natural e pode ser distinta entre populações geográficas (Wójcik *et al.*, 2004). A maioria dos estudos sobre cromossomos B nos roedores brasileiros está relacionada com sua estrutura e composição, mesmo assim sua origem e evolução permanecem obscuras (Silva e Yonenaga-Yassuda, 2004).

O roedor mais polimórfico é *O. nigripes*, distribuído desde o leste do Paraguai, norte da Argentina, e região da Floresta Atlântica, até o centro e sudeste do Brasil (Rio grande do sul até Paraíba, interior de Goiás e Distrito Federal e Ilha Grande) (Oliveira e Bonvicino, 2006) e apresenta até o momento 46 cariótipos variantes (citótipos) descritos, devido a inversões pericêntricas envolvendo os pares 2, 3, 4, 8, X e Y, o que faz o NF variar de 78 a 82. Entretanto, considerando todas as combinações possíveis seriam esperados 432 citótipos (Paresque *et al.*, 2007). Seu cariótipo é composto de  $2n=62$  (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Bonvicino *et al.*, 2001; Paresque *et al.*, 2007; Pereira e Geise, 2007), presença de heterocromatina constitutiva centromérica em alguns pares, sendo o braço curto do cromossomo X e o braço longo do Y totalmente heterocromáticos (Andrades-Miranda *et al.*, 2001). Lima *et al.* (2003) coletaram espécimes em Tocantins e Goiânia classificados como *Oligoryzomys* sp. e registraram um  $2n=70$ ,  $NF=74$  e  $76$ ; a banda C apresentou blocos de heterocromatina centromérica em quase todos os autossomos, menos no par 34 e o X quase totalmente heterocromático. As Ag-RONs também foram descritas por Lima *et al.* (2003) presentes na região telomérica dos cromossomos acrocêntricos de tamanho médio.

Uma das espécies de roedores no Rio Grande do Sul com menos

estudos cariotípicos é *Oxymycterus nasutus*. Possui uma distribuição que vai desde o Uruguai a áreas adjacentes ao sudeste do Brasil (Rio Grande do Sul até São Paulo) (Oliveira e Bonvicino, 2006). Seu cariótipo apresenta  $2n=54$  e  $NF=64$  (Vitullo *et al.*, 1986; Svartman e Almeida, 1993). Foram coletados no Distrito Federal por Svartman e Almeida (1993) e apresentaram heterocromatina centromérica em todos os cromossomos autossomos, sendo totalmente heterocromática no braço curto do X e do Y. A RON se apresenta em 5 a 13 cromossomos, tendo 8 como número modal.

Alguns roedores não possuem ampla distribuição, é o caso de *Scapteromys tumidus*, que ocupa a porção do Brasil meridional (Rio Grande do Sul), Uruguai e Argentina (Oliveira e Bonvicino, 2006). Seu cariótipo abrange três taxa cariotípicos no Brasil:  $2n=36$ , 34 e 24. No Uruguai apresenta  $2n=24$  e na Argentina  $2n=32$ , entretanto seu  $NF$  é sempre 40, pois essa variação no número cromossômico ocorre devido à translocações Robertsonianas (Freitas *et al.*, 1984). Os resultados para padrões de banda C foram observados apenas nos cromossomos sexuais (bandas de heterocromatina centromérica no cromossomo X e o Y totalmente heterocromático) ou traços de heterocromatina visualizados em alguns pares autossômicos, mas apenas o par 10 foi identificado com precisão, apresentando tais bandas. (Freitas *et al.*, 1984; Brum-Zorrilla *et al.*, 1986). As Ag-RONs também apresentam características peculiares, marcando na região centromérica em apenas um dos homólogos dos pares 3, 7 e 9 em espécimes coletados no Uruguai (Brum-Zorrilla *et al.*, 1986) ou na região pericentromérica dos pares 3, 6, 7 e 8 em espécimes coletados em Nova Tirol (SC) (Freitas *et al.*, 1984).

*Rattus rattus* é um exemplo de espécie exótica amplamente distribuída

no Brasil, zonas temperadas e partes das zonas tropicais e subantárticas, sendo nativo da península indiana (Oliveira e Bonvicino, 2006). É sem dúvida uma espécie politípica, dividida em três categorias, de acordo com seu número cromossômico: oceânica ( $2n=38$ ), ceilânica ( $2n=40$ ) e asiática ( $2n=42$ ) (Yosida, 1977). Os espécimes do Rio Grande do Sul são da categoria oceânica, possuem  $NF=58$  (Bianchi *et al.*, 1969; Davis e Baker, 1971, Lima, 2000), heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos e Ag-RONs que variam de 3 a 4 por metáfase (Lima, 2000). Diferentes resultados de morfologia, bandamento e número diploide são encontrados para representantes das outras categorias, inclusive com relatos de cromossomos B e polimorfismos (Yosida *et al.*, 1971; Yosida *et al.*, 1974; Yosida, 1977; Guevara e Guardia, 1981; Bhattacharya e Chakrabarti, 1985). A diversidade de resultados observados por outros autores e a escassez de dados citogenéticos para os pequenos mamíferos da região sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul ressaltam a importância de novos estudos nessa região.

O presente trabalho visou analisar o cariótipo das espécies *C. guahybae*, *D. albiventris*, *L. crassicaudata*, *D. kempfi*, *O. flavescens*, *O. nigripes*, *O. nasutus*, *S. tumidus* e *R. rattus*, coletados em um fragmento de mata ciliar e um fragmento de mata palustre no município do Rio Grande por Quintela (2009). São apresentados dados sobre padrões cariotípicos, morfologia cromossômica e padrões de bandamento C e Ag-RONs de cada espécie, proporcionando esclarecimentos sobre espécies de difícil diferenciação taxonômica e fornecendo ferramentas para registrar e descrever a diversidade biológica da região sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

## Referências Bibliográficas

- Andrades-Miranda, J., Oliveira, L.F.B., Andre, C., Lima-Rosa, V., Nunes, A.P., Zanchin, N.I.T., Mattevi, M.S., 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *Journal of Mammalogy* 82, 4:1080–1091.
- Aniskin, V.M., Volobouev, V.T., 1999. Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae. *Chromosome Research* 7: 557-562.
- Bhattacharya, S., Chakrabarti, S., 1985. Chromosome polymorphism in black rat, *Rattus rattus* (Mammalia, Rodentia) from India due to pericentric-inversion in pair of chromosome-6 and chromosome-7. *Genetica Polonica* 26, 3:391-395.
- Bianchi, N.O., Paulete-Farell, J., Vidal Rioja, L.A., 1969. Complement with 38 chromosomes in two south american populations of *Rattus rattus*. *Experientia* 25, 10:1111-1112.
- Bonvicino, C. R., Oliveira, J. A., D'andrea, P. S., 2008. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS.
- Bonvicino, C.R., D'andrea, P.S., Borodin, P.M., 2001. Pericentric inversion in natural populations of *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia: Sigmodontinae). *Genome* 44, 5: 791-796.
- Brum, N., 1965. Investigaciones citogeneticas sobre algunas espécies de cricetinae (Rodentia) del Uruguay. *Annais II Congresso Latino Americano de Zoologia* 2:315-320.

- Brum-Zorrilla, N., Oliver, G., Defronza, T.G., Wainberg, R., 1986. Karyological studies of south-american rodents (Rodentia, Cricetidae). 1. Comparative chromosomic analysis in *Scapteromys* taxa. *Cariologia* 39, 2:131-142.
- Carvalho, B.D., Mattevi, M.S., 2000.  $(T_2AG_3)_n$  Telomeric sequence hybridization suggestive of centric fusion in karyotype marsupials evolution. *Genetica* 108, 3:205-210.
- Carvalho, B.A., Oliveira, L.F.B., Nunes, A.P., Mattevi, M.S., 2002. Karyotypes of nineteen marsupial species from Brazil. *Journal of Mammalogy*, 83, 1:58–70.
- Castro, E.C., Mattevi, M.S., Maluf, S.W., Oliveira, L.F., 1991. Distinct centric fusions in different populations of *Deltamys kempfi* (Rodentia, Cricetidae) from South America. *Cytobios* 68(274-275):153-9.
- Costa, L.P., 2006. Relações filogenéticas intergenéticas de marsupiais didelfídeos. In: Cáceres, N.C., Monteiro-Filho, E.L.A. (Eds). *Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução*. Editora Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, pp. 343-354.
- Costa, L.P., Patton, J.L., 2006. Diversidade e limites geográficos e sistemáticos de marsupiais brasileiros. In: Cáceres, N.C., Monteiro-Filho, E.L.A. (Eds). *Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução*. Editora Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, pp. 322-342.
- Cucchi, C., Baruffaldi, A., 1990. A new method for karyological studies in teleost fishes. *Journal of Fish Biology*, 37, 1:71-75.
- Davis, B.L., Baker, R.J., 1971. Chromosome morphology of north American *Rattus rattus* (L.) (Muridae). *Cytologia* 36, 417-420.

- D'elía, G., Martínez, J.A., 2006. Registros uruguayos de *Gracilinanus* Gardner y Creighton, 1989 y *Cryptonanus* Voss, Lunde y Jansa, 2005 (Didelphimorphia, Didelphidae). *Mastozoología Neotropical* 13, 2:245-249.
- Foresti, F., Oliveira, C., Toledo, L.F.A., 1993. A method for chromosome preparations from large fish specimens using vitro short-term treatment with colchicine. *Experientia*, 49.
- Freitas, T.R.O., Mattevi, M.S., Oliveira, L.F.B., 1984. Unusual C-band patterns in three karyotypically rearranged forms of *Scapteromys* (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Cytogenet. Cell Genet*, 38:39-44.
- Fronza, T.M.L.G., Wainberg, R.L., Catalfo, G.E.H., 1981. Multiple sex chromossomes in *Deltamys kempii* (Rodentia, Cricetidae): Preliminary steps towards the stablishment of the XX/XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> system. *Caryologia* 34, 4:457-466.
- Garcia, C., 2005. Contribuições aos estudos citogenéticos em algumas espécies de 5 famílias de Siluriformes do rio São Francisco. São Carlos: UFSCar. Tese de Mestrado. 2005.
- Garcia, J.P., Oliveira, J.A., Corrêa, M.M.O., Pessôa, L.M., 2010. Morphometrics and cytogenetics of *Gracilinanus agilis* and *Cryptonanus* spp. (Didelphimorphia:Didelphidae) from central and northeastern Brazil. *Mastozoología Neotropical* 17, 1:53-60.
- Guevara, R.G.L., Guardia, R.D., 1981. Frequency of chromosome polymorphism for pericentric inversions and B-chromosomes in Spanish populations of *Rattus rattus frugivorus*. *Genetica* 57, 2:99-103.
- Hayman, D.L., 1990. Marsupial Cytogenetics. *Aust. J. Zool*, 37, 331-49.
- Lima, J.F.S., 2000. Diversidade cariológica de roedores de pequeno porte do

- Estado do Tocantins, Brasil. Rio Claro: UNSP. Tese de Doutorado.
- Lima, J.F.S., Bonvicino, C.R., Kasahara, S., 2003. A new karyotype of *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. *Hereditas* 139: 1–6.
- Michele, J.L., Takahashi, C.S., Ferrari, I., 1977. Karyotypic study of some species of the family Loricariidae (Pisces). *Cytologia*, 42:539-546.
- Musser, G.G., Carleton, M.D., 2005. Superfamily muroidea. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. (Eds.). *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. Ed. Johns Hopkins, Third edition, pp. 894-1531.
- Myers, P. 2000. "Rodentia" (On-line), Animal Diversity Web. Acessado em 16 de maio de 2011.  
<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rodentia.html>
- Myers, P. 2001. "Didelphimorphia" (On-line), Animal Diversity Web. Acessado em 17 de maio de 2011.  
<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Didelphimorphia.html>.
- Oliveira, J.A.; Bonvicino, C.R., 2006. Rodentia. In: Reis, N.R., Peracchi, A.L., Pedro, W.A., Lima, I.P. (Eds.). *Mamíferos do Brasil*, Londrina, pp. 27-66.
- Paresque, R., Silva, M.J.J., Yonenaga-Yassuda, Y., Fagundes, V., 2007. Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 30, 1:43-53.
- Patton, J.L., Sherwood, S.W., 1983. Chromosome Evolution and speciation in

- rodents. Ann. Ver. Ecol. Syst. 14:139-158.
- Pereira, L.G., Geise, L., 2007. Karyotype composition of some rodents and marsupials from Chapada Diamantina (Bahia, Brasil). Braz. J. Biol., 67, 3: 509-518.
- Pereira, N.P., Ventura, K., Silva Júnior, M.C.S., Melo E Silva, D., Yonenaga-Yassuda, Y., Pellegrino, K.C.M., 2008. Karyotype characterization and nucleolar organizer regions of marsupial species (Didelphidae) from areas of Cerrado and Atlantic Forest in Brazil. Genetics and Molecular Biology 31, 4:887-892.
- Poor, A. 2005. "Cricetidae" (On-line), Animal Diversity Web. Acessado em 28 de Maio de 2011, disponível em: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Cricetidae.html>.
- Quintela, F.M., 2009. Assembleia de pequenos mamíferos (Didelphimorphia, Rodentia) em dois fragmentos de matas de restinga da região sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Rio Grande: FURG. Tese de Mestrado.
- Quintela, F.M., Santos, M.B., Gava, A., Christoff, A.U. Notas sobre morfologia, distribuição geográfica, história natural e citogenética de *Cryptonanus guahybae* (Tate, 1931) (Didelphimorphia: Didelphidae). No Prelo.
- Qumsiyeh, M.B., 1994. Evolution of number and morphology of mammalian chromosomes. Heredity, 85:455-465.
- Rossi, R.V., Bianconi, G.V., Pedro, W.A., 2006. Didelphimorphia. In: Reis, N.R., Peracchi, A.L., Pedro, W.A., Lima, I.P. (Eds.). Mamíferos do Brasil, Londrina, pp. 27-66.

- Sbalqueiro, I.J., Mattevi, M.S., Oliviera, L.F.B., 1984. An  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  mechanism of sex determination in a South American rodent, *Deltamys kempi* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenet Cell Genet* 38:50-55.
- Sbalqueiro, I.J., Mattevi, M.S., Oliveira, L.F.B., Solano, M.J.V., 1991. B Chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil. *Acta Theriologica* 36 (1-2): 193-199.
- Shellhammer, 1969 In: Vujošević, M., Blagojević, J. B chromosomes in populations of mammals. *Cytogenet Genome Res* 106:247–256, 2004.
- Silva, F., 1984. Mamíferos silvestres do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul.
- Silva, M.J.J., Yonenaga-Yassuda, Y., 2004. B chromosomes in Brazilian rodents. *Cytogenet Genome Res* 106:257–263.
- Svartman, M., Almeida, E.J.C., 1993. The karyotype of *Oxymycterus nasutus* (Cricetidae, Rodentia) from central Brazil. *Experientia* 49, 718-720.
- Svartman, M., 2009. American marsupial chromosomes: why study them? *Genetics and Molecular Biology* 32, 4, 675-687.
- Toledo, L.F.A., Foresti, F., 1985. As regiões organizadores do nucléolo em peixes. *Revista Ciência e Cultura*, 37:3.
- Vitullo, A.D., Merani, M.S., Reig, O.A., Kajon, A.E., Scaglia, O., Espinosa, M.B., Perez-Zapata, A., 1986. Cytogenetics of south american akodont rodents (Cricetidae): New karyotypes and chromosomal banding patterns of Argentinian and Uruguayan forms. *Journal of Mammalogy* 1, 67:69-80.
- Voss, R.S., Lunde, D.P., Jans, S.A., 2005. On the contents of *Gracilinanus* Gardner and Creighton, 1989, with the description of a previously unrecognized clade of small Didelphid marsupials. *American Museum of*

- Natural History 3482, 1-34.
- Vujošević, M., Blagojević, J., 2004. B chromosomes in populations of mammals. *Cytogenet Genome Res* 106:247–256.
- Wilson, D.E., Reeder, D.M. (editores), 2005. *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. Ed. Johns Hopkins, Terceira Edição.
- Wójcik, J.M., Wójcik, A.M., Macholán, M., Piálek, J., Zima, J., 2004. The mammalian model for population studies of B chromosomes: the wood mouse (*Apodemus*). *Cytogenet Genome Res* 106:264–270.
- Yonenaga-Yassuda, Y., Kasahara, S., Souza, M.J., L'abbate, M., 1982. Constitutive heterochromatin, G-bands and nucleolus-organizer regions in four species of Didelphidae (Marsupialia). *Genetica* 58:71–77.
- Yosida, T.H., Moriwaki, K., Sagai, T., 1974. A female black rat (*Rattus rattus*) with a single X-chromosome. *Japan. J. Genetics* 49, 1:49-52.
- Yosida, T.H., Tsuchiya, K., Moriwaki, K., 1971. Frequency of chromosome polymorphism in *Rattus-rattus* collected in Japan. *Chromosoma* 33, 1:30-40.
- Yosida, T.H., 1977. Frequencies of chromosome polymorphism in pairs no. 1, 9, and 13 in three geographical variants of black rats, *Rattus rattus*. *Chromosoma* 60, 391-398.

## Objetivos

1. Descrever citogeneticamente três espécies de Didelphimorphia (*Cryptonanus guahybae*, *Didelphis albiventris* e *Lutreolina crassicaudata*) e seis espécies de Rodentia (*Deltamys kempi*, *Oxymycterus nasutus*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oligoryzomys flavescens*, *Scapteromys tumidus* e *Rattus rattus*);
2. Empregar as técnicas de coloração convencional e diferencial (bandas G, C e regiões organizadoras de nucléolo) (Ag-RONs).

### **3. Manuscrito 1**

**Citogenética de três marsupiais (Didelphimorphia) da Região Sul da  
Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil**

1           **Citogenética de três marsupiais (Didelphimorphia) da Região Sul da**  
2 **Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil**

3  
4           Thaís Morales Vergara Antunes<sup>a</sup>, Guassenir Gonçalves Born<sup>b</sup>, Fernando  
5 Marques Quintela<sup>b</sup>, Maurício Beux dos Santos<sup>b</sup>, Adriana Gava<sup>b</sup>

6  
7           <sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos  
8 Continentais, Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália km 8, Caixa Postal  
9 474, CEP 96201-900, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Telefone: (55) 53-  
10 3233-6848 . E-mail: herpetaty@gmail.com.

11           <sup>b</sup>Laboratório de Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade  
12 Federal do Rio Grande, Avenida Itália km 8, Rio Grande, Rio Grande do Sul,  
13 Brasil.

14  
15           **Resumo**

16           É apresentado o cariótipo de 8 espécimes de marsupiais das seguintes  
17 espécies: *Cryptonanus guahybae*, *Didelphis albiventris* e *Lutreolina*  
18 *crassicaudata*. As amostras foram feitas em um fragmento de mata palustre e  
19 arenosa ciliar, na Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Os cariótipos  
20 mostraram-se conservados em relação aos cariótipos já descritos, sendo  
21 ambos os cromossomos sexuais de *C. guahybae* acrocêntricos,  $2n=14$ ,  
22 heterocromatina constitutiva nos pares 4p, 5p e y totalmente heterocromático e  
23 Ag-RONs no par 6p. *D. albiventris* e *L. crassicaudata* apresentaram um  
24 cariótipo com  $2n=22$ . Em *L. crassicaudata*, foi observada heterocromatina  
25 constitutiva apenas no braço longo do cromossomo X e o Y totalmente

26 heterocromático. Em *D. albiventris* o bandamento C apresentou-se no  
27 centrômero de todos os pares, inclusive no X e o Y totalmente heterocromático.  
28 As Ag-RONs estiveram presentes nos pares 4q e 7p em *L. crassicaudata* e em  
29 *D. albiventris* nos pares 5q, 7q, 8q.

30

## 31 **Introdução**

32 Os mamíferos atualmente compreendem 5676 espécies (Wilson e  
33 Reeder, 2005) sendo a ordem Didelphimorphia composta por 19 gêneros, 16  
34 dos quais ocorrem no Brasil. A metade de todos os gêneros de marsupiais  
35 brasileiros (8) ocorrem no estado do Rio Grande do Sul (Rossi *et al.*, 2006).

36 Os representantes desta ordem são encontrados apenas na Austrália e  
37 no continente Americano (Svartman, 2009), e apresentam em sua grande  
38 maioria um cariótipo com características bem conservadas como é o caso de  
39 *Criptonanus guaybae* com  $2n=14$  (Carvalho *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2008) e  
40  $2n=22$  para *Didelphis albiventris* e *Lutreolina crassicaudata* (Yonenaga-Yassuda  
41 *et al.*, 1982; Carvalho e Mattevi, 2000; Carvalho *et al.*, 2002). São apresentado  
42 na tabela 1 os resultados citogenéticos descritos por outros autores para estas  
43 três espécies.

44 Os gêneros de marsupiais brasileiros não têm sido objeto de estudos  
45 citogenéticos, o que resulta em uma falha na compreensão mais abrangente da  
46 variação cromossômica destas espécies (Costa e Patton, 2006), sendo que a  
47 maioria dos estudos está restrita a descrições cariotípicas geralmente sem  
48 padrões de bandas (Svartman, 2009).

49 Os estudos cariológicos têm sido usados para clarear a taxonomia de  
50 algumas espécies, buscando esclarecimentos sobre diferenciação taxonômica

51 e fornecendo ferramentas importantes para registrar, descrever a diversidade  
52 biológica e entender a diversificação de espécies com grande similaridade nos  
53 atributos morfológicos (Andrades-Miranda *et al.*, 2001).

54 Nesse sentido, o presente estudo buscou descrever citogeneticamente  
55 três espécies de marsupiais presentes na região da planície costeira do Rio  
56 Grande do Sul, a fim de entender melhor a dinâmica cromossômica dentro  
57 deste grupo.

58

### 59 **Materiais e Métodos**

60 O estudo foi realizado em um fragmento de mata palustre (32° 07´S; 52°  
61 09´W) e um fragmento de mata arenosa ciliar (32° 09´S; 52° 11´W) separados  
62 por uma distância aproximada de 5km no município de Rio Grande/RS (fig.1).

63 A amostra incluiu 3 táxons distintos: *C. guahybae*, *D. albiventris* e *L.*  
64 *crassicaudata*. Os espécimes foram depositados na coleção de mamíferos do  
65 Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU) e os  
66 números de tombo estão listados na tabela 2.

67 Os espécimes foram preparados para obtenção de cromossomos  
68 mitóticos a partir da medula óssea, segundo a técnica de Ford e Hammerton  
69 (1956). As técnicas de banda C e Ag-RONs (Região Organizadora de Nucléolo)  
70 foram preparadas conforme Sumner (1972) e Howell e Black (1980)  
71 respectivamente. Para o bandamento C utilizou-se o bário a 40°C e tempos de  
72 1:30s para *C. guahybae* e 1:20s para *D. albiventris* e *L. crassicaudata*.

73 Foram considerados como de dois braços os cromossomos  
74 metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos e de um braço os  
75 cromossomos acrocêntricos, se respeitando as medidas propostas por Levan

76 *et al.* (1964) para apresentar o número diploide e o número fundamental (NF =  
77 número de braços autossômicos) de cada espécie. Para cada técnica foi  
78 observada no mínimo 10 metáfases de cada espécime e os cariótipos foram  
79 montados manualmente com auxílio de software a partir de imagens digitais.

80

## 81 **Resultados**

82 Foram coletados dois machos de *C. guahybae* no fragmento de mata  
83 palustre que apresentaram  $2n=14$  e um  $NF=24$ . Os pares 1 a 3 são  
84 submetacêntricos, o par 4 metacêntrico e os pares 5 e 6 são subtelocêntricos.  
85 Os cromossomos sexuais são constituídos por um X acrocêntrico pequeno e o  
86 Y é o menor acrocêntrico (fig. 2).

87 A técnica de banda C revelou bandas centroméricas no telômero dos  
88 pares 5p e 6p, traços de heterocromatina foram observados no centrômero de  
89 alguns pares e o cromossomo Y foi totalmente heterocromático (fig. 5). As Ag-  
90 RONS foram encontradas no telômero do par 6p (fig. 8).

91 A análise citogenética dos dois machos e uma fêmea oriundos do  
92 fragmento de mata arenosa ciliar de *D. albiventris*, mostrou um cariótipo  
93 composto de  $2n=24$  e um  $NF=20$ . Os pares de 1 a 10 são acrocêntricos, bem  
94 como os cromossomos sexuais, sendo o X um acrocêntrico pequeno e o Y um  
95 acrocêntrico menor que o X (fig. 3).

96 A distribuição do bandamento C foi na região centromérica de todos os  
97 cromossomos, inclusive no X, sendo o Y totalmente heterocromático (fig. 6). As  
98 Ag-RONS estão distribuídas nas regiões teloméricas dos pares 5q, 7q e 8q (fig.  
99 9).

100 Os dois machos e uma fêmea coletados no fragmento de mata arenosa

101 ciliar de *L. crassicaudata*, apresentaram um cariótipo composto por  $2n=24$  e um  
102  $NF=20$ . Os pares de 1 a 10 são acrocêntricos, o cromossomo X é um  
103 metacêntrico médio e o Y é um acrocêntrico pequeno (fig. 4).

104 Um dos braços do cromossomos X se apresentou totalmente  
105 heterocromático para a técnica de banda C e o Y totalmente heterocromático  
106 (fig. 7). As Ag-RONs foram encontradas nas regiões centromérica do par 4 e  
107 telomérica do par 5 (fig. 10).

108

### 109 **Discussão**

110 *Criptonanus* é um novo gênero descrito por Voss *et al.* (2005), sendo  
111 que *C. guahybae* está restrita ao estado do Rio Grande do Sul (Voss *et al.*,  
112 2005; D'Elía e Martinez, 2006; Rossi *et al.*, 2006). Em uma comunicação  
113 pessoal, Carvalho *et al.* (2002) mencionaram que os espécimes analisados em  
114 seu trabalho foram reclassificados como *C. guaybae*.

115 Os resultados de  $2n$  e  $NF$  deste estudo corroboram com os resultados  
116 descritos por Carvalho *et al.* (2002) em espécimes coletados no Rio Grande do  
117 Sul, por Pereira *et al.* (2008) em espécimes coletados em São Paulo  
118 identificados como *Gracilinanus microtarsus* e por Garcia *et al.* (2010) em  
119 espécimes coletados no Mato Grosso identificados genericamente como  
120 *Cryptonanus* spp. Os espécimes de *G. microtarsus* coletados na Bahia,  
121 apresentaram  $2n=14$  mas um  $NF=20$  (Pereira e Geise, 2007).

122 Nossos resultados são semelhantes aos descritos por Carvalho *et al.*  
123 (2002), mas observamos os cromossomo X acrocêntrico, Carvalho *et al.* (2002)  
124 o descrevem como submetacêntrico, Pereira e Geise (2007) classificaram os  
125 cromossomos 5, 6, X e Y como acrocêntricos, Pereira *et al.* (2008)

126 classificaram todos os cromossomos como submetacêntricos e o X como  
127 metacêntrico e Garcia *et al.* (2010) descrevem o par 4 como submetacêntrico e  
128 o X como subtlocêntrico. Essas diferenças morfológicas provavelmente estão  
129 relacionadas às divergências de medição nos braços cromossômicos.

130 O padrão de banda C para esta espécie é composto de bandas  
131 pericentromérica nos cromossomos autossomos e no X, sendo o Y totalmente  
132 heterocromático (Carvalho *et al.*, 2002) e nossos resultados concordam com  
133 essa descrição. As Ag-RONs dos espécimes de *C. guahybae* do nosso estudo,  
134 do estudo de Carvalho *et al.* (2002) e espécimes de *Criptonanus* spp. do  
135 estudo de Garcia *et al.* (2010) está localizada no par 6p.

136 Devido à semelhança morfológica cromossômica e de bandamento de  
137 *C. guahybae* e *G. microtarsus*, sugerimos novos e mais detalhados estudos  
138 para estas espécies.

139 Em sua revisão, Hayman (1990) listou 178 espécies de marsupiais com  
140 cariótipos conhecidos, que variam de  $2n=10$  a  $2n=32$ , sendo que os números  
141 diploides mais comuns são  $2n=14$  (com 16 espécies),  $2n=20$  (com 19 espécies)  
142 e  $2n=22$  (com 34 espécies). Para os cariótipos conhecidos dos 45 marsupiais  
143 americanos, os números diploides são  $2n=14$  (com 28 espécies),  $2n=18$  (com 6  
144 espécies) e  $2n=22$  (com 11 espécies) (Svartman, 2009).

145 Os espécimes de *D. albiventris* analisados mostraram os mesmos  
146 resultados encontrados por outros autores (Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1982;  
147 Casartelli *et al.*, 1986; Carvalho e Mattevi, 2000; Carvalho *et al.*, 2002), mesmo  
148 se tratando de locais de coleta muito distantes (mais de 900km). Essa  
149 semelhança é muito comum, pois os marsupiais geralmente possuem um  
150 cariótipo com características conservadoras (Svartamn, 2009). O único

151 resultado diferente é dos espécimes coletados em SP (Casartelli *et al.*, 1986)  
152 que exibiram um padrão de bandamento C no cromossomo Xp totalmente  
153 positivo com uma banda negativa próximo ao centrômero. Essa diferença pode  
154 ser devida a diferenças na análise ou preparo do material.

155 Outra espécie que possui características conservadas em seu cariótipo é  
156 *L. crassicaudata*. O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva  
157 descrito por Yonenaga-Yassuda *et al.* (1982) e Carvalho *et al.* (2002) está  
158 presente na região telomérica em um dos braços do cromossomo X e o outro  
159 braço totalmente heterocromático, mas observamos apenas o braço longo do X  
160 totalmente heterocromático. As Ag-RONs foram descritas em dois pares por  
161 Yonenaga-Yassuda *et al.* (1982) e Carvalho *et al.* (2002) as observaram nos  
162 pares 5q e 7p, enquanto que as observamos no par 4p e 5q.

163 Yonenaga-Yassuda *et al.* (1982) coletaram espécimes em São Paulo e  
164 Carvalho *et al.* (2002) coletaram em Guaíba/RS, distante 200km do local de  
165 coleta do nosso estudo. As diferenças na distribuição da heterocromatina no  
166 cromossomo X e da Ag-RONs no par 4p sugerem que as populações estão  
167 distantes o suficiente para não haver fluxo gênico entre elas.

168

### 169 **Agradecimentos**

170 Agradecemos ao programa REUNI da FURG pela concessão de bolsa ao  
171 primeiro autor e à ICMBio pela licença de coleta e captura concedida (processo  
172 nº 325-1).

173

### 174 **Referências Bibliográficas**

175 Andrades-Miranda, J., Oliveira, L.F.B., Andre, C., Lima-Rosa, V., Nunes, A.P.,

176 Zanchin, N.I.T., Mattevi, M.S., 2001. Chromosome studies of seven  
177 species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. Journal  
178 of Mammalogy 82, 4:1080–1091.

179 Carvalho, B.D., Mattevi, M.S., 2000 (T<sub>2</sub>AG<sub>3</sub>)<sub>n</sub> Telomeric sequence hybridization  
180 suggestive of centric fusion in karyotype marsupials evolution. Genetica  
181 108, 3:205-210.

182 Carvalho, B.A., Oliveira, L.F.B., Nunes, A.P., Mattevi, M.S., 2002. Karyotypes of  
183 nineteen marsupial species from Brazil. Journal of Mammalogy, 83,  
184 1:58–70.

185 Casartelli, C., Rogatto, S.R., Ferrari, I. 1986 Cytogenetic analysis of some  
186 Brazilian marsupials (Didelphidae: Marsupialia). Can. J. Genet. Cytol.  
187 28:21-29.

188 Costa, L.P., Patton, J.L., 2006. Diversidade e limites geográficos e sistemáticos  
189 de marsupiais brasileiros. In: Cáceres, N.C., Monteiro-Filho, E.L.A. (Eds).  
190 Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução. Editora  
191 Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, pp. 322-  
192 342.

193 D'elía, G., Martinez, J.A., 2006. Registros uruguayos de *Gracilinanus* Gardner y  
194 Creighton, 1989 y *Cryptonanus* Voss, Lunde y Jansa, 2005  
195 (Didelphimorphia, Didelphidae). Mastozoología Neotropical 13, 2:245-249.

196 Ford, C.E., Hamerton, J.L., 1956. A colchicine hypotonic citrat squash sequence  
197 for mammalian chromosomes. Stain Technology, 31:247-251.

198 Garcia, J.P., Oliveira, J.A., Corrêa, M.M.O., Pessôa, L.M., 2010. Morphometrics  
199 and cytogenetics of *Gracilinanus agilis* and *Cryptonanus* spp.  
200 (Didelphimorphia: Didelphidae) from central and northeastern Brazil.

201 Mastrozoología Neotropical 17, 1:53-60.

202 Hayman, D.L., 1990. Marsupial Cytogenetics. Aust. J. Zool, 37, 331-49.

203 Howell, W.M., Black, D.A., 1980. Controlled silver-staining of nucleolus  
204 organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method.  
205 Experientia, 36.

206 Levan, A., Fredga, K., Sandberg, AA., 1964. Nomenclature for centromeric  
207 position on chromossome. Hereditas, v.52 p. 201-220.

208 Pereira, L.G., Geise, L., 2007. Karyotype composition of some rodents and  
209 marsupials from Chapada Diamantina (Bahia, Brasil). Braz. J. Biol., 67,  
210 3: 509-518.

211 Pereira, N.P., Ventura, K., Silva Júnior, M.C.S., Melo E Silva, D., Yonenaga-  
212 Yassuda, Y., Pellegrino, K.C.M., 2008. Karyotype characterization and  
213 nucleolar organizer regions of marsupial species (Didelphidae) from  
214 areas of Cerrado and Atlantic Forest in Brazil. Genetics and Molecular  
215 Biology 31, 4:887-892.

216 Rossi, R.V., Bianconi, G.V., Pedro, W.A., 2006. Didelphimorphia. In: Reis, N.R.,  
217 Peracchi, A.L., Pedro, W.A., Lima, I.P. (Eds.). Mamíferos do Brasil,  
218 Londrina, pp. 27-66.

219 Sumner, A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric  
220 heterocromatin. Experimental Cell Research, 75.

221 Svartman, M., 2009. American marsupial chromosomes: why study them?  
222 Genetics and Molecular Biology 32, 4, 675-687.

223 Voss, R.S., Lunde, D.P., Jans, S.A., 2005. On the contents of *Gracilinanus*  
224 Gardner and Creighton, 1989, with the description of a previously  
225 unrecognized clade of small Didelphid marsupials. American Museum of

- 226 Natural History 3482, 1-34.
- 227 Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. (Eds.). Mammal Species of the World: a  
228 taxonomic and geographic reference. Ed. Johns Hopkins, Third edition.
- 229 Yonenaga-Yassuda, Y., Kasahara, S., Souza, M.J., L'abbate, M., 1982.  
230 Constitutive heterochromatin, G-bands and nucleolus-organizer regions  
231 in four species of Didelphidae (Marsupialia). *Genetica* 58:71–77.

Tabela 1: Dados cariotípicos de *C. guahybae*, *D. albiventris* e *L. crassicaudata*.

Espécie	2n	NF	Crom. Autossomos	Crom. Sexuais	Banda C	Ron	Localidade	Autor
<i>C. guahybae</i>	14	24	1 a 3 SM 4 M 5 e 6 ST	X A Y A	5p, 6p, Y total	6p	Rio Grande, RS	Este trabalho
	14	24	1 a 3 SM 4 M 5 e 6 SM ou ST	X SM Y A	Pericentromérica nos autossomos e X, Y total	6p	Tainhas, Mostardas, Charqueadas/RS	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
<i>Criptonanus</i> spp.	14	24	1 a 4 SM 5 e 6 ST	X ST		6p	MG	Garcia <i>et al.</i> , 2010.
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	14	24	1 a 6 SM	X M		6p	SP	Pereira <i>et al.</i> , 2008
<i>G. microtarsus</i>	14	20	1 a 3 SM 4 M 5 e 6 A	X A Y A			BA	Pereira e Geise, 2007
<i>D. albiventris</i>	22	20	1 a 10 A	X A Y A	Centrômero todos e X, Y total.	5q, 7q, 8q	Rio Grande, RS	Este trabalho
	22		1 a 10 A	X A Y A	Centromérica nos autossomos e X.		SP	Yonenaga-Yassuda, <i>et al.</i> , 1982
	22	20	1 a 10 A	X A Y A	Pericentromérica nos autossomos e X, Y total	4q, 5q	TO, GO	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
	22	20	1 a 10 A		Centrômero de todos, Xq totalmente positivo com uma banda negativa próxima ao telômero. Y total.	Telômero de 1 par e braço q de 2 pares	SP	Casartelli, <i>et al.</i> , 1985
	22	20	1 a 10 A	X A Y A			GO	Carvalho e Matevvi, 2000
<i>L. crassicaudata</i>	22	20	1 a 10 A	X M Y A	Xq total Y total	4p 7q	Rio Grande, RS	Este trabalho
	22	20	1 a 10 A	X M Y A	Xq total e braço p com uma banda positiva		SP	Yonenaga-Yassuda, <i>et al.</i> ,

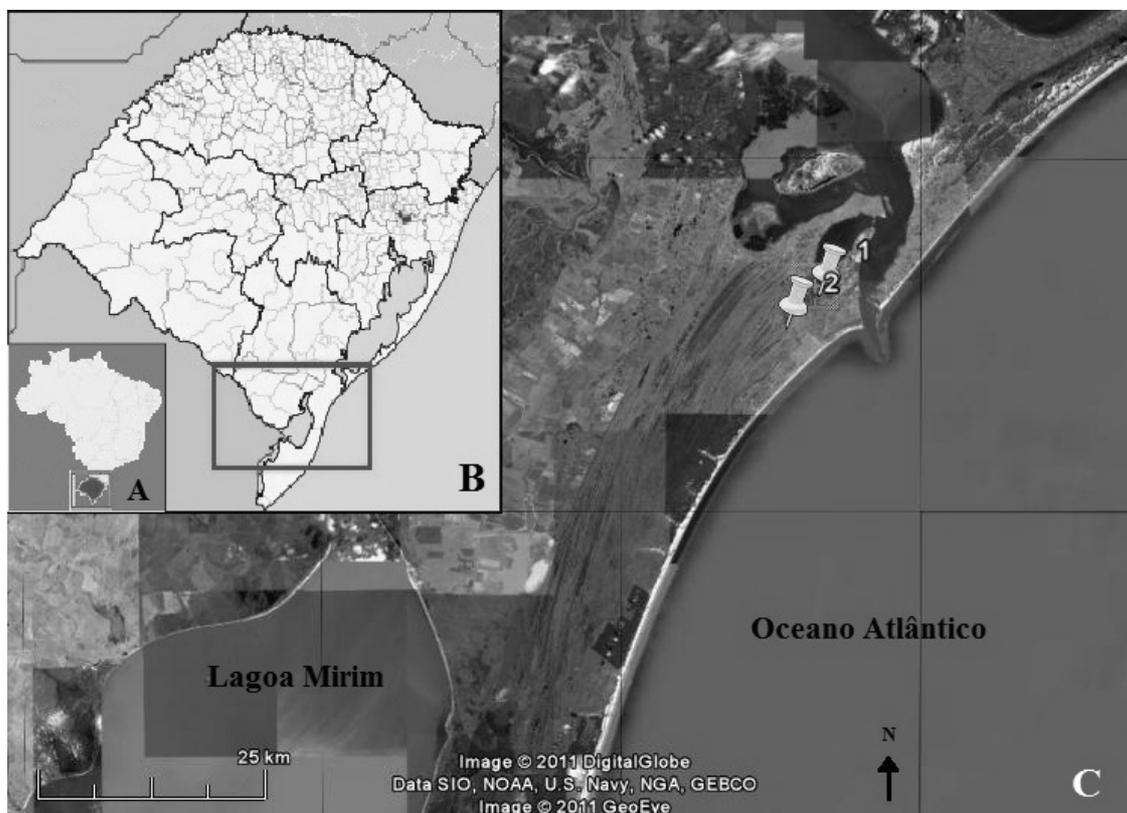
					distal e uma banda proximal fraca, Y total			1982
22	20	1 a 10 A	X M Y A	Pericentromérica e telomérica do X, Y total	5p, 7q	Guaíba, RS	Carvalho <i>et al.</i> , 2002	

234 Tabela 2: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo número de  
235 tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.  
236  
237

<b>ID</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Número tombo</b>	<b>Nome do Local</b>
MP063	<i>C. guahybae</i>	M	-	Mata Palustre
MP143	<i>C. guahybae</i>	M	-	Mata Palustre
MP019	<i>D. albiventris</i>	M	-	Mata Arenosa Ciliar
MP020	<i>D. albiventris</i>	M	MCNU 1730	Mata Arenosa Ciliar
MP036	<i>D. albiventris</i>	F	-	Mata Arenosa Ciliar
MP012	<i>L. crassicaudata</i>	M	MCNU 1708	Mata Arenosa Ciliar
MP013	<i>L. crassicaudata</i>	M	MCNU 1709	Mata Arenosa Ciliar
MP018	<i>L. crassicaudata</i>	F	MCNU 1710	Mata Arenosa Ciliar

238            Figura 1: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América do Sul. B)  
239            Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo: 1) Fragmento de  
240            mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar.

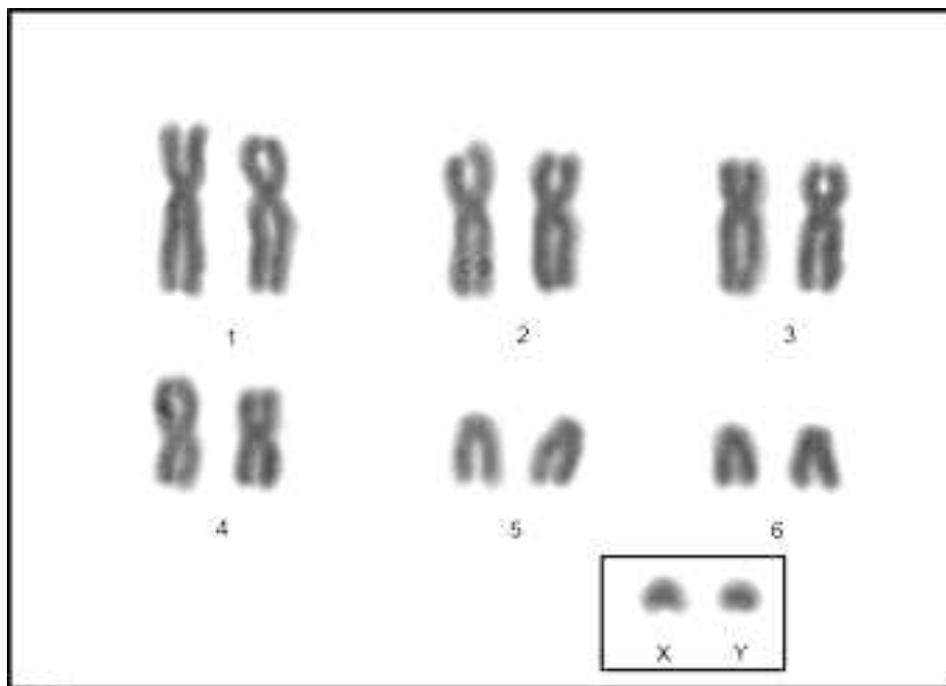
241



243            Figura 2: Cariótipo em Giemsa de *C. guahybae*. O quadrado indica os  
244 cromossomos sexuais dos machos.

245

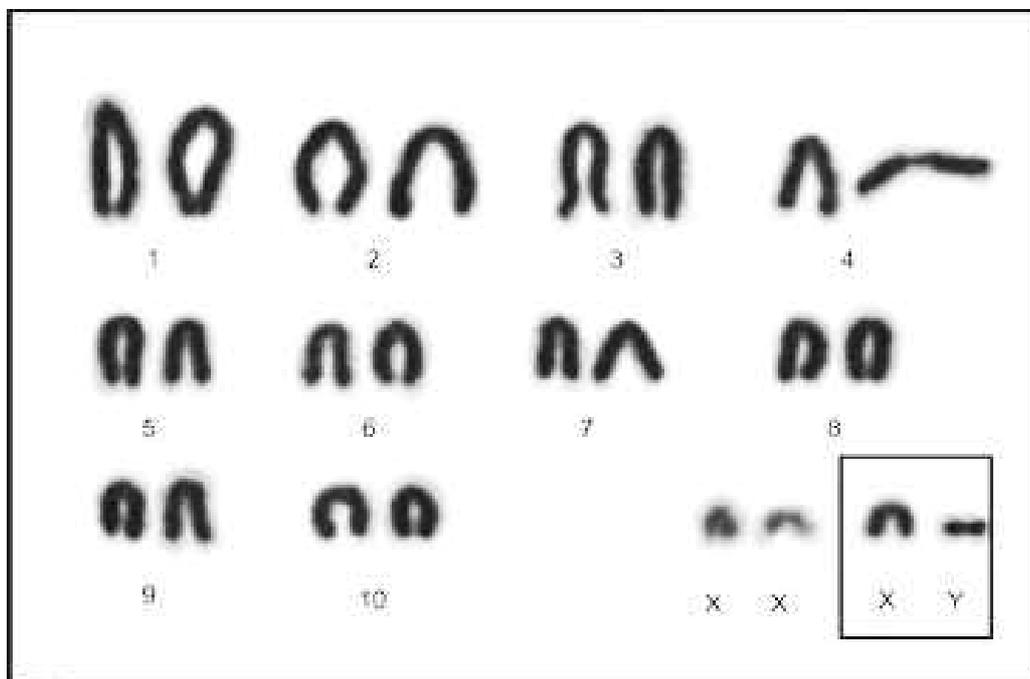
246



247                    Figura 3: Cariótipo em Giemsa de *D. albiventris*. O quadrado indica os  
248 cromossomos sexuais dos machos.

249

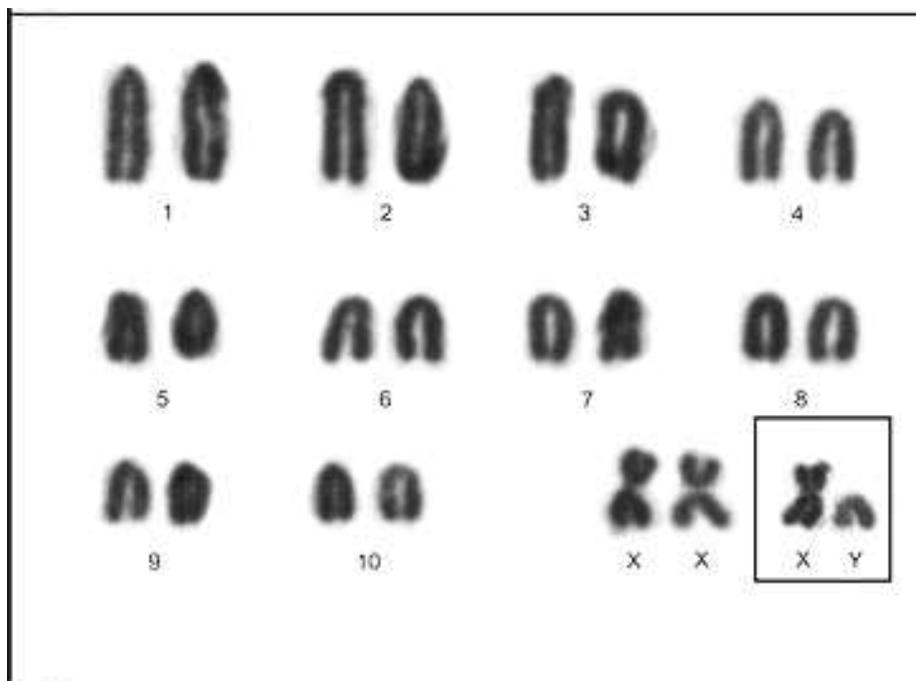
250



251            Figura 4: Cariótipo em Giemsa de *L. crassicaudata*. O quadrado indica os  
252 cromossomos sexuais dos machos.

253

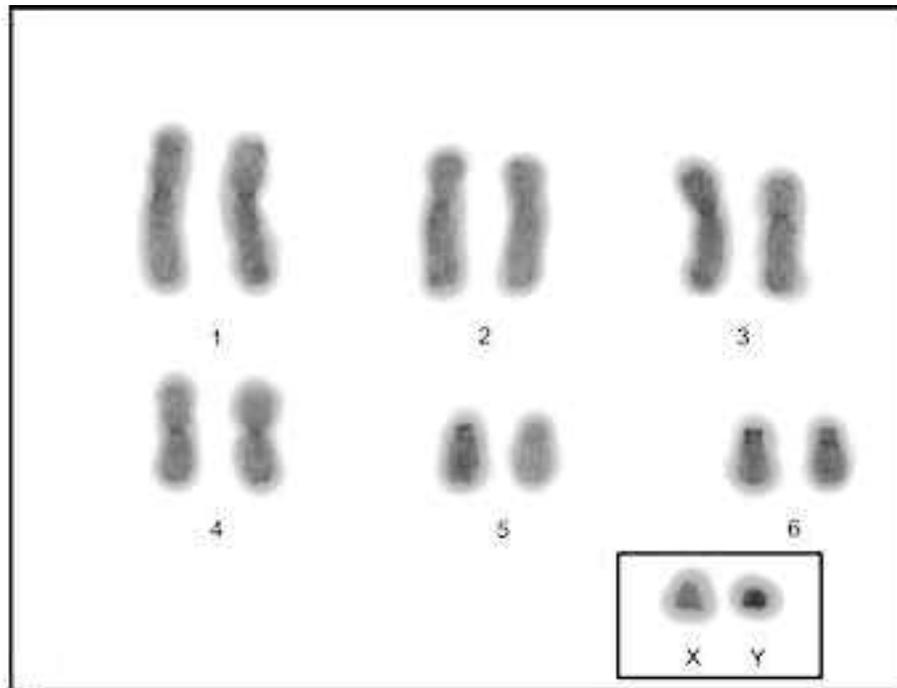
254



255            Figura 5: Cariótipo com banda C de *C. guahybae*. O quadrado indica os  
256 cromossomos sexuais dos machos.

257

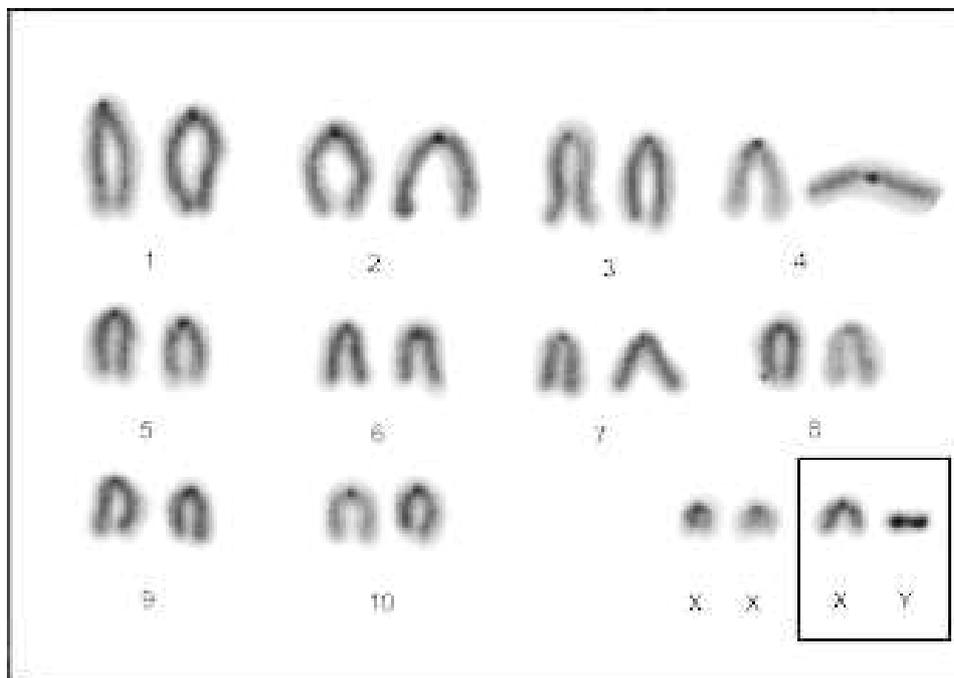
258



259            Figura 6: Cariótipo com banda C de *D. albiventris*. O quadrado indica os  
260 cromossomos sexuais dos machos.

261

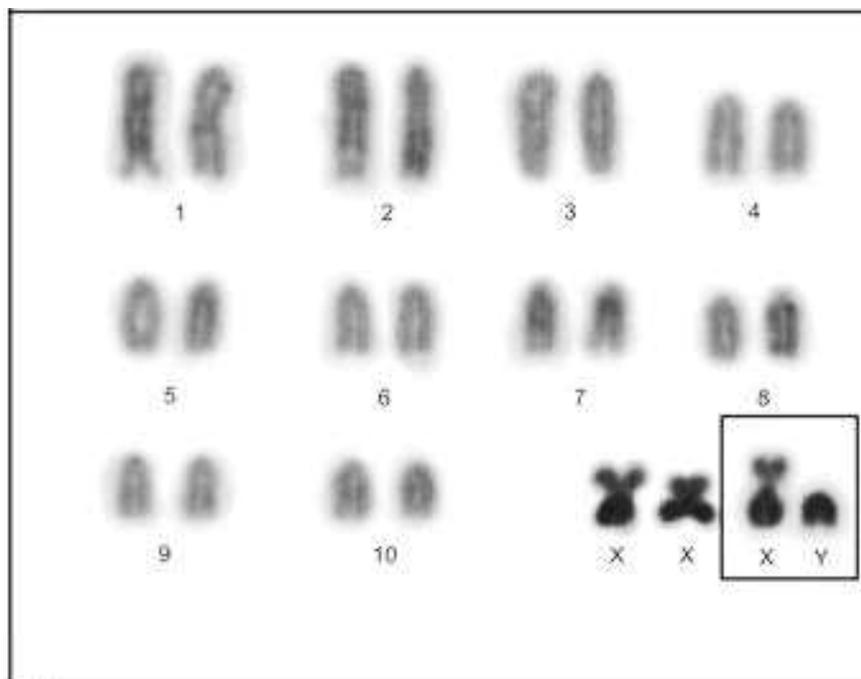
262



263            Figura 7: Cariótipo com banda C de *L. crassicaudata*. O quadrado indica os  
264 cromossomos sexuais dos machos.

265

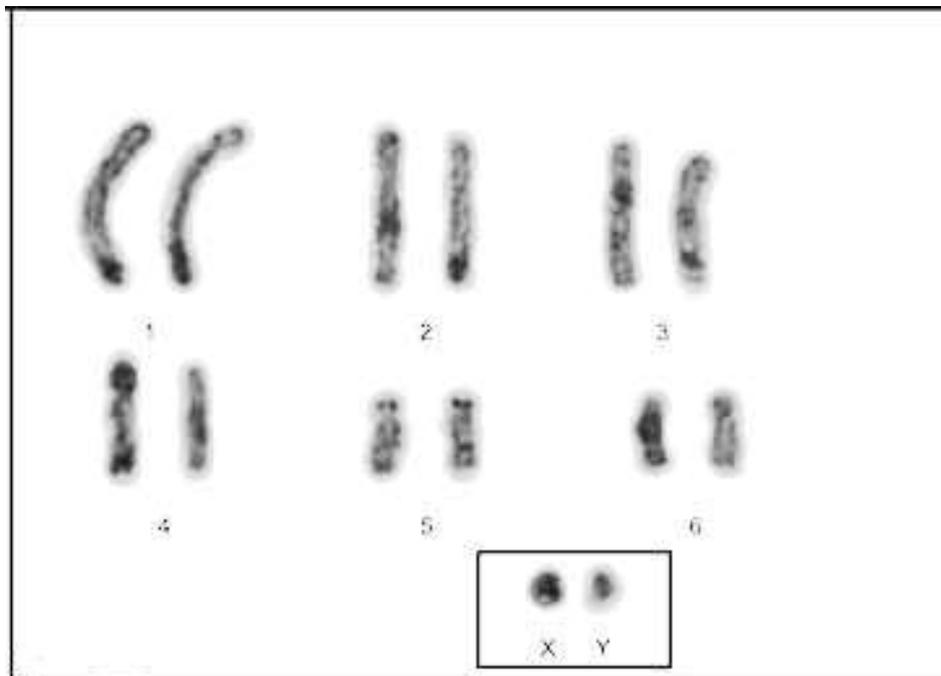
266



267            Figura 8: Cariótipo com Ag-RONs de *C. guahybae*. O quadrado indica os  
268 cromossomos sexuais dos machos.

269

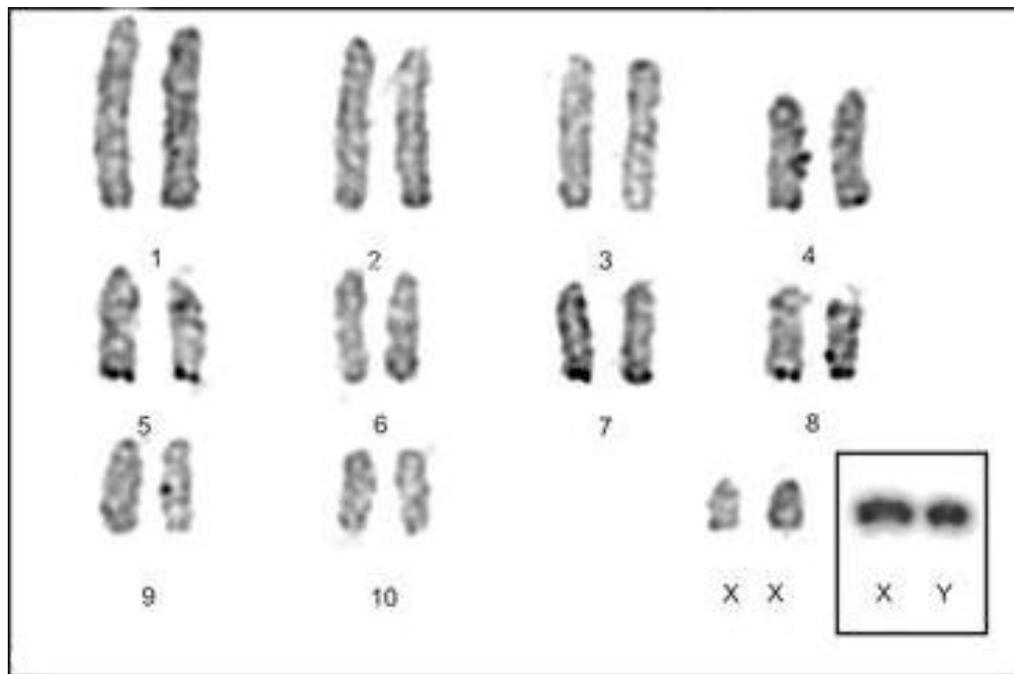
270



271                    Figura 9: Cariótipo com Ag-RONs de *D. albiventris*. O quadrado indica os  
272 cromossomos sexuais dos machos.

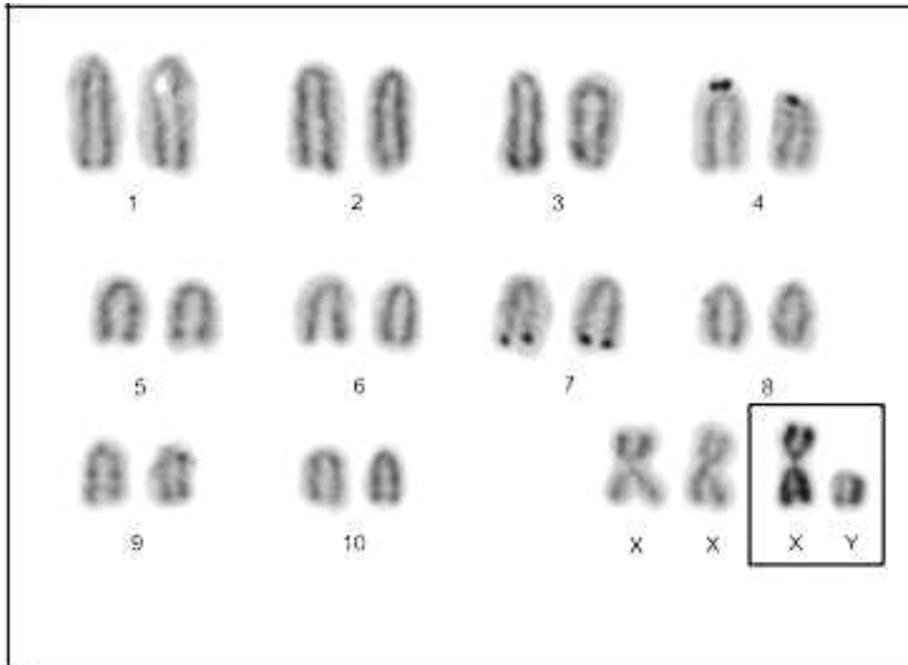
273

274



275            Figura 10: Cariótipo com Ag-RONs de *L. crassicaudata*. O quadrado indica os  
276 cromossomos sexuais dos machos.

277



#### **4. Manuscrito 2**

**Citogenética de cinco roedores (Rodentia) da Região Sul da Planície  
Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil**

1           **Citogenética de cinco roedores (Rodentia) da Região Sul da**  
2 **Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil**

3  
4           Thaís Morales Vergara Antunes<sup>a</sup>, Guassenir Gonçalves Born<sup>b</sup>, Fernando  
5 Marques Quintela<sup>b</sup>, Maurício Beux dos Santos<sup>b</sup>, Adriana Gava<sup>b</sup>

6  
7           <sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos  
8 Continentais, Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália km 8, Caixa Postal  
9 474, CEP 96201-900, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Telefone: (55) 53-  
10 3233-6848. E-mail: herpetaty@gmail.com.

11           <sup>b</sup>Laboratório de Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade  
12 Federal do Rio Grande, Avenida Itália km 8, Rio Grande, Rio Grande do Sul,  
13 Brasil.

14  
15           **Resumo**

16           O cariótipo de 25 espécimes de roedores (Rodentia) é apresentado.  
17 Foram coletados exemplares de *Oligoryzomys flavescens*, *O. nigripes*,  
18 *Oxymycterus nasutus*, *Scapteromys tumidus* e *Rattus rattus* em um fragmento  
19 de mata palustre e um fragmento de mata arenosa ciliar na Planície Costeira do  
20 Rio Grande do Sul. A banda C evidenciou bandas centroméricas nos  
21 cromossomos autossômicos de *O. flavescens* e o Xp totalmente  
22 heterocromático, em *O. nigripes* os cromossomos Xp e Yq totalmente  
23 heterocromáticos, em *O. nasutus* no centrômero de todos os autossomos bem  
24 como no X e o Y totalmente heterocromático, em *S. tumidus* foi  
25 pericentromérica no X e o Y totalmente heterocromático e em *R. rattus* no

26 centrômero de todos os pares cromossômicos, inclusive no X e o Y totalmente  
27 heterocromático. As Ag-RONs de *O. nigripes* apresentaram como número  
28 modal 6, em *O. nasutus* estiveram presentes em três pares, em *S. tumidus* no  
29 centrômero dos pares 7 e 8 e em *R. rattus* nos pares 14p e 18p.

30 Palavras-chave: Pequenos mamíferos, Banda C, Ag-RONs, Cariótipo.

31

## 32 **Introdução**

33 Os mamíferos atualmente compreendem 5676 espécies (Wilson e  
34 Reeder, 2005) sendo a ordem Rodentia a mais diversificada: com 2405  
35 espécies representa quase 42% da biodiversidade de todos os mamíferos do  
36 mundo (Musser e Carleton, 2005). Esta ordem é composta por 481 gêneros  
37 (Wilson e Reeder, 2005), 74 gêneros ocorrem no Brasil, sendo que 30 deles  
38 possuem representantes no Rio Grande do Sul (Bonvicino, *et al.*, 2008). Estes  
39 roedores ocupam todos os lugares do mundo, exceto na Antártida, Nova  
40 Zelândia, e em algumas ilhas oceânicas e são incrivelmente diversos (Myers,  
41 2000).

42 Seu cariótipo é sinalizado por muitas variações cariotípicas, como por  
43 exemplo, a espécie *Oligoryzomys nigripes* que possui até 46 cariótipos  
44 variantes (citótipos) nos indivíduos originários do Brasil e Uruguai (Paresque *et*  
45 *al.*, 2007),  $2n=62$  e inversões pericêntricas envolvendo os pares 2, 3, 4, 8, X e  
46 Y, o que faz o NF variar de 78 a 82 (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Bonvicino  
47 *et al.*, 2001; Lima *et al.* 2003; Paresque *et al.*, 2007; Pereira e Geise, 2007).

48 Os espécimes de *O. flavescens* tem um número diploide que varia de  
49 64-67 devido à presença de 0-3 cromossomos B (Sbalqueiro *et al.*, 1991;  
50 Aniskin e Volobouev, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2001).

51 Alguns roedores como *Oxymycterus nasutus* não possuem grandes  
52 variações em seu cariótipo sendo composto por  $2n=54$  (Vitulo *et al.*, 1986;  
53 Svartman e Almeida, 1993). *Scapteromys tumidus* apresenta  $2n=36$ , 34 e 24  
54 devido à translocações Robertsonianas (Freitas *et al.*, 1984; Brum-Zorrilla *et al.*,  
55 1986). *Rattus rattus* é uma espécie exótica, sendo nativa da península indiana  
56 (Oliveira e Bonvicino, 2006) e também possui características peculiares sendo  
57 dividida em três categorias de acordo com seu número cromossômico:  
58 oceânica ( $2n=38$ ), ceilânica ( $2n=40$ ) e asiática ( $2n=42$ ) (Yosida, 1977; Bianchi  
59 *et al.*, 1969; Davis e Baker, 1971). São apresentados na tabela 1 os resultados  
60 citogenéticos descritos pelos outros autores para estas cinco espécies.

61 Devido a grande variação de resultados cromossômicos, estudos  
62 cariológicos têm sido usados para clarear a taxonomia de algumas espécies,  
63 buscando esclarecimentos sobre diferenciação taxonômica e fornecendo  
64 ferramentas importantes para registrar, descrever a diversidade biológica e  
65 entender a diversificação de espécies com grande similaridade nos atributos  
66 morfológicos (Andrades-Miranda *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2003).

67 Nesse sentido, o presente estudo buscou descrever citogeneticamente  
68 cinco espécies de roedores presentes na região da planície costeira do Rio  
69 Grande do Sul, a fim de entender melhor a dinâmica cromossômica dentro  
70 deste grupo.

71

## 72 **Materiais e Métodos**

73 O estudo foi realizado em um fragmento de mata palustre ( $32^{\circ} 07' S$ ;  $52^{\circ}$   
74  $09' W$ ) e um fragmento de mata arenosa ciliar ( $32^{\circ} 09' S$ ;  $52^{\circ} 11' W$ ) separados  
75 por uma distância aproximada de 5km no município de Rio Grande/RS (fig.1).

76 A amostra incluiu 5 táxons distintos: *O. flavescens*, *O. nigripes*, *O. nasutus*, *S.*  
77 *tumidus* e *R. rattus*. Os espécimes foram depositados na coleção de mamíferos  
78 do Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU) e  
79 os números de tombo estão listados na tabela 2.

80 Os espécimes foram preparados para obtenção de cromossomos  
81 mitóticos a partir da medula óssea, segundo a técnica de Ford e Hammerton  
82 (1956). As técnicas de banda C e Ag-RONs (Região Organizadora de Nucléolo)  
83 foram preparadas conforme Sumner (1972) e Howell e Black (1980)  
84 respectivamente. Para o bandamento C utilizou-se o bário a 40°C e tempos de  
85 1:40s para *O. flavescens* e *S. tumidus*, 1:25s para *R. rattus* e 1:20s para *O.*  
86 *nasutus*. Para *O. nigripes* a lâmina ficou previamente mergulhada em HCL 1N a  
87 25°C por 10 minutos e utilizou-se o bário a 40°C por 3:00s.

88 Foram considerados como de dois braços os cromossomos  
89 metacêntricos, submetacêntricos e subtlocêntricos e de um braço os  
90 cromossomos acrocêntricos, se respeitando as medidas propostas por Levan  
91 *et al.* (1964) para apresentar o número diploide e o número fundamental (NF =  
92 número de braços autossômicos) de cada espécie. Para cada técnica foi  
93 observada no mínimo 10 metáfases de cada espécime e os cariótipos foram  
94 montados manualmente com auxílio de software a partir de imagens digitais.

95

## 96 **Resultados**

97 Os 3 machos e 1 fêmea de *O. flavescens* mostraram um 2n que varia de  
98 64 (dois machos), 65 (um macho) e 67 (uma fêmea) e um NF que varia de 66  
99 (dois machos), 67 (um macho) e 69 (uma fêmea) devido à presença respectiva  
100 de 0, 1 e 3 cromossomos B. Os pares 1 e 2 são metacêntricos pequenos e os

101 pares 3 a 31 são acrocêntricos que variam de tamanho grande a pequeno. O  
102 cromossomo X é polimórfico, sendo submetacêntrico ou metacêntrico grande e  
103 o Y um metacêntrico médio (fig. 2).

104 A distribuição da heterocromatina constitutiva se deu na região  
105 centromérica em todos os pares, um cromossomo X com o braço curto  
106 totalmente heterocromático e seu homólogo totalmente heterocromático (fig. 8).  
107 Os cromossomos B se apresentaram totalmente heterocromáticos mas as  
108 bandas são menos intensas quando comparadas com as bandas dos outros  
109 cromossomos.

110 Para *O. nigripes* foram coletados 5 machos e 4 fêmeas que  
111 apresentaram um cariótipo composto de  $2n=62$  e NF que varia de 81 a 82  
112 devido a um polimorfismo que ocorre nos pares 2 e 3. As fêmeas apresentaram  
113 polimorfismos no par 2 do tipo SM/ST (submeta/subtelo) e SM/A  
114 (submeta/acro). Uma fêmea apresentou polimorfismo no par 3 do tipo M/A  
115 (meta/acro) e uma fêmea não apresentou polimorfismos, entretanto o par 3  
116 (M/M) é muito reduzido, sendo do tamanho do braço longo do par 2, o que não  
117 acontece nos cromossomos das outras fêmeas onde o par 4 ainda é maior do  
118 que o braço longo do cromossomo do par 2. Para os machos o polimorfismo no  
119 par 3 foi do tipo M/A (em um espécime), M/ST (um espécime), SM/M (um  
120 espécime) e dois machos não apresentaram polimorfismos (fig. 3).

121 Os pares 1 e 5 são subtlocêntricos grande e médio respectivamente, os  
122 pares 2 a 4 e 6 a 11 são metacêntricos médios, sendo que o pares 2 e 3 podem  
123 ser acrocêntricos ou subtlocêntricos e os pares 12 a 30 são acrocêntricos que  
124 variam gradativamente de tamanho grande a pequeno. Os cromossomos  
125 sexuais são polimórficos e compostos de um X metacêntrico ou

126 submetacêntrico grande e o Y um metacêntrico médio, o maior depois do  
127 terceiro par ou o menor acrocêntrico (fig. 4).

128         Encontramos traços de heterocromatina constitutiva em alguns pares de  
129 cromossomos autossomos, no braço curto do cromossomo X e no braço longo  
130 do Y (fig. 9). As Ag-RONs estão presentes na região telomérica dos  
131 cromossomos acrocêntricos de tamanho médio, sendo 6 o número modal (fig.  
132 13).

133         Foram coletados 3 machos *O. nasutus* que apresentaram um cariótipo  
134 composto de  $2n=54$  e  $NF=64$ , sendo os pares 1 e 2 subtelocêntricos grandes,  
135 pares 3 a 6 metacêntricos que variam gradualmente de tamanho médio a  
136 pequeno e os pares 7 a 26 acrocêntricos que variam gradualmente de tamanho  
137 grande a pequeno. Os cromossomos sexuais são compostos por um X  
138 acrocêntrico de tamanho médio entre os pares 15 e 16 e o Y é o menor  
139 acrocêntrico (fig. 5).

140         A banda C revelou heterocromatina constitutiva centromérica em todos  
141 os cromossomos, inclusive nos sexuais (fig. 10) e as Ag-RONs estão presentes  
142 em três pares cromossômicos (fig. 14).

143         Para *S. tumidus* foram coletados 5 machos e 1 fêmea com um cariótipo  
144 composto por  $2n=24$  e  $NF=40$ . Os pares 1, 4 e 5 são submetacêntricos  
145 grandes, os pares 2, 3, 6, 7, 8 e 9 são metacêntricos que variam gradualmente  
146 de tamanho grande a pequeno e os pares 10 e 11 são acrocêntricos pequenos.  
147 Os cromossomos sexuais são compostos por um X que é o maior acrocêntrico  
148 enquanto que e o Y é o menor acrocêntrico (fig. 5).

149         A distribuição da heterocromatina constitutiva se deu principalmente na  
150 região centromérica do cromossomo X e o Y totalmente heterocromático.

151 Também observamos traços de heterocromatina no centrômero de alguns  
152 pares autossômicos que não puderam ser identificados com precisão (fig. 11).  
153 As Ag-RONs foram observadas no centrômero dos pares 7 e 8 (fig. 15).

154 Para *R. rattus* foi coletado 1 macho com um cariótipo composto por  
155  $2n=38$  e um  $NF=58$  onde os pares 1 e 9 são subtelocêntricos de tamanho  
156 grande e médio respectivamente, pares 2, 3, 5, 6, 8, 10 e 13 são acrocêntricos  
157 que variam gradativamente de tamanho grande a pequeno, sendo que os pares  
158 4/7 e 11/12 são metacêntricos de tamanho grande e médio, respectivamente e  
159 os pares 14 a 20 são metacêntricos pequenos que variam gradativamente de  
160 tamanho. O cromossomo X é o segundo maior acrocêntrico e o Y é o menor  
161 acrocêntrico (fig. 7).

162 Descrevemos pela primeira vez o bandamento C para esta espécie, com  
163 bandas centroméricas em todos os pares de autossomos, inclusive no X, sendo  
164 o Y totalmente heterocromático (fig. 12). As Ag-RONs também são resultados  
165 inéditos, e foram observadas nos braços curtos dos pares 14 e 18 (fig. 16).

166

## 167 **Discussão**

168 Os cromossomos B observados em *O. flavescens* já foram descritos por  
169 outros autores (Aniskin e Volobouev, 1999; Andrades-Miranda *et al.*, 2001),  
170 classificados como pequenos submetacêntricos a metacêntricos por Andrades-  
171 Miranda *et al.* (2001) em espécimes oriundos de Santa Catarina (SC) e Rio  
172 Grande do Sul (RS), enquanto que os espécimes analisados no presente  
173 estudo se revelaram pequenos acrocêntricos em formato puntiforme (fig. 2). O  
174 cromossomo X de *O. flavescens* é polimórfico, sendo submetacêntrico ou  
175 metacêntrico grande e o Y um metacêntrico médio, resultado que também foi

176 descrito por Aniskin e Volobouev (1999) em espécimes coletados no Peru e  
177 Bolívia, mas Sbalqueiro *et al.*, (1991) e Andrades-Miranda *et al.* (2001) relatam  
178 que o Y é polimórfico em espécimes de São Paulo (SP), Paraná (PR), SC e  
179 RS.

180 O relato de distribuição da heterocromatina constitutiva de coloração  
181 menos intensa nos cromossomos B analisados no presente já foi descrito por  
182 Sbalqueiro *et al.* (1991). Uma das principais características dos cromossomos  
183 B é ser totalmente heterocromático (Aniskin e Volobouev, 1999; Vujošević e  
184 Blagojević, 2004). As diferenças morfológicas nos cromossomos B e sexuais  
185 mostram que são necessários mais estudos para que os motivos possam ser  
186 esclarecidos.

187 Sem dúvida, o roedor mais polimórfico é *O. nigripes*, com 46 cariótipos  
188 variantes (citótipos) descritos até o momento que ocorrem devido a inversões  
189 pericêntricas envolvendo os pares 2, 3, 4, 8, X e Y, o que faz o NF variar de 78  
190 a 82 (Paresque *et al.*, 2007).

191 Os resultados cariológicos que obtivemos para esta espécie, corroboram  
192 com os resultados descritos previamente (Andrades-Miranda *et al.*, 2001;  
193 Bonvicino *et al.*, 2001; Paresque *et al.*, 2007; Pereira e Geise, 2007).  
194 Espécimes coletados em Goiânia e Tocantins apresentaram um cariótipo  
195 composto por  $2n=70$  e  $NF=74$  e  $76$  (Lima *et al.*, 2003).

196 O padrão de bandamento C encontrado por nós em *O. nigripes* é o  
197 mesmo em espécimes coletados em Goiás (GO), Bahia (BA), Espírito Santo  
198 (ES), PR, SC e RS (Andrades-Miranda *et al.*, 2001) enquanto que espécimes de  
199 GO e Tocantins (TO) com  $2n=70$  apresentaram heterocromatina constitutiva  
200 centromérica em todos os pares, exceto no par 34 (Lima *et al.*, 2003).

201 As Ag-RONs estão presentes na região telomérica dos cromossomos  
202 acrocêntricos de tamanho médio, sendo 6 o número modal, sendo o mesmo  
203 resultado encontrado por Lima *et al.* (2003) com espécimes com  $2n=70$  e  
204 distantes mais de 1400km. Estes resultados semelhantes, mesmo com tantas  
205 variações cromossômicas, já eram esperados pelo fato de esta espécie ter  
206 ampla distribuição no território brasileiro (Oliveira e Bonvicino, 2006),  
207 permitindo fluxo gênico entre as populações.

208 *O. nasutus* é uma das espécies com menos estudos cariotípicos. O  
209  $2n=54$  e  $NF=64$  que encontramos também foi relatado por Vitullo *et al.* (1986) e  
210 Svartman e Almeida (1993). Os cromossomos sexuais são acrocêntricos mas  
211 Svartman e Almeida (1993) os relatam como submetacêntricos. A banda C  
212 também apresentou alguns resultados diferentes, sendo que encontramos  
213 heterocromatina constitutiva centromérica em todos os cromossomos, inclusive  
214 nos sexuais e Svartman e Almeida (1993) descreveram o braço curto do X e o  
215 braço longo do Y totalmente heterocromáticos. Os resultados das Ag-RONs  
216 também diferem, visto que encontramos em três pares cromossômicos e  
217 Svartman e Almeida (1993) encontraram 8 como número modal.

218 Os indivíduos coletados por Svartman e Almeida (1993) são oriundos do  
219 Distrito Federal, entretanto, a espécie é distribuída desde o Uruguai a áreas  
220 adjacentes ao sudeste do Brasil (RS até SP) (Oliveira e Bonvicino, 2006),  
221 podendo as diferenças citogenéticas encontradas ser devidas a algum erro de  
222 classificação da espécie. Sugerimos que mais estudos sejam feitos, inclusive  
223 de taxonomia, na tentativa de esclarecer essas divergências.

224 *S. tumidus* é uma espécie politípica que abrange três taxa cariotípicos no  
225 Brasil:  $2n=36$ , 34 e 24 (Freitas *et al.*, 1984), sendo que a nossa amostra

226 pertence ao taxa  $2n=24$ . Os espécimes oriundos do Uruguai também  
227 pertencem a este taxa (Brum-Zorrilla *et al.*, 1986).

228 Os resultados que obtivemos de bandamento C é semelhante ao  
229 descrito previamente por outros autores, onde alguns pares autossômicos  
230 parecem ter heterocromatina constitutiva no centrômero, sendo evidente  
231 apenas no centrômero do cromossomo X e o Y totalmente heterocromático  
232 (Freitas *et al.*, 1984; Brum-Zorrilla *et al.*, 1986). Essas semelhanças podem ser  
233 devido à possibilidade dos espécimes serem da mesma população (distantes  
234 60km até 150km).

235 As Ag-RONs divergiram dos resultados descritos por outros autores, que  
236 encontraram de 3 a 4 pares marcados (Freitas *et al.*, 1984; Brum-Zorrilla *et al.*,  
237 1986) enquanto que observamos no centrômero dos pares 7 e 8. Esta  
238 diferença pode estar relacionada com a inativação da RON na intérfase  
239 anterior, o que não permite que seja marcada através desta técnica.

240 Os resultados descritos para *R. rattus* por Bianchi *et al.* (1969) em  
241 espécimes coletados no RS e Davis e Baker (1971) com espécimes coletados  
242 na América do Norte são idênticos aos resultados que encontramos,  $2n=38$  e  
243  $NF=58$ . As variações cromossômicas apresentadas aqui estão de acordo com  
244 os dados adquiridos por Yosida *et al.* (1974) que descreveram fusões cêntricas  
245 entre os pares 4/7 e 11/12 formando os dois pares metacêntricos grandes.

246 Descrevemos pela primeira vez os resultados de bandamento C para  
247 esta espécie, com bandas centroméricas em todos os pares de autossomos,  
248 inclusive no X, sendo o Y totalmente heterocromático. As Ag-RONs também  
249 são resultados inéditos, e foram observadas nos braços curtos dos pares 14 e  
250 18.

251

252

### **Agradecimentos**

253

254

255

Agradecemos ao programa REUNI da FURG pela concessão de bolsa ao primeiro autor e à ICMBio pela licença de coleta e captura concedida (processo nº 325-1).

256

257

### **Referências Bibliográficas**

258

259

260

261

Andrades-Miranda, J., Oliveira, L.F.B., Andre, C., Lima-Rosa, V., Nunes, A.P., Zanchin, N.I.T., Mattevi, M.S., 2001. Chromosome studies of seven species of *Oligoryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) from Brazil. *Journal of Mammalogy* 82, 4:1080–1091.

262

263

264

Aniskin, V.M., Volobouev, V.T., 1999. Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Chromosome Research* 7: 557-562.

265

266

267

Bianchi, N.O., Paulete-Farell, J., Vidal Rioja, L.A., 1969. Complement with 38 chromosomes in two south american populations of *Rattus rattus*. *Experientia* 25, 10:1111-1112.

268

269

270

Bonvicino, C. R., Oliveira, J. A., D'andrea, P. S., 2008. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS.

271

272

273

Bonvicino, C.R., D'andrea, P.S., Borodin, P.M., 2001. Pericentric inversion in natural populations of *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia: Sigmodontinae). *Genome* 44, 5: 791-796.

274

275

Brum-Zorrilla, N., Oliver, G., Defronza, T.G., Wainberg, R., 1986. Karyological studies of south-american rodents (Rodentia, Cricetidae). 1. Comparative

276 chromosomic analysis in *Scapteromys* taxa. *Cariologia* 39, 2:131-142.

277 Davis, B.L., Baker, R.J., 1971. Chromosome morphology of north American  
278 *Rattus rattus* (L.) (Muridae). *Cytologia* 36, 417-420.

279 Ford, C.E., Hamerton, J.L., 1956. A colchicine hypotonic citrat squash sequence  
280 for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31:247-251.

281 Freitas, T.R.O., Mattevi, M.S., Oliveira, L.F.B., 1984. Unusual C-band patterns  
282 in three karyotypically rearranged forms of *Scapteromys* (Rodentia,  
283 Cricetidae) from Brazil. *Citogenet. Cell Genet*, 38:39-44.

284 Howell, W.M., Black, D.A., 1980. Controlled silver-staining of nucleolus  
285 organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method.  
286 *Experientia*, 36.

287 Lima, J.F.S., Bonvicino, C.R., Kasahara, S., 2003. A new karyotype of  
288 *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. *Hereditas*  
289 139: 1–6.

290 Levan, A., Fredga, K., Sandberg, AA., 1954. Nomenclature for centromeric  
291 position on chromossome. *Hereditas*, v.52 p. 201-220.

292 Musser, G.G., Carleton, M.D., 2005. Superfamily muroidea. In: Wilson, D.E.,  
293 Reeder, D.M., 2005. (Eds.). *Mammal Species of the World: a taxonomic  
294 and geographic reference*. Ed. Johns Hopkins, Third edition, pp. 894-1531.

295 Myers, P. 2000. "Rodentia" (On-line), *Animal Diversity Web*. Acessado em 16 de  
296 maio de 2011.

297 [http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rodentia.](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rodentia.html)  
298 [html](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rodentia.html)

299 Oliveira, J.A.; Bonvicino, C.R., 2006. Rodentia. In: Reis, N.R., Peracchi, A.L.,  
300 Pedro, W.A., Lima, I.P. (Eds.). *Mamíferos do Brasil*, Londrina, pp. 27-66.

301 Paresque, R., Silva, M.J.J., Yonenaga-Yassuda, Y., Fagundes, V., 2007.  
302 Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818  
303 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 30,  
304 1:43-53.

305 Pereira, L.G., Geise, L., 2007. Karyotype composition of some rodents and  
306 marsupials from Chapada Diamantina (Bahia, Brasil). *Braz. J. Biol.*, 67, 3:  
307 509-518.

308 Sbalqueiro, I.J, Mattevi, M.S., Oliveira, L.F.B, Solano, M.J.V., 1991. B  
309 Chromosome system in populations of *Oryzomys flavescens* (Rodentia,  
310 Cricetidae) from southern Brazil. *Acta Theriologica* 36 (1-2): 193-199.

311 Sumner, A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric  
312 heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75.

313 Svartman, M., Almeida, E.J.C., 1993. The karyotype of *Oxymycterus nasutus*  
314 (Cricetidae, Rodentia) from central Brazil. *Experientia* 49, 718-720.

315 Vitullo, A.D., Merani, M.S., Reig, O.A., Kajon, A.E., Scaglia, O., Espinosa, M.B.,  
316 Perez-Zapata, A., 1986. Cytogenetics of south american akodont rodents  
317 (Cricetidae): New karyotypes and chromosomal banding patterns of  
318 Argentinian and Uruguayan forms. *Journal of Mammalogy* 1, 67:69-80.

319 Vujošević, M., Blagojević, J., 2004. B chromosomes in populations of mammals.  
320 *Cytogenet Genome Res* 106:247–256.

321 Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. (Eds.). *Mammal Species of the World: a*  
322 *taxonomic and geographic reference*. Ed. Johns Hopkins, Third edition.

323 Yosida, T.H, Moriwaki, K., Sagai, T., 1974. A female black rat (*Rattus rattus*) with  
324 a single X-chromosome. *Japan. J. Genetics* 49, 1:49-52.

325 Yosida, T.H., 1977. Frequencies of chromosome polymorphism in pairs no. 1, 9,

326 and 13 in three geographical variants of black rats, *Rattus rattus*.

327 Chromosoma 60, 391-398.

Tabela 3: Dados cariotípicos de *O. flavescens*, *O. nigripes*, *O. nasutus*, *S. tumidus* e *R. Rattus*.

Espécie	2n	NF	Crom. Autossomos	Crom. Sexuais	Banda C	Ron	Localidade	Varição	Autor
<i>O. flavescens</i>	64-67	66-69	1 e 2 M	X SM ou M	Centrômero todos, Xp, B's marcam pouco		Rio Grande, RS	0-3 B's	Este trabalho
			3 a 31 A	Y M				X polimórfico	
	64-66	66-68	B's A 29 pares A	X SM	Centrômero todos, Xp total, Y total, B's total.	Braço p dos pequenos A (de 2 a 8 cromossomos)	SP, PR Uruguai, Paraguai, Esmeralda, Torres, Tramandaí, Osório, Sapiranga, Mostardas, Pelotas Taim, RS.	Polimorfismo em 5 espécimes no crom. 1 em Taim, Pelotas e esmeralda: devido à quantidade de HC. O mesmo em um macho do Taim par 3 e uma fêmea Paraná par 6	Sbalqueiro, <i>et al.</i> , 1991
			2 pares biarmados	Y SM, M, ST ou A	No Paraná, 4 machos com Y M (centrômero até metade do braço p) e 2 com Y A (total heterocromático)				
	64-66	66-68	1 a 3 M	X SM (varia braço p)	Centromérica em todos autossomos, alguns pares braço p total. Xp, B's total. Yq banda positiva distal		Peru e Bolívia	0-2 B's 0-2 B's	Aniskin e Volobouev, 1999
			4 a 32 A	Y M					
	64-67	66-72	29 pares A	X SM	Centrômero todos, Xp total, Y total, B's total.		SC, Nonoai, Tainhas, Charqueadas, Quintão, RS	0-3 B's SM ou M	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
			2 pares biarmados	Y SM, ST ou A	No Paraná, 4 machos com Y M (centrômero até				

<i>O. nigripes</i>	62	81-82	1 e 5 ST 2 a 4 M 6 a 11 M	X M ou SM Y M ou A	metade do braço p) e 2 com Y A (total heterocromático) Centrômero 16, 17, 18 e 21, Xp e Yq total	Modal 6	Rio Grande, RS	1 e 2 A ou ST polimórfico  X e Y polimórfico	Este trabalho
	62	78, 80-82	12 a 30 A Par 2 biarmado com inversão ST ou SM	X M, SM ou ST Y A, M ou SM	Pericentromérica em alguns pares méd. e peq. Xp e Yq total		GO, BA, ES, PR, SC, Aratiba, Muitos Capões, Tupanciretã, Caxias do Sul, Tainhas, Torres, São Francisco de Paula, Riozinho, Sapiranga, Charqueadas, Osório, Tramandaí, Quintão, Tapes, Capão do Leão, Taim, RS	Varição pericêntrica pares 3 e 4.	Andrades-Miranda <i>et al.</i> , 2001
	62	80-82	1 a 11 biarmado				MG, SP, SC, RJ, PR, SC, RS, Paraguai.	Polimorfismo crom 3	Bonvicino, <i>et al.</i> , 2001
	70	74, 76	12 a 30 A FN76= 30 pares A 4 biarmados  FN74= 31	X SM Y A	Pericentromérica em todos autossomos, menos o 34. X quase total.	Telômero braço curto 3-7 pares, 4 modal	GO, TO		Lima, <i>et al.</i> , 2003

			pares A							
	62	78-82	3 biarmados 1 SM	X SM, ST ou M				BA, ES, SP, MS, DF, CE, Maquiné, Morro Alto, Emobaba, Faxinal, Alto Ferrabraz, Picada Verão, São Francisco de Paula, RS	Variação FN inversões pericêntricas pares 2, 3, 4 e 8	Paresque, <i>et al.</i> , 2007
			2 SM ou A	Y M, SM ou ST						
			3 e 4 M, A ou M/A							
			8 M ou M/A							
			5, 6, 7, 9, 10 e 11 M ou SM							
	62	82	12 a 30 A 11 biarmados	X SM				BA		Pereira e Geise, 2007
<i>O. nasutus</i>	54	64	10 A 1 e 2 ST	Y A X A	Centrômero todos autossomos, X e Y	2p, centrômero 15 e 17		Rio Grande, RS		Este trabalho
			3 a 6 M	Y A						
	54		7 a 26 A							
<i>Oxymycterus</i> sp	54	64	1 ST	X SM	Centromérica todos autossomos, Xp e Yp total	5-13, modal 8		Argentina e Uruguai DF		Vitullo, <i>et al.</i> , 1986 Svartman e Almeida, 1993.
			2 a 6 M	Y SM						
<i>S. tumidus</i>	24	40	7 a 26 A 1, 4 e 5 SM	X A	Centrômero alguns, pericentromérica X, Y	Centrômero 7 e 8		Rio Grande, RS		Este trabalho

		2, 3, 6, 7, 8 e 9 M	Y A	total					
	24	40	10 e 11A 9 pares M ou SM	X A	X banda pericentromérica, Y total	Centrômero pares 3, 6, 7 e 8	Nova Tirol, SC	Translocação Robertsoniana	Freitas, <i>et al.</i> , 1984
	34	40		Y A X A	par 10 e X banda pericentromérica, Y total		Esmeralda e Cambará, RS	Translocação Robertsoniana	
	36	40		Y A ou ST X A	X banda pericentromérica, Y total		Porto Alegre, Pelotas, Taim, Bagé, Aceguá, RS	Translocação Robertsoniana	
	24	40	1, 4 e 5 SM	X T	Alguns pares parecem marcar. No centrômero. X centrômero e Y total	Um dos homólogos pares 3, 7 e 9	Uruguai		Brum-Zorrila, <i>et al.</i> , 1986
			2, 3, 6, 7, 8 e 9 M	Y T					
			10 e 11 A						
<i>R. rattus</i>	38	58	1 e 9 ST	X A	Centrômero todos, X, Y total	14p e 18p	Rio Grande, RS	4/7 e 11/12 fusões cêntricas	Este trabalho
			4/7, 11/12, 14 a 20 M	Y A					
	38		2, 3, 5, 6, 8, 10 e 13 A 9 pares M	X A			São Leopoldo, RS		Bianchi, <i>et al.</i> , 1969
			3 pares Subterminal	Y A					

38	58	7 pares A 1 par ST	X A		América do Norte		Davis e Baker, 1971
		1 par M	Y A				
		8 pares biarmados					
38		7 pares A	X A		Califórnia		Yosida, <i>et al.</i> , 1974
38			X A		SP	Inversão pericêntrica par 8	Kasahara e Yonenaga-Yassuda, 1980
			Y A				

330 Tabela 4: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo número de  
 331 tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.

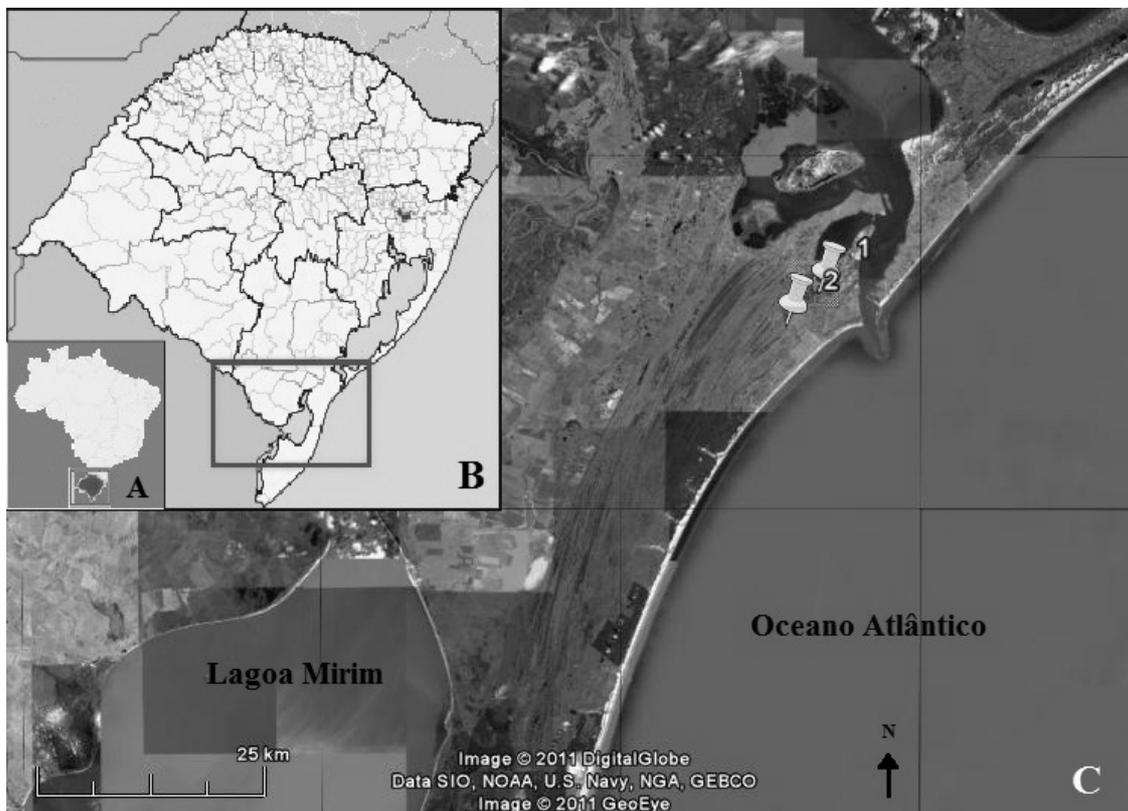
332  
 333

<b>ID</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Número tombo</b>	<b>Nome do Local</b>
MP033	<i>O. flavescens</i>	M	MCNU 1500	Mata Arenosa Ciliar
MP041	<i>O. flavescens</i>	M	MCNU 1497	Mata Arenosa Ciliar
MP044	<i>O. flavescens</i>	F	MCNU 1685	Mata Palustre
MP060	<i>O. flavescens</i>	M	MCNU 1686	Mata Palustre
MP030	<i>O. nigripes</i>	F	MCNU 1489	Mata Arenosa Ciliar
MP037	<i>O. nigripes</i>	M	MCNU 1491	Mata Arenosa Ciliar
MP068	<i>O. nigripes</i>	F	MCNU 1726	Mata Palustre
MP070	<i>O. nigripes</i>	F	MCNU 1840	Mata Palustre
MP077	<i>O. nigripes</i>	M	MCNU 1691	Mata Arenosa Ciliar
MP078	<i>O. nigripes</i>	M	MCNU 1692	Mata Arenosa Ciliar
MP080	<i>O. nigripes</i>	F	MCNU 1700	Mata Arenosa Ciliar
MP102	<i>O. nigripes</i>	M	MCNU 1860	Mata Arenosa Ciliar
MP144	<i>O. nigripes</i>	M	MCNU 1705	Mata Palustre
MP011	<i>O. nasutus</i>	M	-	Mata Arenosa Ciliar
MP035	<i>O. nasutus</i>	M	MCNU 1737	Mata Arenosa Ciliar
MP079	<i>O. nasutus</i>	M	MCNU 1740	Mata Arenosa Ciliar
MP101	<i>O. nasutus</i>	M	MCNU 1739	Mata Arenosa Ciliar
MP015	<i>R. rattus</i>	M	MCNU 1784	Mata Arenosa Ciliar
MP038	<i>S. tumidus</i>	M	-	Mata Arenosa Ciliar
MP043	<i>S. tumidus</i>	F	MCNU 1786	Mata Palustre
MP061	<i>S. tumidus</i>	M	MCNU 1525	Mata Palustre
MP065	<i>S. tumidus</i>	M	-	Mata Palustre
MP136	<i>S. tumidus</i>	M	MCNU 1787	Mata Palustre
MP137	<i>S. tumidus</i>	M	MCNU 1782	Mata Palustre
MP141	<i>S. tumidus</i>	M	MCNU 1781	Mata Palustre

334            Figura 11: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América do Sul. B)  
335            Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo: 1) Fragmento de  
336            mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar.

337

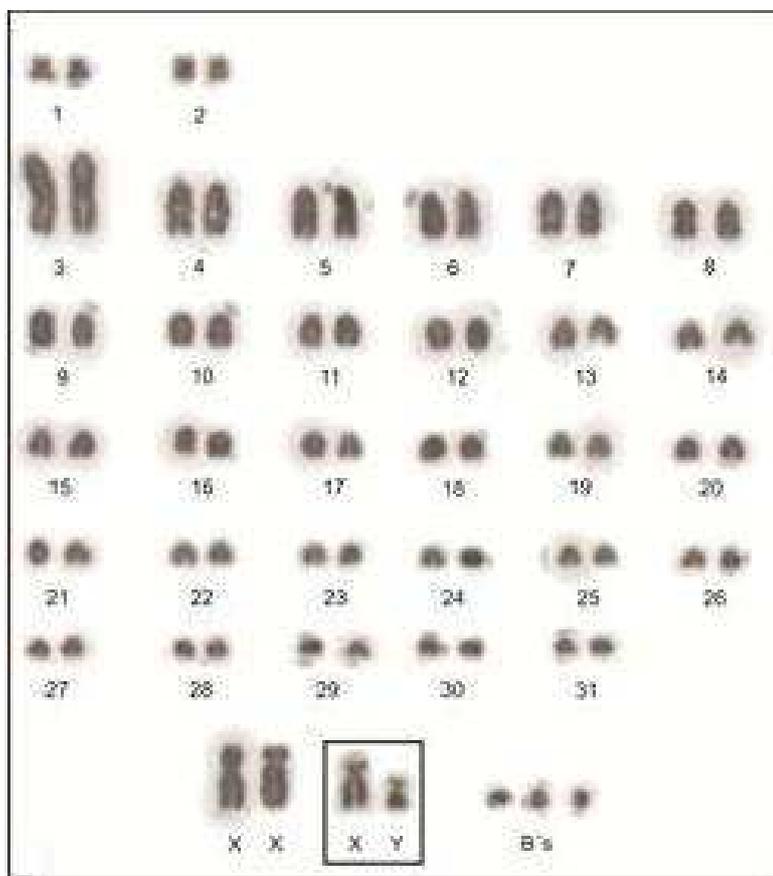
338



339                    Figura 12: Cariótipo em Giemsa de *O. flavescens*. O quadrado indica os  
340 cromossomos sexuais dos machos.

341

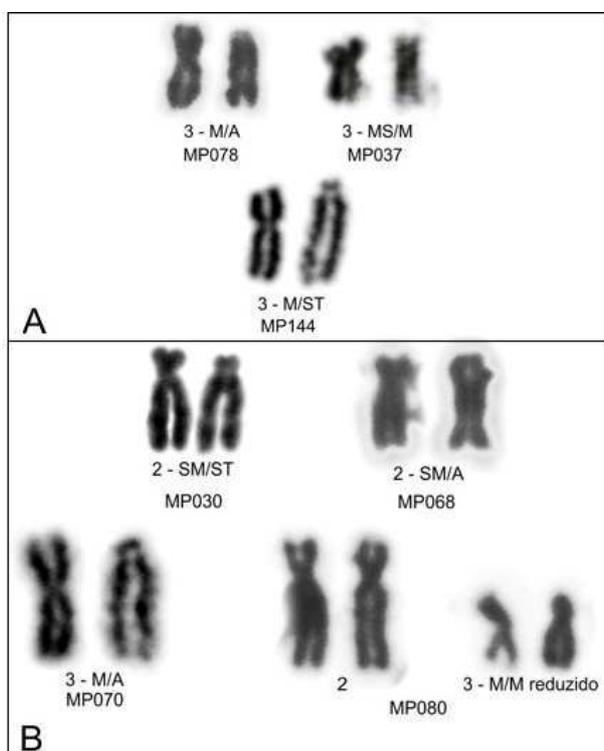
342



343            Figura 13: Pares cromossômicos e número de identificação na amostra dos  
344 machos (A) e fêmeas (B) de *O. nigripes* com polimorfismos.

345

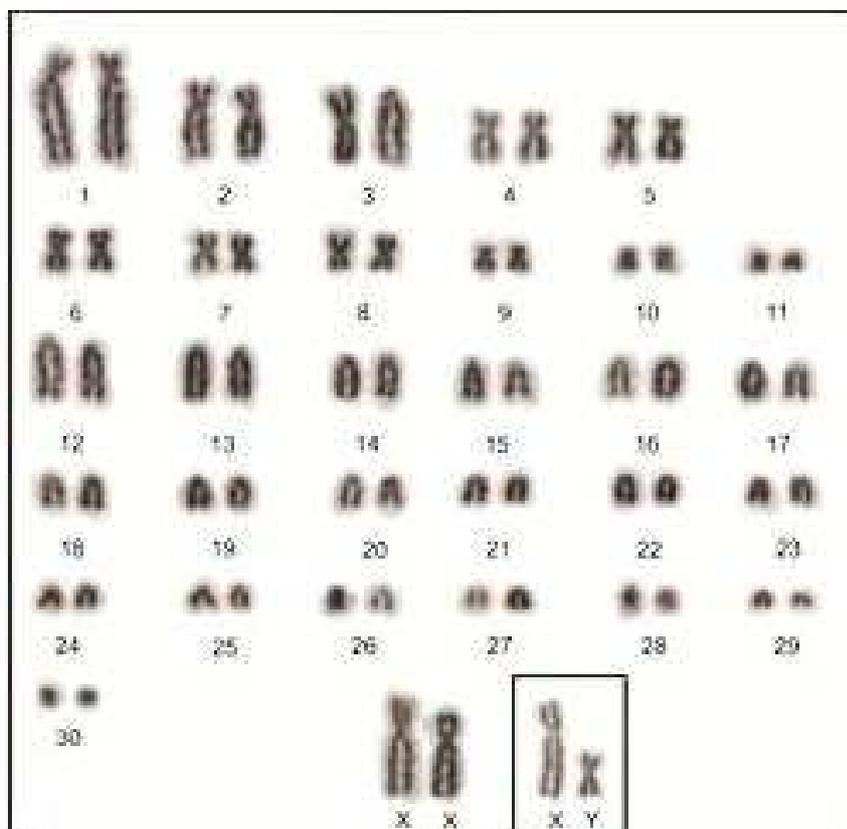
346



347 Figura 14: Cariótipo em Giemsa de *O. nigripes*. O quadrado indica os cromossomos  
348 sexuais dos machos.

349

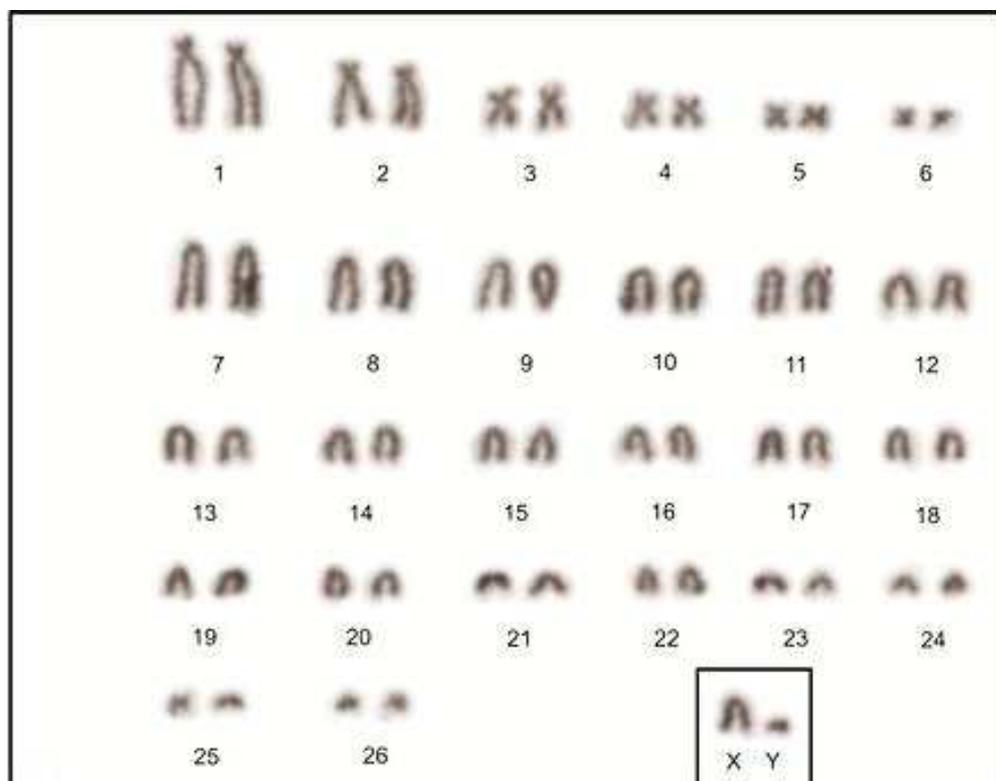
350



351            Figura 15: Cariótipo em Giemsa de *O. nasutus*. O quadrado indica os  
352 cromossomos sexuais dos machos.

353

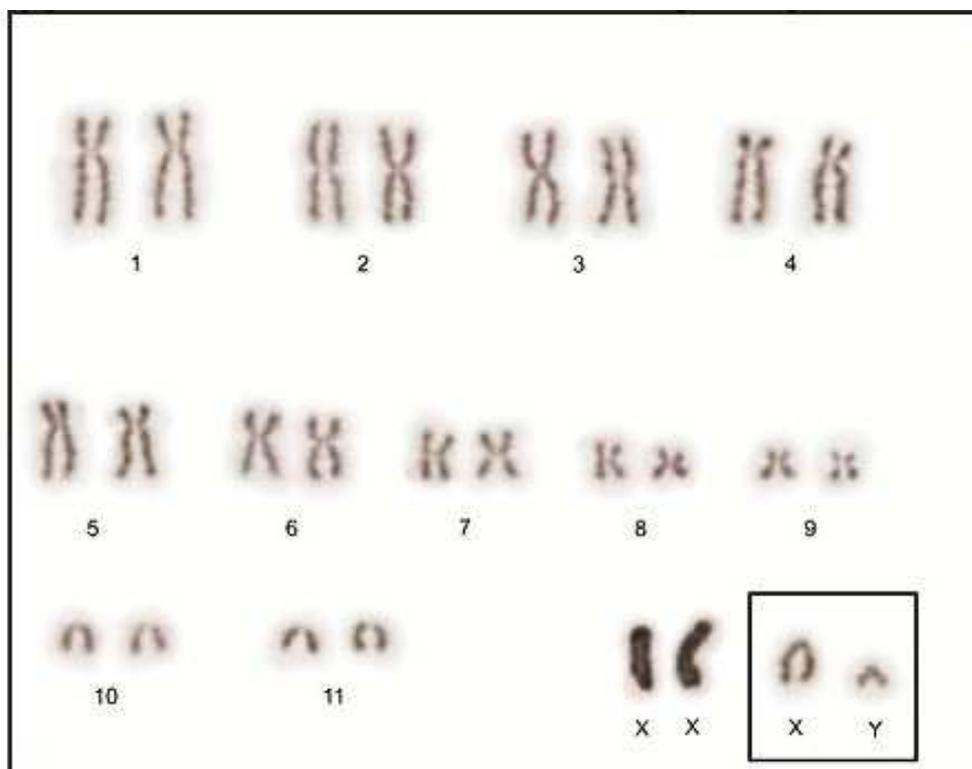
354



355            Figura 16: Cariótipo em Giemsa de *S. tumidus*. O quadrado indica os  
356 cromossomos sexuais dos machos.

357

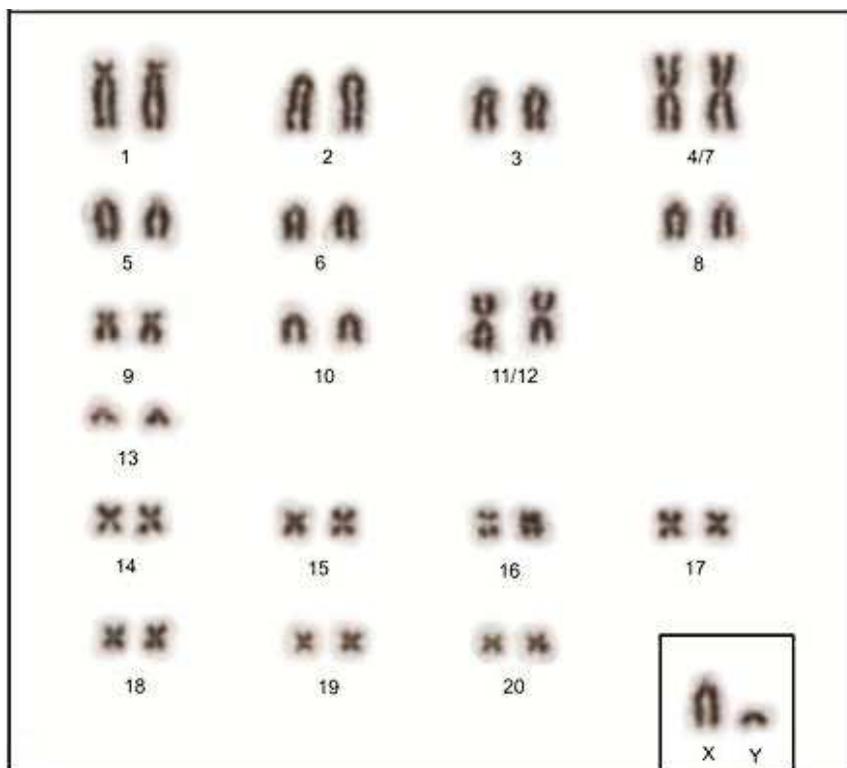
358



359            Figura 17: Cariótipo em Giemsa de *R. rattus*. O quadrado indica os  
360 cromossomos sexuais dos machos.

361

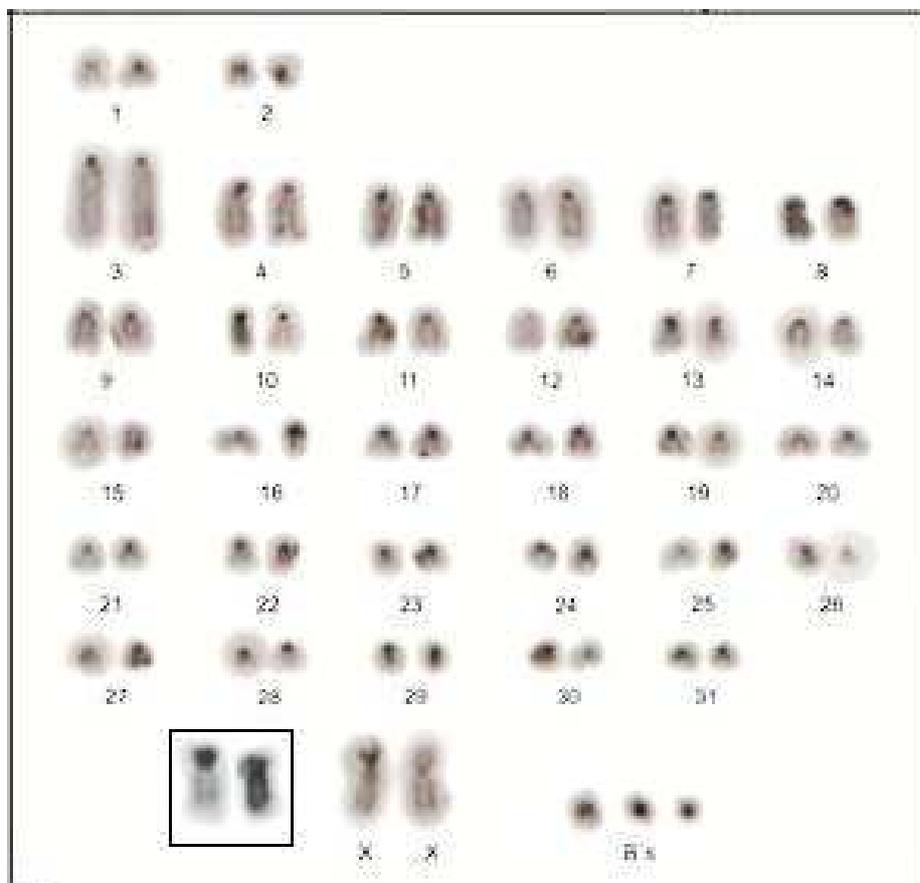
362



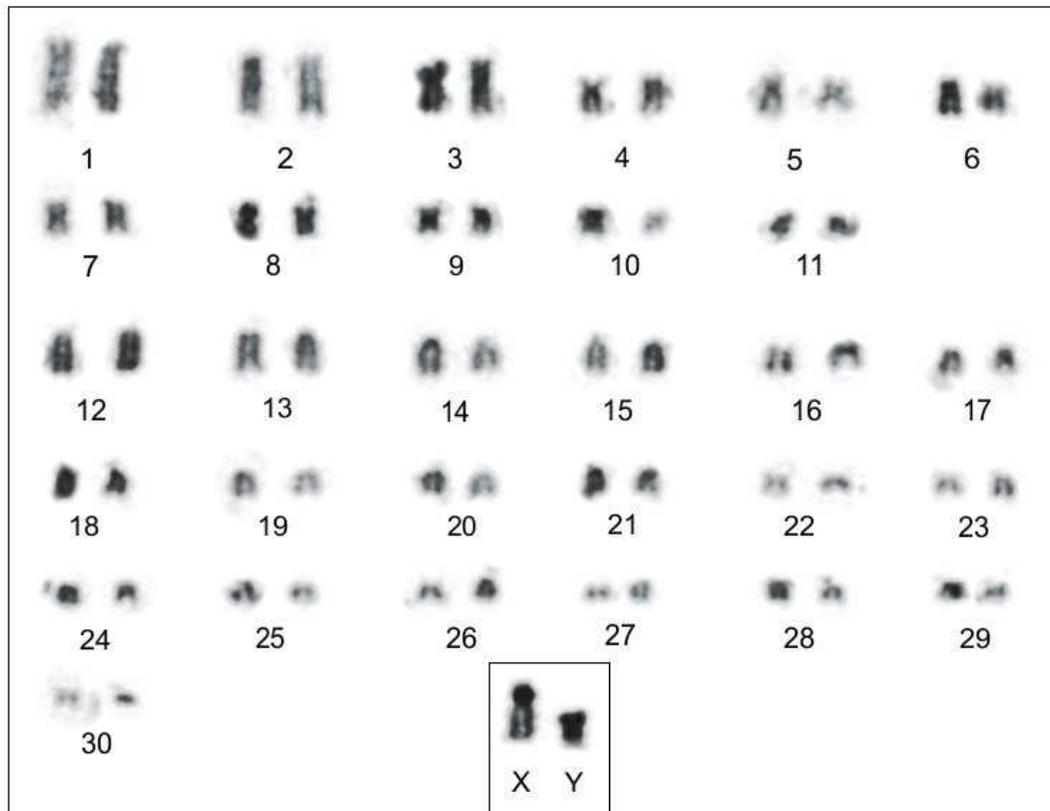
363            Figura 18: Cariótipo com banda C de *O. flavescens*. O quadrado indica os  
364 cromossomos sexuais da mesma fêmea de outra metáfase.

365

366



367                    Figura 19: Cariótipo com banda C de *O. nigripes*. O quadrado indica os  
368 cromossomos sexuais dos machos.



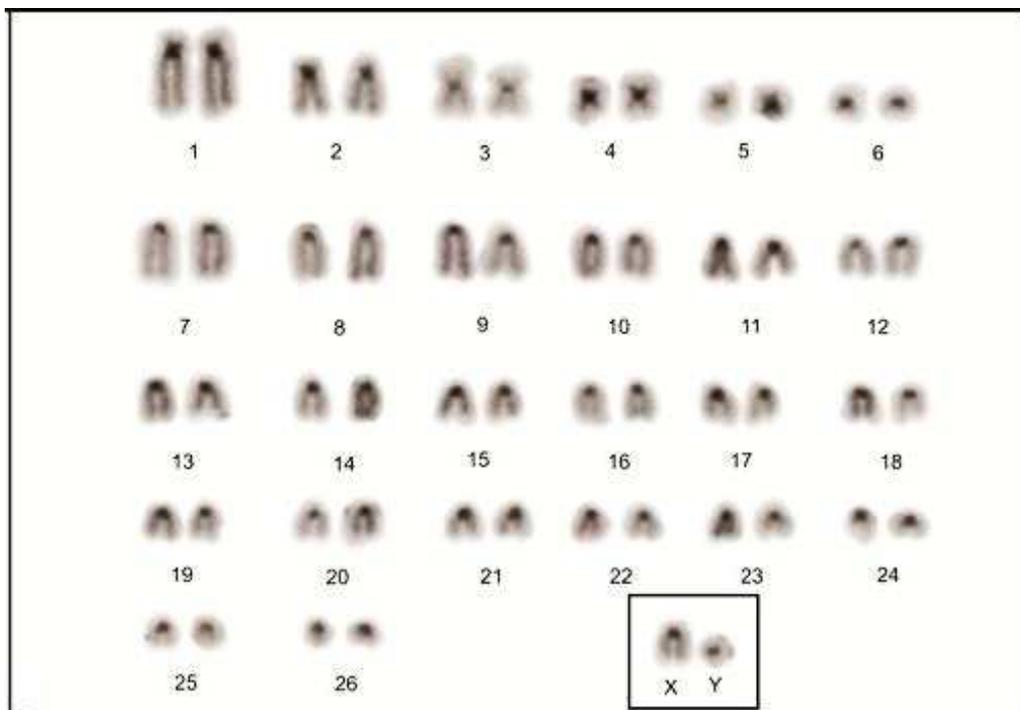
369

370

371            Figura 20: Cariótipo com banda C de *O. nasutus*. O quadrado indica os  
372 cromossomos sexuais dos machos.

373

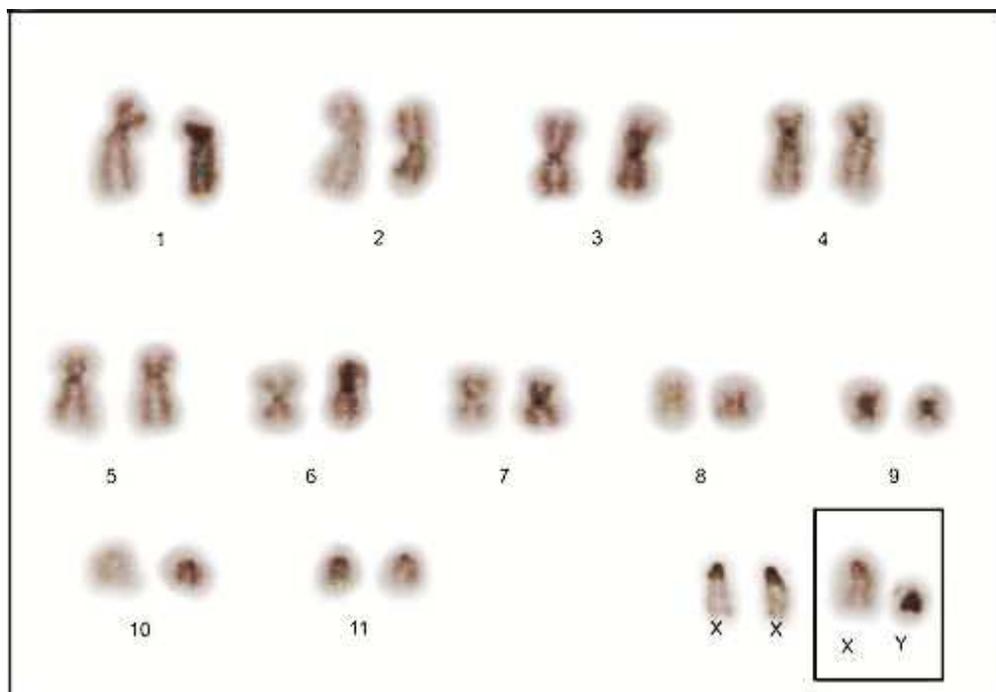
374



375            Figura 21: Cariótipo com banda C de *S. tumidus*. O quadrado indica os  
376 cromossomos sexuais dos machos.

377

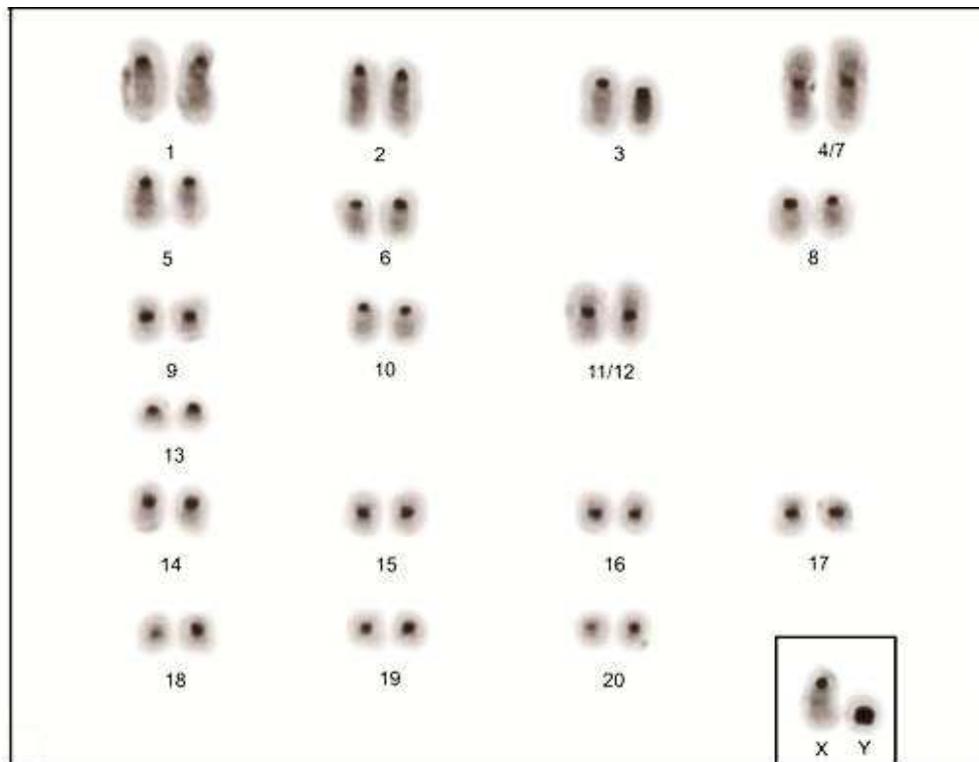
378



379            Figura 22: Cariótipo com banda C de *R. rattus*. O quadrado indica os  
380 cromossomos sexuais dos machos.

381

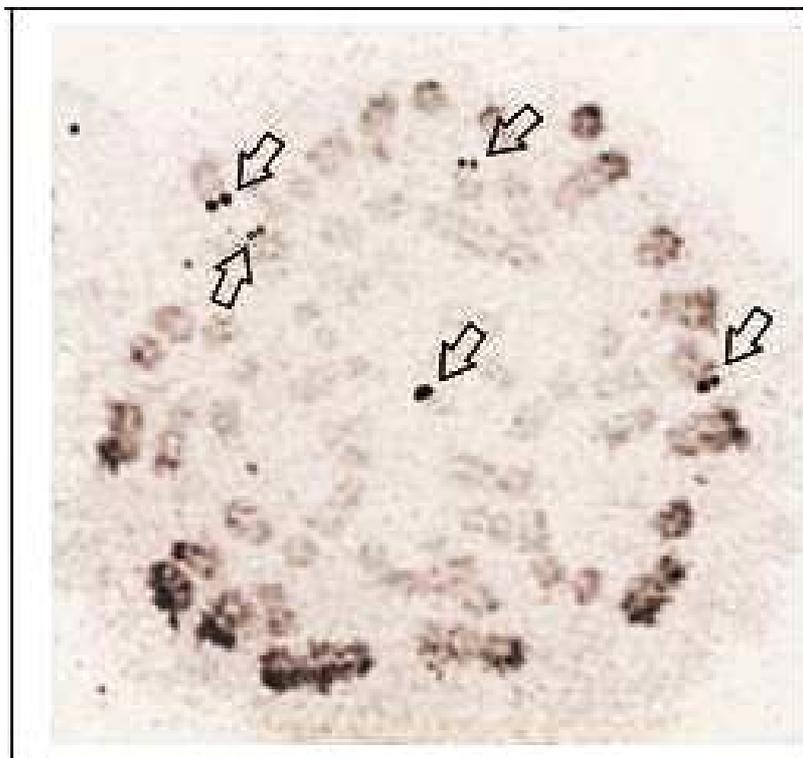
382



383            Figura 23: Metáfase com Ag-RONs de *O. nigripes*. As setas indicam os  
384 cromossomos com as Ag-RONs.

385

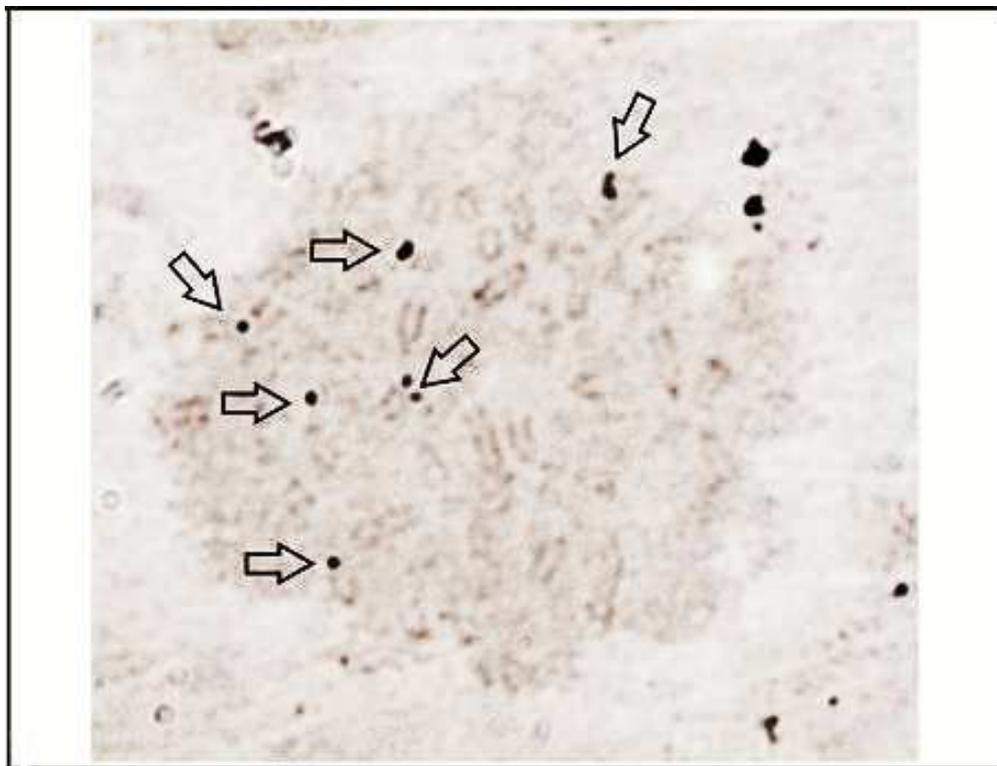
386



387            Figura 24: Metáfase com Ag-RONs de *O. nasutus*. As setas indicam os  
388 cromossomos com as Ag-RONs.

389

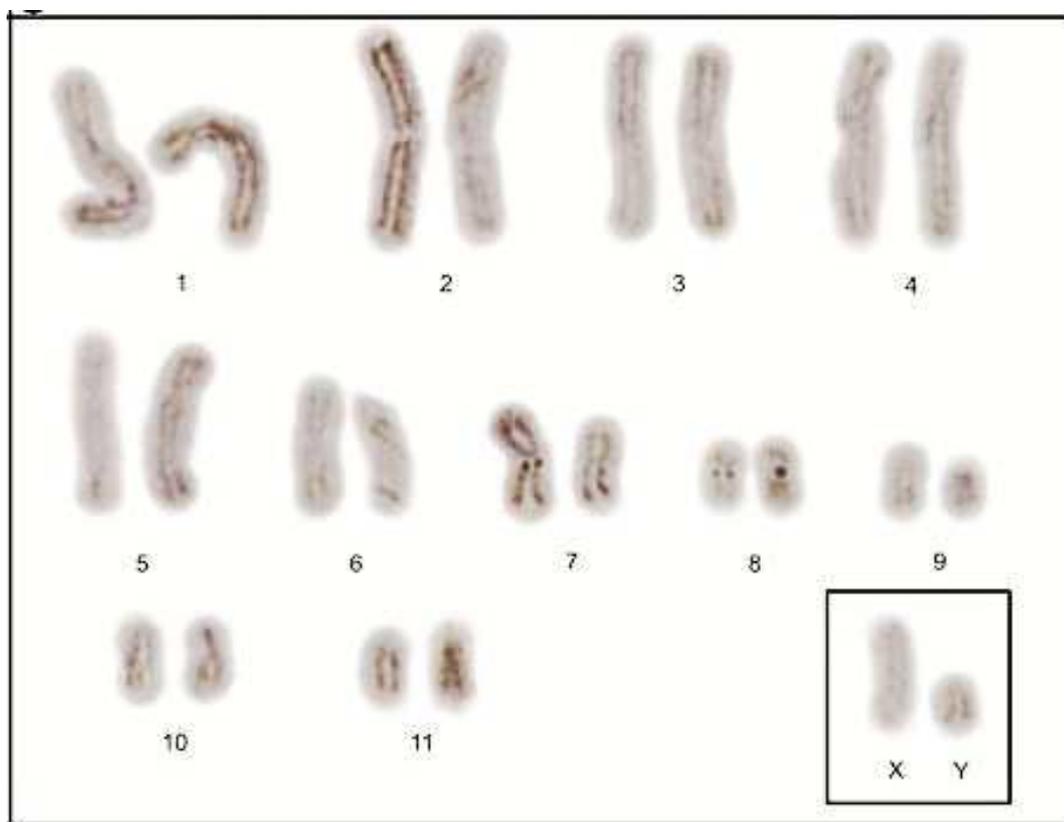
390



391                    Figura 25: Cariótipo com Ag-RONs de *S. tumidus*. O quadrado indica os  
392 cromossomos sexuais dos machos.

393

394



395                    Figura 26: Cariótipo com Ag-RONs de *R. rattus*. O quadrado indica os  
396 cromossomos sexuais dos machos.

397



## 5. Short Communication

**Banda C, G de *Deltamys kemp* e macho com  $2n=38$**

1 **Banda C, G de *Deltamys kemp* e macho com 2n=38**

2  
3 Thaís Morales Vergara Antunes<sup>a</sup>, Guassenir Gonçalves Born<sup>b</sup>, Fernando  
4 Marques Quintela<sup>b</sup>, Maurício Beux dos Santos<sup>b</sup>, Adriana Gava<sup>b</sup>

5  
6 <sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos  
7 Continentais, Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália km 8, Caixa Postal  
8 474, CEP 96201-900, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Telefone: (55) 53-  
9 3233-6848. E-mail: herpetaty@gmail.com.

10 <sup>b</sup>Laboratório de Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade  
11 Federal do Rio Grande, Avenida Itália km 8, Rio Grande, Rio Grande do Sul,  
12 Brasil.

13  
14 *Deltamys kemp* é um roedor que está distribuído pelo leste do Rio  
15 Grande do Sul, central leste da Argentina e Uruguai (Musser e Carleton, 2005)  
16 e possui como principal característica um sistema sexual múltiplo. Inicialmente,  
17 acreditava-se que era um estágio preliminar de evolução para um mecanismo  
18 sexual múltiplo do tipo XX/XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>, com 2n=37 e NF=38, sendo o cromossomo  
19 37 um acrocêntrico médio na fêmea, homólogo ao braço longo do cromossomo  
20 submetacêntrico, no macho era um pequeno acrocêntrico, em espécimes  
21 coletados na Argentina (Fronza *et al.*, 1981).

22 Anos mais tarde a análise detalhada de bandamento mostrou que o  
23 sistema sexual era composto de X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub>/X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>Y, resultado de translocações  
24 no cromossomo Y-autossomo nos machos, em espécimes coletados no Rio  
25 Grande do Sul (Sbalqueiro *et al.*, 1984; Castro *et al.*, 1991).

26 O cariótipo das fêmeas é composto por  $2n=38$  e dos machos  $2n=37$ , a  
27 banda C apresenta blocos de heterocromatina centromérica em todos os pares  
28 cromossômicos, inclusive no  $X_2$ , pericentroméricas no  $X_1$  e totalmente  
29 heterocromático no Yp (Sbalqueiro *et al.*, 1984; Castro *et al.*, 1991). As Ag-  
30 RONS estão presentes em 2 a 7 cromossomos (Sbalqueiro *et al.*, 1984).  
31 Fusões cêntricas foram observadas em dois autossomos (2:3 e 9:15) em  
32 espécimes coletados em Tapes e Tramandaí (RS), o que resultou em sete  
33 cariótipos diferentes além da translocação no Y-autossomo que ocorreu em  
34 todos os machos (Castro *et al.*, 1991).

35 Por fim, foi determinado, através de análise da sequência de DNA, que a  
36 população de *D. kempfi* da Planície Costeira (Taim, Tapes e Tramandaí/RS)  
37 está dividida em dois grupos: uma pequena parte ocupa a porção norte da  
38 região enquanto a outra está espalhada ao sul. Isso ocorreu devido a  
39 fenômenos de regressão e transgressão marinha que acabou moldando o  
40 habitat e, junto com rearranjos cromossômicos sucessivos, se tornam fatores  
41 fundamentais na diversificação desta espécie (Montes *et al.*, 2008).

42 Nesse sentido, buscamos descrever através de bandamento C e G  
43 espécimes de *D. kempfi* na região sul da Planície Costeira do RS. Para tal,  
44 coletamos exemplares da espécie em um fragmento de mata palustre ( $32^{\circ}$   
45  $07'S$ ;  $52^{\circ}09'W$ ) e um fragmento de mata arenosa ciliar ( $32^{\circ}09'S$ ;  $52^{\circ}11'W$ )  
46 separados por uma distância aproximada de 5km no município de Rio  
47 Grande/RS (fig.1). Os espécimes foram depositados na coleção de mamíferos  
48 do Museu de Ciências Naturais da Universidade Luterana do Brasil (MCNU) e  
49 os números de tombo estão listados na tabela 1.

50 Os espécimes foram preparados para obtenção de cromossomos

51 mitóticos a partir da medula óssea, segundo a técnica de Ford e Hammerton  
52 (1956). As técnicas de banda C e G foram preparadas conforme Sumner (1972)  
53 e Seabright (1972) respectivamente. Para o bandamento C utilizou-se o bário a  
54 40°C por 1:18s e para o bandamento G utilizou-se a tripsina a 37°C por 0:50s.

55 Foram considerados como de dois braços os cromossomos  
56 metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos e de um braço os  
57 cromossomos acrocêntricos, se respeitando as medidas propostas por Levan  
58 *et al.* (1964) para apresentar o número diploide e o número fundamental (NF =  
59 número de braços autossômicos). Para cada técnica foi observada no mínimo  
60 10 metáfases de cada espécime e os cariótipos foram montados manualmente  
61 com auxílio de software a partir de imagens digitais.

62 Foram coletados e analisados 3 fêmeas oriundas do fragmento de mata  
63 palustre e 1 macho do fragmento de mata arenosa ciliar, ambos com  $2n=38$  e  
64  $NF=38$ , sendo que este cromossomo a mais pode ser classificado como  $Y_2$ ,  
65 conduzindo a um sistema sexual múltiplo do tipo  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$  ou um  
66 cromossomo B. O cromossomo  $X_1$  é um acrocêntrico grande, o segundo maior  
67 do conjunto cromossômico,  $X_2$  é um acrocêntrico grande, o quarto maior  
68 cromossomo,  $Y_1$  é um submetacêntrico grande e o cromossomo extra é o  
69 menor acrocêntrico (fig. 2).

70 Sistemas sexuais múltiplos são raros entre mamíferos, mas já foram  
71 observados em morcegos com o sistema  $XX/XY_1Y_2$  (Hsu *et al.*, 1968), em ratos  
72 com o sistema  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$  (Zimmerman, 1974), em primatas com o  
73 sistema  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$  (Rahn *et al.*, 1996), em ornitorrincos com 5  
74 cromossomos X e 5 cromossomos Y e porcos-espinhos com 5 cromossomos X  
75 e 4 cromossomos Y (Rens *et al.*, 2007).

76 A banda C revelou blocos de heterocromatina constitutiva no  
77 centrômero de todos os pares cromossômicos, inclusive no  $X_2$ , sendo que o  $X_1$   
78 apresenta uma banda pericentromérica que se estende por 1/3 da região  
79 proximal do seu braço longo. Estes resultados corroboram com a descrição de  
80 outros autores (Sbalqueiro *et al.*, 1984; Castro *et al.*, 1991). O cromossomo  
81 extra é totalmente heterocromático mas de coloração muito menos intensa  
82 quando comparada às bandas dos autossomos (fig. 3).

83 Em espécimes coletados no Taim/RS (Sbalqueiro *et al.*, 1984) e em  
84 Tapes e Tramandaí/RS (Castro *et al.*, 1991) foram observados através de  
85 bandamento G, 17 pares autossômicos. Os machos apresentaram um grande  
86 cromossomo acrocêntrico, de tamanho entre o primeiro e segundo pares, que  
87 possuía bandas sem correspondência em outros cromossomos, um único  
88 cromossomo biarmado e um segundo acrocêntrico que revelou as mesmas  
89 bandas do braço longo do cromossomo.

90 Obtivemos bandamento G apenas em uma das fêmeas e observamos  
91 padrões de bandas semelhantes aos apresentados nos trabalhos de  
92 Sbalqueiro *et al.* (1984) e Castro *et al.*, (1991) nos cromossomos autossômicos  
93 (fig. 4), sendo que todos os espécimes foram coletados no Rio Grande do Sul.

94 Concluimos que a semelhança nos resultados é devido ao fato de que  
95 os espécimes coletados por nós, Sbalqueiro *et al.* (1984) e Castro *et al.*, (1991)  
96 fazem parte da mesma população. Sugerimos mais estudos, principalmente de  
97 segregação meiótica, buscando determinar se este novo cromossomo em  
98 machos é um cromossomo B ou um novo cromossomo sexual.

99

100

101           **Agradecimentos**

102           Agradecemos ao programa REUNI da FURG pela concessão de bolsa  
103           ao primeiro autor e à ICMBio pela licença de coleta e captura concedida  
104           (processo nº 325-1).

105

106           **Referências Bibliográficas**

- 107           Castro, E.C., Mattevi, M.S., Maluf, S.W., Oliveira, L.F., 1991. Distinct centric  
108           fusions in different populations of *Deltamys kempfi* (Rodentia, Cricetidae)  
109           from South America. *Cytobios* 68(274-275):153-9.
- 110           Ford, C.E., Hamerton, J.L., 1956. A colchicine hypotonic citrat squash sequence  
111           for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31:247-251.
- 112           Fronza, T.M.L.G., Wainberg, R.L., Catalfo, G.E.H., 1981. Multiple sex  
113           chromossomes in *Deltamys kempfi* (Rodentia, Cricetidae): Preliminary  
114           steps towards the stablishment of the XX/ XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> system. *Caryologia* 34,  
115           4:457-466.
- 116           Hsu, T.C., Baker, R.J., Utakoji, T. 1968. The multiple sex chromosome system of  
117           American leaf-nosed bats (Chiroptera, Phyllostomidae). *Cytogenetics* 7,  
118           27-38.
- 119           Levan, A., Fredga, K., Sandberg, AA., 1954. Nomenclature for centromeric  
120           position on chromossome. *Hereditas*, v.52 p. 201-220.
- 121           MONTES, M.A., OLIVEIRA, L.F.B., BONATO, S.L., CALLEGARI-JAQUES,  
122           S.M., MATTEVI, M.S. DNA sequence analysis and the phylogeographical  
123           history of the rodent *Deltamys kempfi* (Sigmodontinae, Cricetidae) on the  
124           Atlantic Coastal Plain of southern of Brazil. *J. Evol. Biol.* 21:1823-1835,  
125           2008.

126 Musser, G.G., Carleton, M.D., 2005. Superfamily muroidea. In: Wilson, D.E.,  
127 Reeder, D.M., 2005. (Eds.). Mammal Species of the World: a taxonomic  
128 and geographic reference. Ed. Johns Hopkins, Third edition, pp. 894-  
129 1531.

130 Rahn, M.I., Mudry, M., Merani, M.S., Solari, A.J., 1996. Meiotic behavior of the  
131  $X_1X_2Y_1Y_2$  quadrivalent of the primate *Alouatta caraya*. Chromosome  
132 Research4, 5:350-356.

133 Rens, W., O'brien, P.C.M., Grütznner, F., Clarke, O., Graphodatskaya, D.,  
134 Tsend-Ayush, E., Trifonov, V.A., Skelton, H., Wallis, M.C., Johnston, S.,  
135 Veyrunes, F., Graves, J.A.M., Ferguson-Smith, M.A., 2007. The multiple  
136 sex chromosome of platypus and echidna are not completely identical  
137 and several share homology with the avian Z. Genome Biology 8, 11,  
138 R243.

139 Sbalqueiro, I.J., Mattevi, M.S., Oliviera, L.F.B., 1984. An  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$   
140 mechanism of sex determination in a South American rodent, *Deltamys*  
141 *kempi* (Rodentia, Cricetidae). Cytogenet Cell Genet 38:50-55.

142 Seabright, M., 1971. A. Rapid banding technique for human chromosomes.  
143 Lancet, 2:971.

144 Sumner, A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric  
145 heterocromatin. Experimental Cell Research, 75.

146 Zimmerman, E.G., 1974. Chromosomes of the mexican plateau mouse,  
147 *Peromyscus melanophrys*, and a new sex determining mechanism in mammals.  
148 Canadian Journal of Genetics and Cytology, 16:797-804.

149

150 Tabela 5: Lista de espécies analisadas neste estudo e seu respectivo  
151 número de tombo, local da coleta, sexo e identificação na amostra.

152

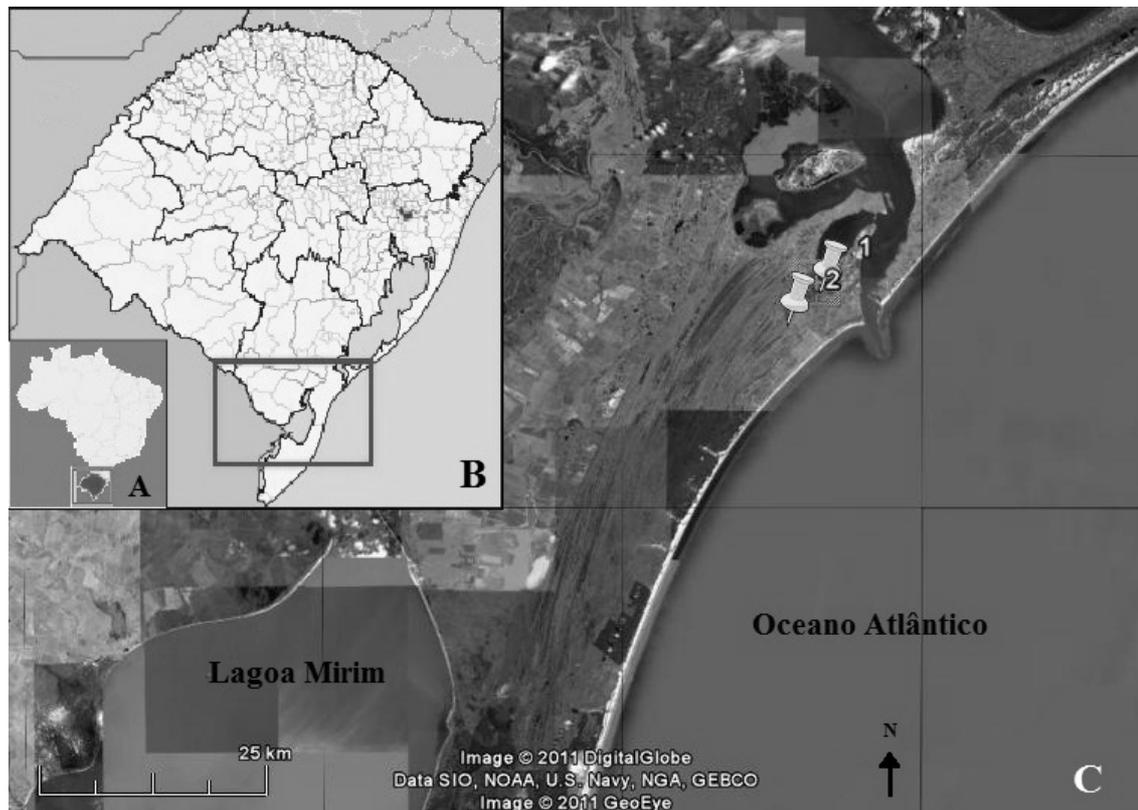
153

<b>ID</b>	<b>Espécie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Número tombo</b>	<b>Nome do Local</b>
MP004	<i>D. kempi</i>	F	MCNU 1487	Mata Palustre
MP031	<i>D. kempi</i>	M	MCNU 1734	Mata Arenosa Ciliar
MP067	<i>D. kempi</i>	F	MCNU 1735	Mata Palustre
MP150	<i>D. kempi</i>	F	MCNU 1736	Mata Palustre

154            Figura 27: A) Localização do estado do Rio Grande do Sul na América  
155 do Sul. B) Parte da região sul da Planície Costeira. C) Área de estudo, sendo:  
156 1) Fragmento de mata palustre, 2) Fragmento de mata arenosa ciliar.

157

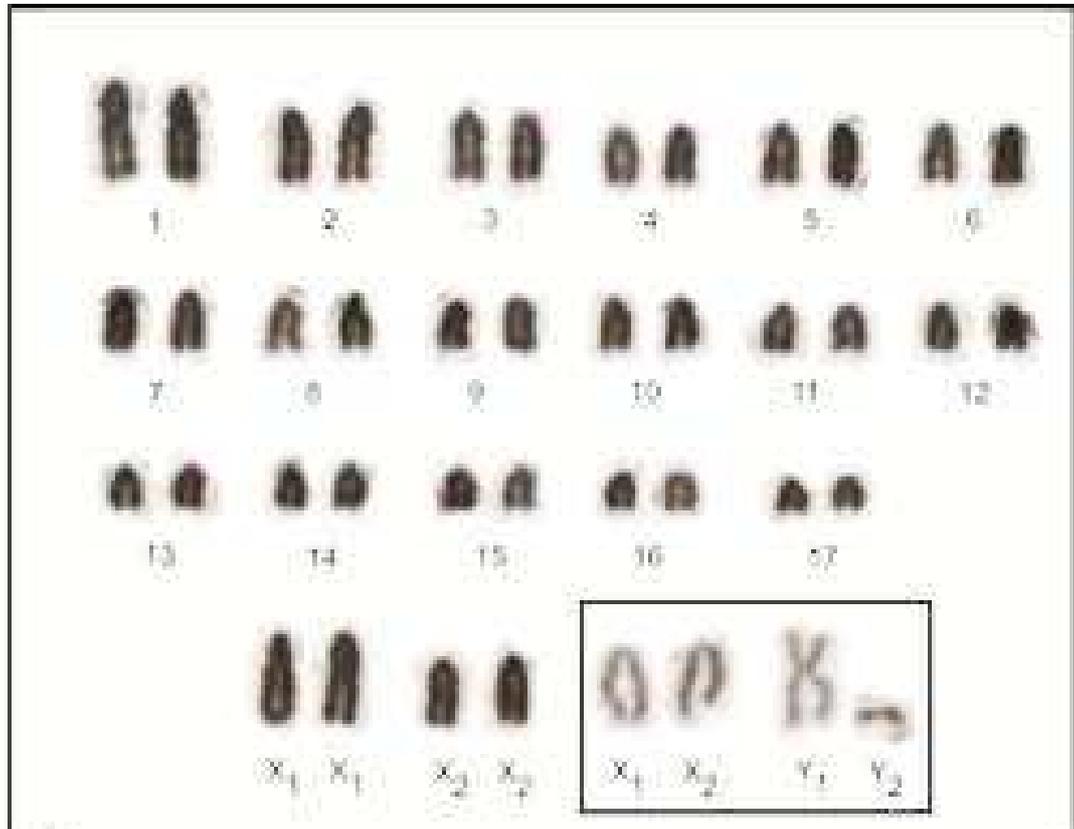
158



159            Figura 28: Cariótipo em Giemsa de *D. kempfi*. O quadrado indica os  
160 cromossomos sexuais dos machos.

161

162



163            Figura 29: Cariótipo com banda C de *D. kempfi*. O quadrado indica os  
164 cromossomos sexuais dos machos.

165

166

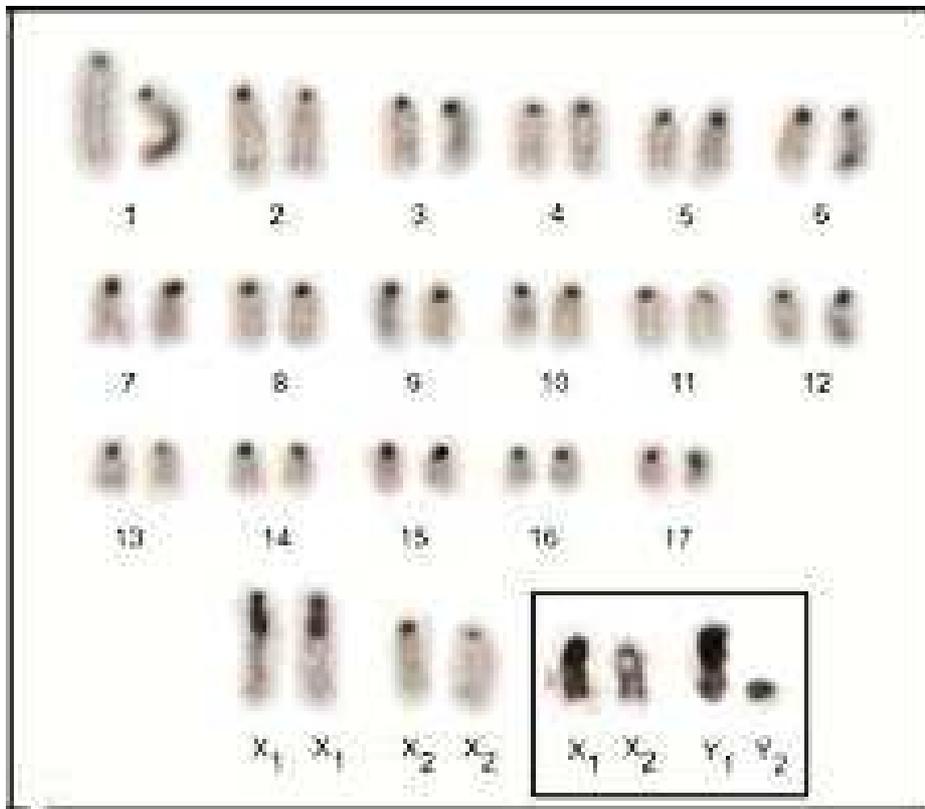
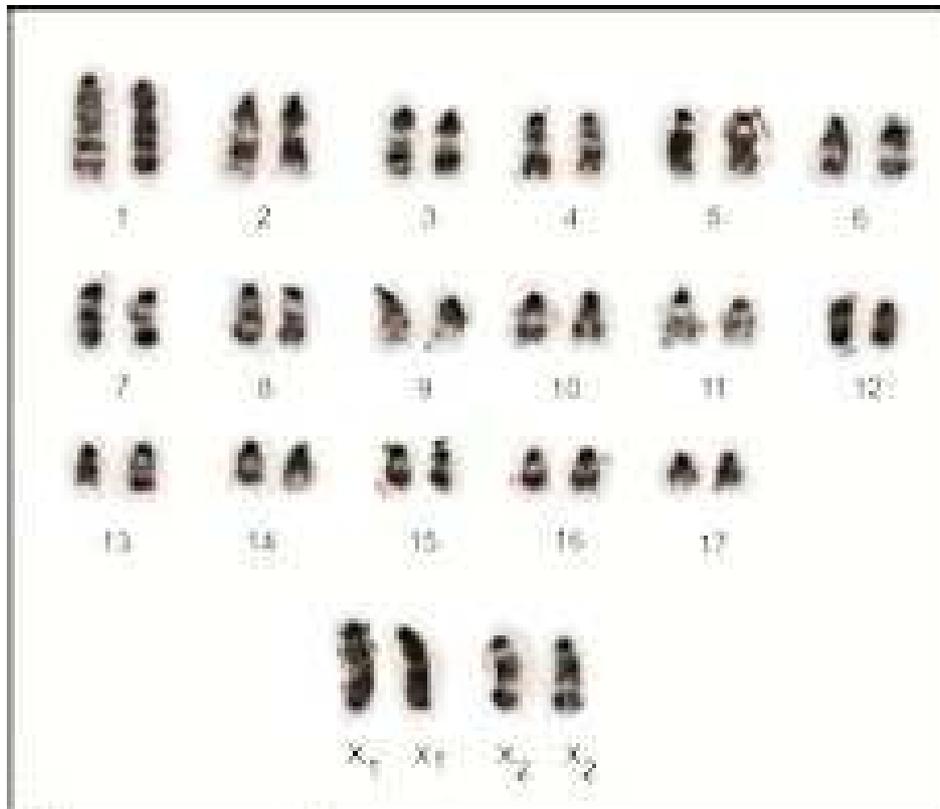


Figura 30: Cariótipo com banda G de uma fêmea de *D. kempfi*.

## **Anexos**

Anexo 1: Instructions to authors, Journal of Mammalian Biology