

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Diversidade citogenética e citotaxonomia de *Phyllomys*
(Rodentia, Echimyidae)**

Marianna Xavier Machado

Vitória, ES
Fevereiro, 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Diversidade citogenética e citotaxonomia de *Phyllomys*
(Rodentia, Echimyidae)**

Marianna Xavier Machado

Orientadora: Valéria Fagundes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal.

Vitória, ES
Fevereiro, 2010

Agradecimentos

À FAPES, FACITEC e CNPq pelo apoio financeiro e a CAPES pela bolsa concedida.

À Valéria pela orientação, paciência, disponibilidade e principalmente pela amizade construída ao longo desses anos, além de toda ajuda. Nunca terei palavras suficientes para agradecer por todas as coisas que fez por mim!

Aos professores doutores Renata Pardini e Yatiyo Yonenaga-Yassuda (USP); Yuri Luiz Reis Leite, Sérgio Lucena Mendes e Leonora Pires Costa (UFES); e Alexandre Uarth Christoff (ULBRA). Aos alunos Simone Lóss de Freitas (UFES), Bruno Pinotti e Camilla Pagotto (USP) pela coleta e/ou disponibilidade de parte do material analisado no presente estudo.

Aos professores do PPGBAN por compartilharem os seus conhecimentos ao longo desses anos na minha formação como mestre.

Aos amigos de Laboratório de Genética Animal (LGA), por todo o convívio desses anos, em especial á Clara, Roberta e Rosana pela amizade construída, os conselhos e disponibilidade em me ajudar sempre! Ao Arturo, Lorena, Queila, Renata, Victor e Silvia pela amizade, ajuda e trocas de idéias. Ao Lucas, por toda ajuda e pelo bom humor de sempre tornando os dias no laboratório mais engraçados! A Sara, Cristie, Juçara, Léo e Núbia pela amizade de muitos anos, por compartilhar experiências de campo e muita conversa.

Aos amigos da turma do mestrado, pelo apoio e compartilhamento de idéias ao longo desses dois anos.

A minha mãe, meu pai e minha irmã por todo apoio e carinho, e por acreditarem sempre em mim.

Ao Giu, pelo amor incondicional e por estar ao meu lado em todos os momentos.

Muito Obrigada a todos!

Sumário

Lista de Tabelas.....	4
Lista de Figuras.....	5
Resumo.....	6
Introdução.....	8
Objetivos.....	10
Material e Métodos.....	11
Resultados.....	15
Discussão.....	21
Citogenética comparativa em <i>Phyllomys</i>	21
O papel dos rearranjos cromossômicos na especiação.....	26
Referências Bibliográficas.....	31
Apêndice 1.....	36

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Revisão dos cariótipos de *Phyllomys*, com descrição do número diplóide ($2n$), número de braços autossômicos (NF), estrutura cariotípica e pares portadores de regiões organizadoras do nucléolo (Ag- RONS). 13
- Tabela 2.** Comparação citogenética par-a-par, e número mínimo de mudanças cromossômicas que diferenciam os cariótipos de *Phyllomys*. 14

Lista de Figuras

- Figura 1.** Mapa indicando as localidades amostradas e as respectivas formas cromossômicas encontradas para *Phyllomys*. 12
- Figura 2.** Cariótipos de *Phyllomys*. A) Cariótipo A, $2n=50/NF=88$. 17
B) Cariótipo B, $2n=72/NF=108$. C-E) Cariótipo C, $2n=76/NF=148$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente.
- Figura 3.** Cariótipos de *Phyllomys*. A-C) Cariótipo D, $2n=80/NF=108$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente. 18
D-F) Cariótipo E, $2n=90/NF=108$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente. 19
- Figura 4.** Cariótipos de *Phyllomys*. A-C) Cariótipo F, $2n=91/NF=108$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente. 19
D) Cariótipo G, $2n=92/NF=102$, em coloração comum.
- Figura 5.** Cariótipos de *Phyllomys* com marcação pelas Ag-RONs. 20
A) Cariótipo C, $2n=76/NF=148$. B) Cariótipo D, $2n=80/NF=108$. C) Cariótipo E, $2n=90/NF=108$. D) Cariótipo F, $2n=91/NF=108$. E) Cariótipo G, $2n=92/NF=102$.

Resumo

Este trabalho apresenta a análise citogenética de 19 exemplares de *Phyllomys* provenientes de 16 localidades dos estados da Bahia, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo através das análises de coloração comum, bandeamento C, G e coloração das Regiões Organizadoras de Nucléolos. Sete formas cariotípicas foram identificadas, quatro inéditas, aqui denominadas cariótipo A ($2n=50/NF=88$, com 20 pares com dois braços (m), quatro pares acrocêntricos (a), X metacêntrico grande (M) e Y acrocêntrico pequeno (a), gerando a fórmula cariotípica $20m+4a+X^M+Y^a$); cariótipo B ($2n=72/NF=108$, com $19m+16a+X^M+Y^a$); cariótipo C ($2n=76/NF=148$, com $33m+4a+X^A+Y^m$), padrão de heterocromatina constitutiva (HC) conspícua, localizada na região pericentromérica em seis pares metacêntricos/submetacêntricos, no cromossomo X e intersticial proximal no par 33; cariótipo D ($2n=80/NF=108$, com $15m+24a+X^A+Y^a$) e organização da HC em grandes blocos pericentroméricos em quatro pares metacêntrico/submetacêntricos e em quase todos os acrocêntricos além do cromossomo X, sendo o Y heterocromático; cariótipo E ($2n=90/NF=108$, com $10m+34a+X^A+Y^a$), cariótipo F ($2n=91/NF=108$, com $9m+(1m)+35a+X^A+Y^a$) e cariótipo G ($2n=92/NF=102$, com $6m+39a+X^A+Y^m$). O padrão de heterocromatina constitutiva foi similar entre os cariótipos E e F com distribuição de pequenos blocos centroméricos por todos os pares e ainda marcação pericentromérica e intersticial no braço longo cromossomo X. O padrão de marcação das Ag-RONs foi similar quanto ao número (somente um par marcado) em todos os cariótipos, mas distintos quanto à posição. De maneira geral, o bandeamento G ocorreu apenas para os pares maiores. Também foram revisados todos os cariótipos das espécies do gênero disponíveis na literatura e os mesmos analisados comparativamente com os nossos dados, a fim de verificar a similaridade e diferenciação das formas entre os indivíduos. A compilação dos cariótipos descritos na literatura e dos obtidos no presente estudo permitiu identificar 11 estruturas cariotípicas, quatro inéditas (Cariótipos A, B, C e E), para seis das 13 espécies reconhecidas em *Phyllomys*, além de resultados inéditos de bandeamento G, C e marcação por Ag-RONs em *P. nigrispinus*, *P. pattoni* e *P. sulinus*. Apesar de serem reconhecidos 11 citótipos, observamos que em *P. pattoni*, *P. nigrispinus* e *P. blainvillii* foram associados mais de um cariótipo para cada espécie, enquanto que para *P. dasythrix*, *P. medius* e *P. sulinus* foram associados apenas um

cariótipo por espécie. Baseado nas diferenças quanto à morfologia, número de cromossomos e os padrões de bandejamento entre os citótipos, propomos que os cariótipos assinalados para *P. blainvilli* devem pertencer a duas unidades taxonômicas distintas, uma com $2n=50/NF=88$ e outro com $2n=50/NF=94$; os cariótipos de *P. pattoni*, devem pertencer a três táxons distintos: um com $2n=72/NF=114$, outro com $2n=76/NF=148$ e um com $2n=80/NF=108$; *P. nigrispinus* com as formas $2n=90$, $91/NF=108$ devido à ocorrência de um polimorfismo intrapopulacional; *P. dasythrix*, com $2n=72/NF=108$ e *P. sulinus*, com $2n=92/NF=102$. Assim, os nossos dados conjuntamente com os existentes na literatura para a família Echimyidae são índicos de que em *Phyllomys* o cariótipo é um marcador espécie-específico e que a identificação de que táxon está associado a cada cariótipo é uma tarefa a ser executada em estudos futuros.

Introdução

Phyllomys Lund, 1839 são representantes dos ratos arbóreos da família Echimyidae encontrados na Mata Atlântica, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, e estão entre os gêneros menos estudados da fauna de mamíferos neotropicais (Leite, 2003). Devido à freqüente confusão taxonômica, principalmente pela falta de diagnoses baseadas em espécimes tipos, seus representantes foram incluídos em gêneros como *Echymys* Cuvier 1809, *Loncheres* Illiger 1811 ou *Nelomys* Jourdan 1837 (Emmons *et al.*, 2002).

Com objetivo de esclarecer a taxonomia de *Phyllomys* e servir de base para futuros estudos sistemáticos, Emmons *et al.* (2002) identificaram os tipos associados a todas as formas descritas dos ratos arbóreos do gênero, designando lectótipos quando holótipos estavam ausentes. Nesse estudo foram indicadas dez espécies para o gênero: *P. blainvillii* (Jourdan, 1837), *P. brasiliensis* Lund, 1840, *P. dasythrix* Hensel, 1872, *P. kerri* (Moojen, 1950), *P. lamarum* (Thomas, 1916), *P. medius* (Thomas, 1909), *P. nigrispinus* (Wagner, 1842), *P. thomasi* (Ihering, 1897), *P. unicolor* (Wagner, 1842), incluindo a descrição de *P. pattoni*.

Posteriormente, no estudo envolvendo morfologia e dados moleculares realizado por Leite (2003) revelou a monofilia do gênero, através das características dentárias únicas que o separa de *Echymys*, e adicionou duas novas espécies: *P. lundi*, *P. mantiqueirensis*. Ainda nesse estudo, Leite (2003) indicou a ocorrência de um táxon novo relacionado com *P. dasythrix* (*P. aff. dasythrix*), mais tarde descrito como *P. sulinus* (Leite *et al.*, 2008), totalizando 13 espécies.

Análises filogenéticas baseadas no gene mitocondrial citocromo b (mtDNA) indicaram dois clados organizados geograficamente: sul (*P. dasythrix*, *P. sulinus*) e nordeste (*P. brasilienses*, *P. blainvillii* e *P. lamarum*), enquanto as demais (*P. lundi*, *P. mantiqueirensis*, *P. nigrispinus* e *P. pattoni*) apresentaram posições filogenéticas incertas.

Dados cariotípicos em *Phyllomys* são escassos, sem descrição formal dos cariótipos, em sua maioria somente com número diplóide (2n), mas sem informação do número de braços autossômicos (NF), da morfologia dos cromossomos e dos padrões de bandeamento. Grande parte dessas informações estão restritas a comunicações pessoais, ou dados não publicados em teses ou dissertações.

Yonenaga-Yassuda (1975) descreveu um cariótipo com $2n=90/NF=108$ para exemplares de São Paulo, e os identificou como *Echimys* sp. Leite (2003) em sua revisão incluiu esses exemplares em *P. aff. dasythrix*. Entretanto, no trabalho de Leite *et al.* (2008) as espécies pertencentes a *P. aff. dasythrix* foram renomeadas como *P. sulinus*, mas os exemplares de Yonenaga-Yassuda (1975) não puderam ser associados a nenhuma espécie pela falta do espécime voucher. Em sua dissertação de doutorado, Souza (1981) descreveu o cariótipo de exemplares de Pernambuco, com $2n=50/NF=94$, e os associou a *P. blainvili*. Leite (2003) também relacionou esses exemplares a *P. blainvili* e ainda mencionou ocorrer o cariótipo com $2n=50$ para exemplares da Bahia, mas sem descrever sua estrutura cariotípica. Sbalqueiro (1988) descreveu o cariótipo com $2n=96/NF=108$ para exemplares de Santa Catarina, e embora o tenha associado à *Echimys dasythrix*, Leite (2003) associou-os a *P. medius*. Zanchin (1988) e Severo (1998) descreveram o cariótipo com $2n=80/NF=114$ para exemplares do Espírito Santo, e Leite (2003) os associou a *P. pattoni*. Leite (2003) mencionou a ocorrência de alguns cariótipos sem detalhamento sobre sua estrutura, baseando-se em comunicações pessoais: $2n=52$ para *P. nigrispinus* do Rio de Janeiro, $2n=72/NF=114$ para *P. pattoni* do Rio de Janeiro e $2n=72$ para *P. dasythrix* do Rio Grande do Sul. Leite *et al.* (2008) descreveram $2n=92/NF=102$ para *P. sulinus*.

Diante desse contexto, verificamos a necessidade da descrição formal de alguns cariótipos, o detalhamento com estudos de bandeamento, a descrição de possíveis polimorfismos intra e interpopulacionais, assim como uma análise comparativa que demonstre a distinção dos cariótipos do gênero e os mecanismos cromossômicos responsáveis pela diversidade cariotípica no grupo. Dessa forma, pretendemos investigar se o cariótipo em *Phyllomys* é um caráter importante para a taxonomia (citotaxonomia) do gênero.

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar o papel do cariótipo como um marcador para distinguir as espécies de *Phyllomys*.

Objetivos específicos

Descrever a diversidade cariotípica em *Phyllomys*.

Identificar possíveis polimorfismos cromossômicos envolvidos na variação dos cariótipos.

Estudar os mecanismos de evolução cariotípica dentro do grupo.

Correlacionar cariótipos com áreas geográficas/ biomas brasileiros.

Associar cariótipos as espécies de *Phyllomys* e verificar se o cariótipo é um caráter importante para a taxonomia (citotaxonomia) do gênero.

Material e Métodos

A presente amostra é composta por 19 exemplares provenientes de 16 localidades da Mata Atlântica, nos estados da Bahia (BA), Espírito Santo (ES), Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e São Paulo (SP) (Tabela 1, Figura 1, Apêndice 1).

As metáfases dos exemplares foram obtidas a partir da preparação direta de medula óssea, após injeção *in vivo* de solução de colchicina 0,1% (1 ml/100 g de peso corporal) por cerca de 40 minutos antes da dissecação. As células foram incubadas em solução de KCl (0,075M) durante 25-30 minutos a 37°C, fixadas em solução Carnoy (metanol/ácido acético 3: 1), pingadas em lâminas e secas ao ar segundo Fagundes (1993). As análises se basearam em coloração comum, padrões de bandeamento G (BG, Seabright, 1971), C (BC, Sumner, 1972), e da coloração das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag- RONS, Howell e Black, 1980).

Foram contadas em média 20 metáfases por indivíduo tanto para o estabelecimento do número diplóide (2n) e do número de braços autossômicos (Número Fundamental, NF) após coloração convencional, como para a identificação dos cromossomos portadores das RONS e suas posições relativas, através da coloração pelo nitrato de prata. As melhores metáfases foram fotografadas e os cariótipos montados no programa Adobe PhotoShop CS3.

Para revisar os dados cromossômicos em *Phyllomys*, cariótipos presentes na literatura foram interpretados comparativamente aos dados do presente estudo para verificar a similaridade e diferenciação das formas entre os indivíduos. O cariótipo do exemplar de Andaraí (BA), retirado de Leite (2003), foi montado com o auxílio do programa Adobe Photoshop CS3, através da fotografia escaneada da publicação.

Por fim, utilizamos o programa Arc View 3.2 para plotar os dados cromossômicos e a distribuição geográfica das formas cariotípicas disponíveis para *Phyllomys*.

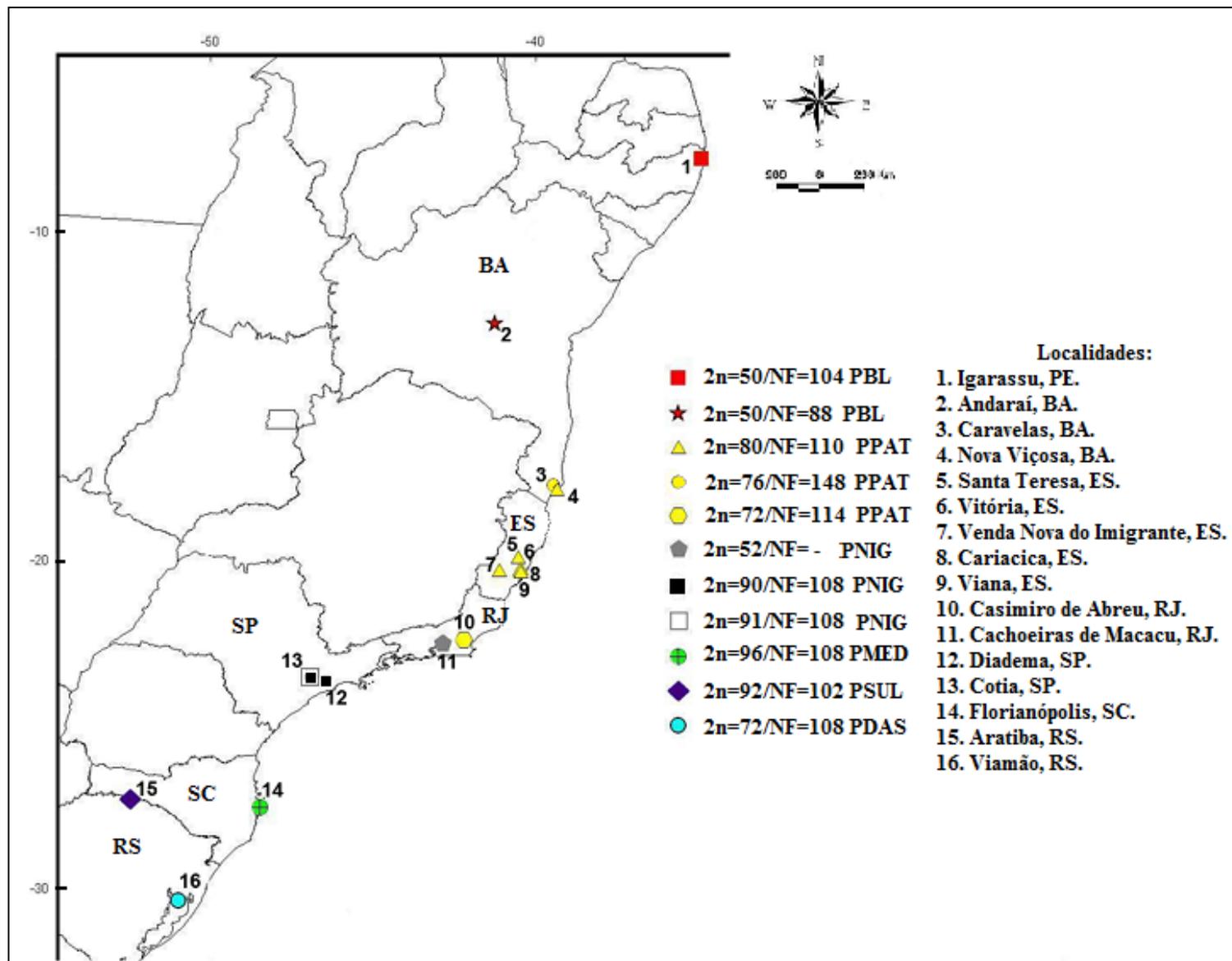


Figura 1: Mapa dos cariótipos e localidades amostrados no presente trabalho.

Legenda. PBL: *Phyllomys blainvillii*, PPAT: *P. pattoni*, PNIG: *P. nigrispinus*, PMED: *P. medius*, PSUL: *P. sulinus* e PDAS: *P. dasythrix*.

Tabela 1: Revisão dos cariótipos de *Phyllomys*, com descrição do número diplóide (2n), número de braços autossômicos (NF), estrutura cariotípica e pares portadores de regiões organizadoras do nucléolo (Ag- RONs).

Cariótipo	2n	NF	Estrutura cariotípica ²	Ag-RONs	Município, Estado	Designado como ⁴	Referências
A	50	88	20m+4a+X ^M +Y ^a	ND	Andaraí, BA	<i>P. blainvillii</i> *	Leite, 2003
	50	94	23m+1a+X ^M +Y ^m	ND	Igarassú, PE	<i>P. blainvillii</i> *	Souza, 1981
	52	ND	ND	ND	Cachoeiras de Macacu, RJ	<i>P. nigrispinus</i> *	Leite, 2003
B	72	108	19m+16a+X ^M +Y ^a	ND	Viamão, RS	<i>P. dasythrix</i> **	Presente estudo
	72	114 ¹	ND	ND	Casimiro de Abreu, RJ	<i>P. pattoni</i> *	Leite, 2003
C	76	148	33m+4a+X ^A +Y ^m	13	Caravelas, BA	<i>P. pattoni</i> **	Presente estudo
D	80	108 ³	15m+24a+X ^A +Y ^a	23	Venda Nova do Imigrante, Vitória, Santa Teresa, Viana, Cariacica, ES; Nova Viçosa, BA	<i>P. pattoni</i> * ^e **	Zanchin, 1988; Severo, 1998; Presente estudo
E	90	108	10m+34a+X ^A +Y ^a	17	Diadema, Cotia, SP	<i>P. aff. dasythrix</i> *, <i>P. nigrispinus</i> [§]	Yonenaga-Yassuda, 1975, presente estudo
F	91	108	9m+(1m)+35a+X ^A +Y ^a	17	Cotia, SP	<i>P. nigrispinus</i> [#]	Presente estudo
G	92	102	6m+39a+X ^A +Y ^m	8	Aratiba, RS	<i>P. sulinus</i>	Leite <i>et al.</i> , 2008
	96	108	7m+40a+X ^A +Y ^A	ND	Florianópolis, SC	<i>P. medius</i> *	Sbalqueiro, 1988

¹Relatado por Leite (2003)..

²m= metacêntrico ou submetacêntricos, a=acrocêntricos ou subtelocêntrico, em maiúsculo grande, em minúsculo pequeno. X= Cromossomo sexual X, Y= Cromossomo sexual Y.

³Descrito por Zanchin (1988) e Severo (1998) com NF=114, porém fizemos a reanálise dos cariótipos.

⁴*Por Leite (2003), ** por Leite, comunicação pessoal, # por Bruno Pinotti (comunicação pessoal), § presente estudo.

ND= Não determinado.

Tabela 2: Comparação citogenética par-a-par, e número mínimo de mudanças cromossômicas que diferenciam os cariótipos de *Phyllomys*.

	2n=50 NF=88	2n=50 NF=94	2n=72 NF=108	2n=76 NF=148	2n=80 NF=108	2n=90 NF=108	2n=91 NF=108	2n=92 NF=102	2n=96 NF=108
2n=50 NF=88	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2n=50 NF=94	5 IP	-	-	-	-	-	-	-	-
2n=72 NF=108	7IP 10FI/FU	7IP 11FI/FU IP do Y	-	-	-	-	-	-	-
2n=76 NF=148	18IP 9FI/FU	23IP 13FI/FU IP do X e Y	3IP 3FI/FU IP do X	-	-	-	-	-	-
2n=80 NF=108	7IP 12FI/FU	6IP 12FI/FU IP do X e Y	2IP 2FI/FU IP do X	19IP 1FI/FU	-	-	-	-	-
2n=90 NF=108	30IP 20FI/FU IP do X	7IP 20FI/FU IP do X e Y	9FI/FU IP do X	16IP 7FI/FU	9FI/FU	-	-	-	-
2n=91 NF=108	31IP 21FI/FU +1FI/FU IP do X	8IP 21FI/FU +1FI/FU IP do X e Y	11IP 9FI/FU +1FI/FU IP do X	16IP, 8FI/FU	3IP 10FI/FU	1FI/FU	-	-	-
2n=92 NF=102	7IP 21FI/FU	4IP 21FI/FU IP do Y	3IP 10FI/FU IP do Y	35IP 8FI/FU IP do X e Y	4IP IP do X e Y	6IP 2FI/FU IP do X	3IP +1FI/FU IP do X	-	-
2n=96 NF=108	10IP 23FI/FU IP do X	5IP 21FI/FU IP do X e Y	12FI/FU IP do X	16IP 10FI/FU	2IP 11FI/FU	3FI/FU	2FI/FU +1FI/FU	3IP 2FI/FU	-

IP= Inversão pericêntrica, FI/FU= Fissão/Fusão cêntrica, X= Cromossomo sexual X, Y= Cromossomo sexual Y. Valores seguidos por letras: número de pares que sofreram mutações.

Resultados

Encontramos sete cariótipos (ou citótipos) em 19 exemplares analisados (Tabela 1), além da interpretação de um cariótipo retirado de Leite (2003) proveniente de Andaraí (BA). Os cariótipos foram nomeados A a G, devido as diferenças quanto o número de cromossomos e/ou estrutura cariotípica.

Cariótipo A: apresentou $2n=50$ cromossomos e $NF=88$, diferenciado em 20 pares autossômicos com dois braços (m, metacêntricos/submetacêntricos) e quatro pares com um braço (a, subtelocêntricos/acrocêntricos). Os cromossomos sexuais são do tipo X metacêntrico grande (M) e o Y acrocêntrico pequeno (a). A fórmula cariotípica é dada por $20m+4a+X^M+Y^a$ (Figura 2a). Esse cariótipo foi reinterpretado a partir da fotografia presente em Leite (2003) para um exemplar macho de Andaraí (BA). A partir do presente estudo foi possível realizar a montagem do cariótipo bem como detalhar a estrutura cariotípica. Análises morfológicas e de mtDNA (Leite, 2003) identificaram esse exemplar como *P. blainvillii*.

Cariótipo B: apresentou $2n=72$ e $NF=108$, organizado em $19m+16a+X^M+Y^a$ (Figura 2b). Este citótipo é inédito e foi encontrado em um exemplar macho de Viamão (RS), identificado como *P. dasythrix* pela análise de mtDNA e morfologia (Leite, 2003).

Cariótipo C: apresentou $2n=76$ e $NF=148$, organizado segundo a fórmula $33m+4a+X^A+Y^m$ (Figura 2c). A heterocromatina constitutiva (HC) é conspícua, localizada exclusivamente na região pericentromérica dos pares metacêntricos 1, 2, 3, 4, 8 e 9 e do cromossomo X; e intersticial proximal no par 33 (Figura 2d). O bandeamento G (BG) mostra bandas bem caracterizadas para os maiores pares (1 a 9 e 33, Figura 2e). As Ag-RONs estão localizadas intersticialmente no braço longo do par 12 (Figura 5a). Esse citótipo é inédito e foi encontrado em um exemplar macho de Caravelas (BA), identificado como *P. pattoni* pela localidade de coleta e morfologia (Y. L. Leite, comunicação pessoal).

Cariótipo D: apresentou $2n=80$ e $NF=108$, organizado em $15m+24a+X^A+Y^a$ (Figura 3a). A HC se organiza em grandes blocos pericentroméricos dos pares

metacêntrico/submetacêntricos 1, 2, 3 e 6; quase todos os acrocêntricos e o cromossomo X. O cromossomo Y é heterocromático (Figura 3b). O padrão de BG foi típico para os cromossomos com dois braços, os grandes acrocêntricos e o X (Figura 3c). O par 24 apresenta constrição secundária no braço longo, coincidente com as Ag-RONs (Figura 5b). Esse cariótipo foi observado em todos os exemplares do Espírito Santo e nas duas fêmeas de Nova Viçosa (BA), identificados como *P. pattoni* através da análise morfológica e pela localidade de coleta (Y. L. Leite, comunicação pessoal).

Cariótipo E: apresentou $2n=90$ e $NF=108$, organizado em $10m+34a+X^A+Y^a$ (Figura 3d). A HC se distribui em pequenos blocos centroméricos de todos os pares. O cromossomo X apresentou marcação pericentromérica e intersticial no braço longo (Figura 3e). O padrão de BG foi típico para os pares com dois braços, os grandes acrocêntricos e o X (Figura 3f). O par 17 apresenta constrição secundária no braço longo, coincidente com as Ag-RONs (Figura 5c). Esse cariótipo foi encontrado em dois exemplares (um macho e uma fêmea) de Cotia (SP), identificados como *P. nigrispinus* através da análise morfológica e pela localidade de coleta (B. Pinotti, comunicação pessoal).

Cariótipo F: apresentou $2n=91$ e $NF=108$, diferenciado em nove pares com dois braços (m), um único metacêntrico de tamanho distinto dos demais com dois braços e 35 pares com um braço (a). Os cromossomos sexuais são do tipo X acrocêntrico grande (A) e o Y acrocêntrico pequeno (a). A fórmula cariotípica é dada por $9m+(1m)+35a+X^A+Y^a$ (Figura 4a). A HC se organiza em pequenos blocos centroméricos por todos os pares. O X apresentou marcação pericentromérica e intersticial no braço longo (Figura 4b). O padrão de BG foi típico para os pares com dois braços, os grandes acrocêntricos e o X (Figura 4c). O par 17 apresenta constrição secundária no braço longo, coincidente com as Ag-RONs (Figura 5d). Esse cariótipo é inédito e foi observado em um macho de Cotia (SP), identificado como *P. nigrispinus* pela análise morfológica e pela localidade de coleta (B. Pinotti, comunicação pessoal).

Cariótipo G: apresentou $2n=92$ e $NF=102$ organizado segundo a fórmula $6m+39a+X^A+Y^m$ (Figura 4d). O par 8 apresenta constrição secundária no braço longo, coincidente com as Ag-RONs (Figura 5e). Esse cariótipo foi encontrado em um macho de Aratiba (RS), identificado por Leite *et al.* (2008) como *P. dasythrix*.

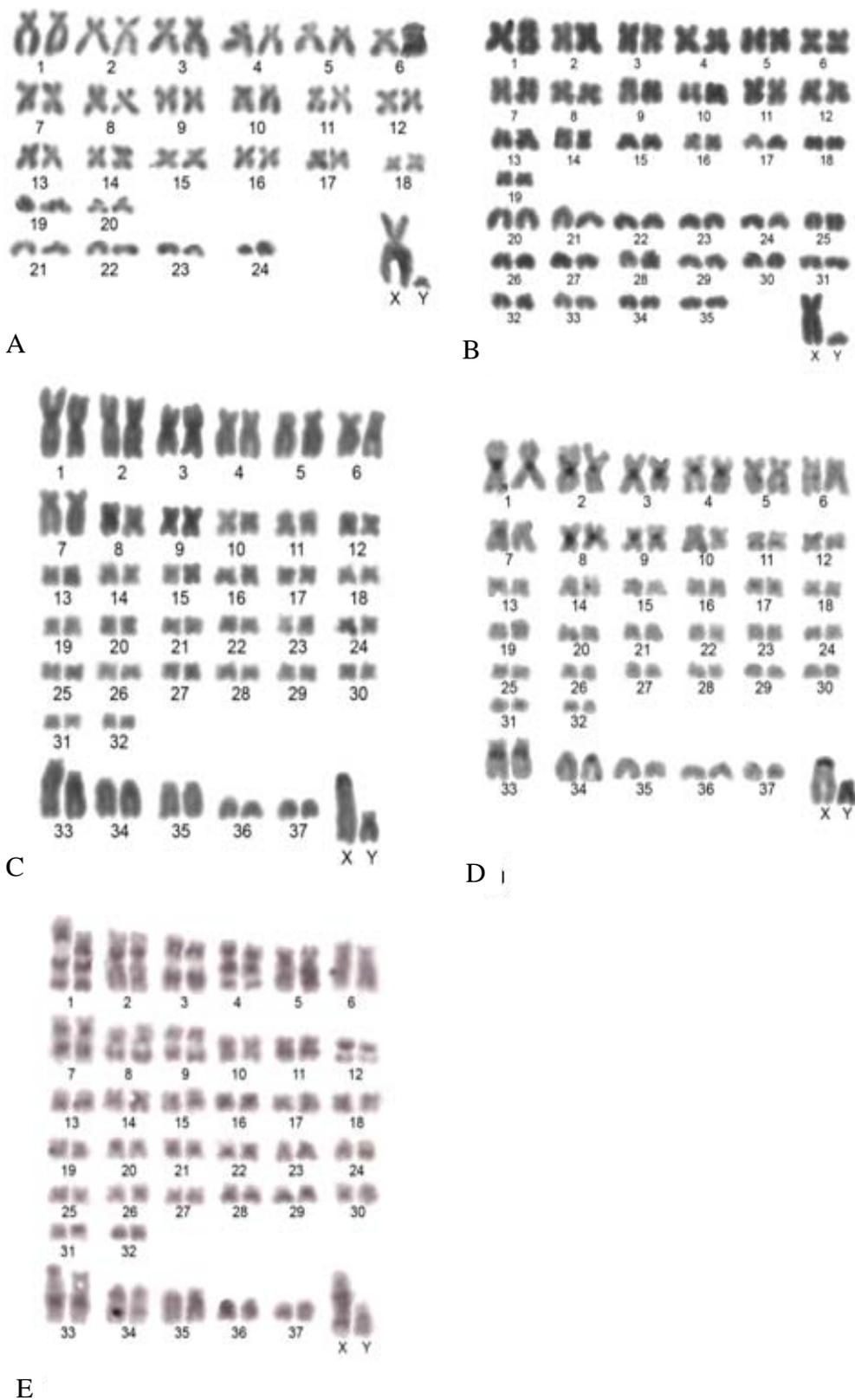


Figura 2: Cariótipos de *Phyllomys*. A) Cariótipo A, $2n=50/NF=88$. B) Cariótipo B, $2n=72/NF=108$. C-E) Cariótipo C, $2n=76/NF=148$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente.

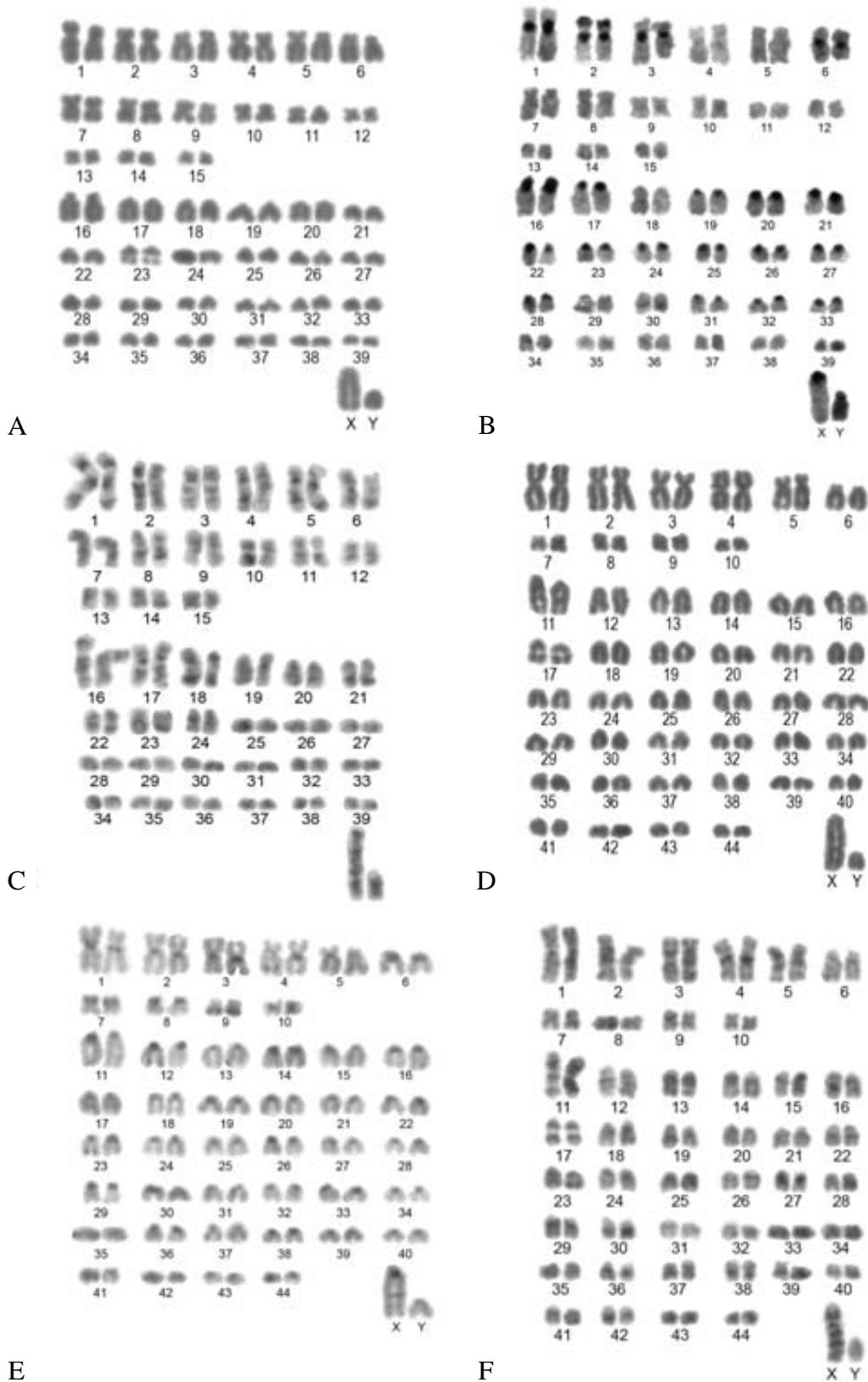


Figura 3: Cariótipos de *Phyllomys*. A-C) Cariótipo D, $2n=80/NF=108$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente. D-F) Cariótipo E, $2n=90/NF=108$ em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente.

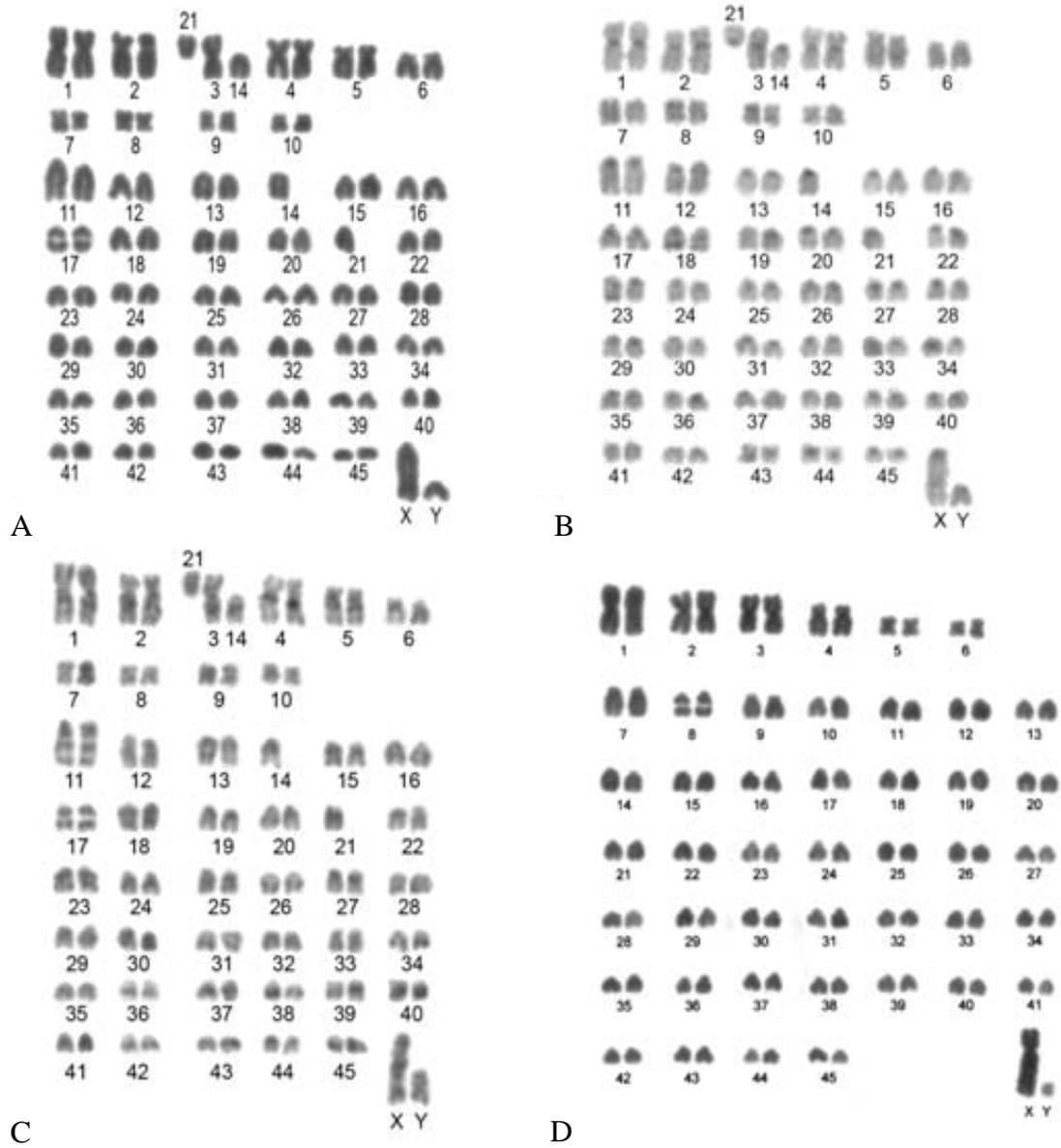


Figura 4: Cariótipos de *Phyllomys*. A-C) Cariótipo F, $2n=91/NF=108$, em coloração comum, bandeamento C e G, respectivamente. D) Cariótipo G, $2n=92/NF=102$, em coloração comum (Retirado de Leite *et al.*, 2008).

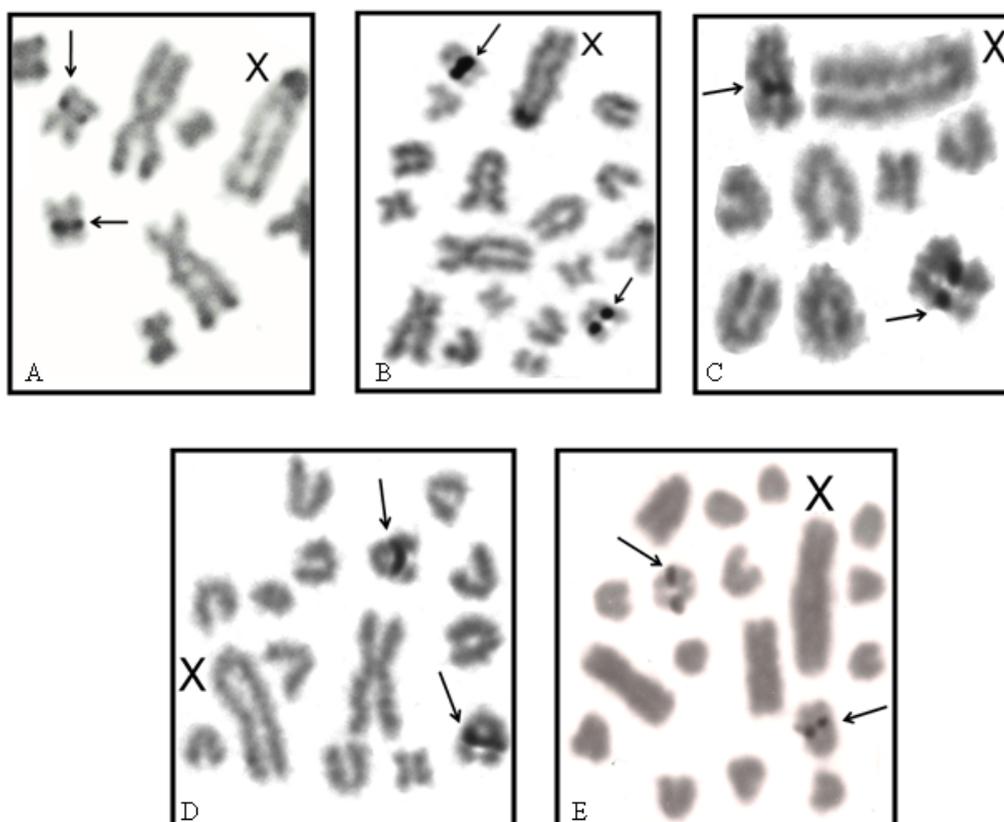


Figura 5: Cariótipos de *Phyllomys* com marcação pelas Ag-RONs. A) Cariótipo C, $2n=76/NF=148$. B) Cariótipo D, $2n=80/NF=108$. C) Cariótipo E, $2n=90/NF=108$. D) Cariótipo F, $2n=91/NF=108$. E) Cariótipo G, $2n=92/NF=102$.

Discussão

Citogenética comparativa em *Phyllomys*

A compilação dos cariótipos descritos na literatura e dos obtidos no presente estudo permitiu identificar um total de 11 estruturas cariotípicas, sendo quatro inéditas (Cariótipos A, B, C e E), mesmo baseadas somente em coloração comum (Tabela 1). Com os dados do presente trabalho associados aos da literatura, determinamos cariótipos a seis das 13 espécies reconhecidas para *Phyllomys*, além de resultados inéditos de bandeamento G, C e marcação por Ag-RONs em *P. nigrispinus*, *P. pattoni* e *P. sulinus*.

Embora 11 citótipos tenham sido detectados, observamos que em algumas espécies associou-se mais de um cariótipo (*P. pattoni*: $2n=72/NF=114$, $2n=76/NF=148$ e $2n=80/NF=108$; *P. nigrispinus*: $2n=52$, $2n=90/NF=108$ e $2n=91/NF=108$ e *P. blainvillii*: $2n=50/88$, $2n=50/NF=94$) enquanto outras foram relacionadas a apenas um cariótipo (*P. dasythrix*: $2n=72/NF=108$; *P. medius*: $2n=96/NF=108$ e *P. sulinus*: $2n=92/NF=102$).

A fim de verificar a semelhança entre os cariótipos realizamos uma comparação entre as colorações convencionais, padrões de bandeamento C, G e marcações pelas Ag-RONs. Devido ao número diplóide alto e os padrões de BG serem melhores caracterizados nos maiores pares, não foi possível utilizar os pequenos pares nessa análise.

Phyllomys blainvillii

A esta espécie associou-se dois cariótipos, $2n=50/NF=88$ (citótipo A do presente estudo, Figura 2A) para o estado da Bahia e $2n=50/NF=94$ (Souza, 1981) para Pernambuco. As diferenças entre os citótipos consistem na presença de um par acrocêntrico grande em $NF=94$ (par 3) ausente em $NF=88$, na morfologia do cromossomo Y (acrocêntrico pequeno em $NF=88$ e submetacêntrico médio na forma com $NF=94$) e presença de três pares metacêntricos/submetacêntricos ($NF=88$) que não ocorrem no cariótipo com $NF=94$. Essas diferenças cromossômicas podem ser explicadas por, no mínimo, cinco inversões pericêntricas (IP) (Tabela 2).

Os padrões de BC e RON poderiam oferecer subsídios para uma maior distinção entre os citótipos, porém, por se tratar de informações publicadas somente em coloração comum por Leite (2003) e Souza (1981) não há muitas informações adicionais.

Considerando a distância geográfica entre $2n=50/NF=88$ (Andaraí, BA) e $2n=50/NF=94$ (Igarassú, PE) e o número de rearranjos diferenciando as formas, possivelmente se tratam de dois táxons distintos.

No estudo realizado por Leite (2003) foram observados dois clados distintos com alto suporte dentro de *P. blainvilli*: um clado sul, formado por exemplares de Andaraí (BA, presente estudo, $2n=50/NF=88$) e de Mocambinho (MG, sem dados citogenéticos) e outro clado norte, formado por exemplares de Chapada do Araripe (CE), sem dados cromossômicos. Pela proximidade geográfica, seria razoável sugerir que a forma $2n=50/NF=94$ (Igarassú, PE) estaria provavelmente associada ao clado norte. Estudos adicionais devem ser realizados para elucidar essa questão.

Phyllomys dasythrix

Encontramos o citótipo $2n=72/NF=108$ (Figura 2B) para a localidade de Viamão (Rio Grande do Sul). Esse número diplóide havia sido citado por Leite (2003), e no presente estudo foi possível determinar o número fundamental bem como a morfologia, estrutura e padronização do cariótipo.

De acordo com o levantamento da literatura observamos a existência de uma forma com $2n=72$ relatada em Leite (2003) para o estado do Rio de Janeiro (associado a *P. pattoni*) possuindo número fundamental igual a 114.

Não podemos afirmar sobre semelhanças e diferenças em relação à morfologia e tamanho dos cromossomos entre as formas devido a falta de dados sobre o $2n=72/NF=114$. Entretanto, baseado nos dados da literatura e na distribuição geográfica disjunta das formas com $2n=72/NF=108$ do Rio Grande do Sul e $2n=72/NF=114$ no Rio de Janeiro, nossos dados corroboram com os de Leite (2003) por associar as formas cariotípicas a espécies distintas.

Phyllomys pattoni

A esse táxon são associados três citótipos: $2n=72/NF=114$ (citado por Leite, 2003; sem descrição do cariótipo) do Rio de Janeiro, $2n=76/NF=148$ da Bahia (Cariótipo C) e $2n=80/NF=108$ da Bahia e Espírito Santo (Cariótipo D). As formas cariotípicas são distintas tanto no número diplóide quanto no número fundamental, diferenças essas observadas em coloração comum, marcação do bandeamento C e na posição das Ag-RONs.

Com relação ao cariótipo de $2n=72/NF=114$ (Leite, 2003) não há informações quanto à composição do mesmo em relação à morfologia e tamanho dos pares cromossômicos, impossibilitando a comparação com outras formas.

No presente estudo, registramos o citótipo $2n=80/NF=108$ nas localidades de Vitória, Santa Teresa, Viana e Cariacica (ES) e Nova Viçosa (BA). Esse conjunto cromossômico é idêntico ao de Zanchin (1988) de Venda Nova do Imigrante (ES) quanto à morfologia e tamanho dos pares, o padrão de BC e a marcação pelas Ag-RONs. Embora Zanchin (1988) tenha descrito o NF como 114, a reinterpretação desse cariótipo permitiu fazer uma correspondência total com a forma com NF=108. Justificamos que o equívoco na interpretação e classificação dos pequenos pares é comum, e devido à alta compactação dos cromossomos apresentados por Zanchin (1988). Assim, baseado em cariótipos menos compactados e comparando com o citótipo apresentado por Zanchin (1988) não verificamos distinções entre as formas, e atribuímos NF=108 a esses exemplares. Ainda em Zanchin (1988), não foi possível distinguir com precisão a forma dos cromossomos sexuais uma vez que em seu estudo foi analisada somente uma fêmea, mas definidos agora com os nossos dados, devido ao maior número amostral e pela presença de espécimes de ambos os sexos.

Ao compararmos as formas $2n=76/NF=148$ (BA, Figura 2C) e $2n=80/NF=108$ (BA e ES, Figura 3A), observamos que os mesmos diferem entre si pela presença de 32 pares autossômicos metacêntricos/submetacêntricos em $2n=76$ e 15 pares autossômicos metacêntricos/submetacêntricos em $2n=80$, cinco pares acrocêntricos/subtelocêntricos em $2n=76$ incluindo a presença de dois pares acrocêntricos grandes (pares 33 e 34) somente nesse citótipo e 24 pares acrocêntricos/subtelocêntricos em $2n=80$ além de um cromossomo médio (par 23) com constrição secundária exclusivo desse cariótipo. A morfologia e o tamanho dos pares 1-15 apresentam semelhanças entre as formas cariotípicas, sendo metacêntricos/submetacêntricos com variação gradativa de tamanho enquanto os demais cromossomos são distintos. O cromossomo Y na forma $2n=80$ é

acrocêntrico pequeno enquanto no $2n=76$ é submetacêntrico médio. Essas diferenças podem ser explicadas por no mínimo 19 IP e uma FI/FU (Tabela 2).

Outras diferenças são observadas no padrão de BC, com marcação pericentromérica conspícua em seis pares metacêntricos e no X, além da presença de um bloco intersticial proximal no par 33 no citótipo de $2n=76$ (Figura 2D). Em $2n=80$ a marcação foi de grandes blocos pericentroméricos em quatro pares metacêntricos/submetacêntricos e em quase todos os acrocêntricos e no cromossomo X, sendo o Y heterocromático (Figura 3B). Observamos ainda que a marcação pelas Ag-RONs (Figura 5B) em ambos citótipos foi em apenas um par de cromossomos mas diferenciado quanto os pares marcados: metacêntrico médio 12 ($2n=76$) (Figura 5A) e acrocêntrico médio 23 ($2n=80$) (Figura 5B).

Devido ao grande número de rearranjos entre os dois citótipos e as diferenças observadas nos bandeamentos é improvável a compatibilidade das formas cariotípicas na formação de um possível zigoto, caso essas formas venham a se intercruzar (simpatria no sul da Bahia). Assim, não consideramos esses dois citótipos como um polimorfismo dentro da espécie.

Phyllomys nigrispinus

Foram associados três citótipos à *Phyllomys nigrispinus*: $2n=52$, sem NF definido (Leite, 2003) para o Rio de Janeiro, $2n=90/NF=108$ (Cariótipo E) e $2n=91/NF=108$ (Cariótipo F) para São Paulo.

Com relação ao cariótipo de $2n=52$ (Leite, 2003) não há informações quanto à composição do mesmo em relação à morfologia e tamanho dos pares cromossômicos o que impede a comparação com outras formas.

Os cariótipos de $2n=90/NF=108$ (Figura 3D) e $2n=91/NF=108$ (Figura 4A)) foram coletados na mesma localidade (Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, São Paulo) e apresentam a mesma estrutura cariotípica, morfologia e tamanho dos pares, padrão de BC (Figura 3E e 3B, respectivamente) e BG (Figura 3F e 3C, respectivamente), além de um único par com marcação pela Ag-RONs (par 17 em ambos, Figura 3C e 3D), mas diferem quanto ao número de cromossomos. Na forma $2n=91$ existe um metacêntrico grande e dois acrocêntricos distintos, enquanto que a forma $2n=90$ apresenta um par de metacêntricos (par 3), e não há acrocêntricos correspondentes individuais ou em pares. A diferença entre $2n=90$ e $2n=91$ pode ser explicada por um evento de fusão/fissão cêntrica (FU/FI) de dois acrocêntricos médios,

originando o metacêntrico grande (cromossomo 3). Considerando a simpatria das formas e a similaridade cariotípica sugerimos que as forma $2n=91$ se trata de uma variante polimórfica na espécie.

A forma $2n=90/NF=108$ do nosso estudo é idêntica à previamente descrita por Yonenaga-Yassuda (1975) para a localidade de Casa Grande (Diadema, São Paulo), inicialmente associada a *P. aff. dasythrix* por Leite (2003). Na ocasião, a autora não pode descrever as formas dos cromossomos sexuais devido à ausência de exemplares machos. No estudo de Leite *et al.* (2008), não foi possível relacionar o exemplar $2n=90$ (*P. aff. dasythrix*) a *P. sulinus* ($2n=92$). Dessa forma acreditamos que o cariótipo de Yonenaga-Yassuda (1975) é o mesmo pelo qual associamos a *P. nigrispinus*.

Phyllomys sulinus

O citótipo $2n=92/NF=102$ (Cariótipo G, Figura 4D) designado por Leite *et al.* (2008) a *Phyllomys sulinus* para Aratiba (RS) é o mesmo exemplar da nossa amostra. Comparando com os citótipos disponíveis na literatura e do presente trabalho, percebemos que as formas $2n=90$ e 91 são próximas quanto ao número diplóide de *P. sulinus* ($2n=92$). Ao realizarmos uma análise comparativa entre as três formas ($2n=90$, 91 e 92) observamos várias diferenças envolvendo à morfologia entre os pares autossômicos e quanto ao número fundamental dos mesmos. Os pares metacêntricos/submetacêntricos 4, 6, 7, 8 e 11 de $2n=90-91$ não estão presentes em $2n=92$. O conjunto $2n=92$ possui 39 pares de acrocêntricos enquanto o $2n=90-91$ apresenta 34-35 pares de cromossomos acrocêntricos, além do cromossomo X ser acrocêntrico grande e o Y acrocêntrico pequeno, e na forma $2n=92$ o cromossomo X é subtlocêntrico grande e o Y metacêntrico pequeno. Além dessas diferenças, a marcação pelas Ag-RONs ocorreu em pares distintos sendo no par 17 em $2n=90-91$ (Figura 5C e 5D) e no par oito em $2n=92$ (Figura 5E).

A diferença entre $2n=90$ e $2n=92$ pode ser explicada por no mínimo seis IP e duas FU/FI e entre $2n=91$ e $2n=92$ o mínimo de três IP e uma FU/FI (Tabela 2). Associando aos dados a distribuição geográfica das formas ($2n=90$, 91 - São Paulo e $2n=92$ - Rio Grande do Sul), consideramos que essas diferenças não são polimorfismos interpopulacionais, mas se tratam de cariótipos e espécies distintas, corroborando com os dados da literatura.

O papel dos rearranjos cromossômicos na especiação

Cariótipos não são estruturas rigidamente estáveis e em praticamente todas as espécies são encontradas variações cromossômicas que, ao se acumularem, reduzem a fertilidade do híbrido, devido à formação de gametas geneticamente desequilibrados. Dessa forma, as espécies se tornam reprodutivamente isoladas, princípio esse básico no processo de especiação, segundo o conceito biológico de espécie.

Espécies biológicas são grupos que de fato ou potencialmente inter cruzam em populações naturais os quais são reprodutivamente isoladas de outros grupos e assim serão diferenciados geneticamente por não trocarem genes entre si. Se duas populações pertencem a espécies biológicas diferentes, existe o isolamento reprodutivo ocasionado por diferentes barreiras reprodutivas. As barreiras podem ser pré-zigóticas (antes da formação do zigoto) ou pós-zigóticas (após a formação do zigoto). O cariótipo de modo geral atua como uma barreira pré-zigótica, com a incompatibilidade de gametas se unirem e sofrerem divisões celulares normais, ou pós-zigóticas, quando os híbridos gerados possuem problemas na segregação dos cromossomos e na formação de seus gametas e assim são inférteis (Barton e Hewitt, 1985).

Estudos citogenéticos em roedores mostram uma grande complexidade de rearranjos responsáveis pelos polimorfismos e diferenciações cariotípicas entre as espécies relacionadas existindo amplas evidências que os rearranjos cromossômicos reduzem a fertilidade do indivíduo heterozigoto sugerindo que as alterações cromossômicas exercem um papel importante na especiação (Borondin *et al.*, 2006; Castiglia *et al.*, 2006).

Os tipos de rearranjos estruturais predominantes em populações naturais de roedores são as fusões/fissões cêntricas (ou rearranjos robertsonianos) resultantes da fusão de dois cromossomos acrocêntricos na região centromérica, originando um cromossomo metacêntrico/submetacêntrico e o processo inverso para a fissão cêntrica, sendo responsáveis por alterar o número diplóide; e as inversões pericêntricas, que ocorrem devido ao rompimento em dois pontos do cromossomo e sua reorganização de forma invertida (contendo o centrômero) ocasionando a mudança no número fundamental do conjunto cromossômico (Souza, 1981; Patton e Sherwood, 1983; Leal-Mesquita *et al.*, 1993; Qumsiyeh, 1994; Ananina *et al.*, 2004; Freygang, 2004). Esses rearranjos quando em heterozigose podem causar segregação incorreta dos cromossomos nas divisões I e II da meiose dos indivíduos heterozigotos, produzindo

aneuploidias, duplicações e deleções podendo até mesmo de impedir a meiose (King, 1993).

Rearranjos do tipo fusões/fissões robertsonianas foram diagnosticados como responsáveis no processo de especiação no gênero *Mus*. As espécies *Mus poschiavanus* ($2n=22$) e *M. musculus* ($2n=40$) possuem mesmo número de braços autossômicos (NF=40) e poucas diferenças morfológicas, são basicamente diferenciadas pela composição cariotípica. Estudos de bandeamento mostraram que cada cromossomo metacêntrico da forma $2n=22$ é homólogo a dois cromossomos acrocêntricos do citótipo $2n=40$. Embora haja completa correspondência entre os cromossomos, os rearranjos do tipo fusões/fissões parecem ter sido responsáveis pelo processo de diferenciação entre as espécies (Gibson, 1984).

As inversões pericêntricas foram observadas entre as espécies *Isothrix negrensis* e *I. bistriata*, pertencentes à família Echimyidae. Ambas possuem o mesmo número diplóide ($2n=60$), mas diferem quanto ao número fundamental (NF=112 em *I. negrensis* e NF=116 para *I. bistriata*), devido à ocorrência de inversão pericêntrica em dois pares de autossomos (Bonvicino *et al.*, 2003). Nesse caso, não há possibilidade de afirmar que os rearranjos foram responsáveis pelo isolamento reprodutivo e que exerceram um papel importante na diferenciação das espécies, mas estão associados a duas espécies distintas.

Os ratos do complexo *Proechimys guairae* da Venezuela eram representados por apenas duas espécies e quatro subespécies, principalmente pela dificuldade de serem diferenciados com base nos caracteres morfológicos (Reig *et al.*, 1980). Seis formas cariotípicas foram associadas ao grupo: $2n=42$, $2n=44$, $2n=46$, $2n=48$, $2n=50$ e $2n=62$, com cada citótipo relacionado a uma espécie/subespécie. Os complementos são diferenciados por simples ou múltiplos rearranjos robertsonianos e também por inversões pericêntricas, sugerindo que as mudanças cromossômicas parecem atuar como mecanismo de isolamento pós-zigótico entre as espécies (King, 1993).

No entanto, em alguns casos, os rearranjos robertsonianos e as inversões pericêntricas parecem não atuar como mecanismos de isolamento reprodutivo e tais rearranjos ocorrem na população como polimorfismos. Um exemplo disso ocorre na espécie de roedor neotropical *Oligoryzomys nigripes* que apresenta polimorfismo inter e intrapopulacional devido a inversões pericêntricas em quatro pares autossômicos (Paresque *et al.*, 2007). Outro exemplo ocorre em *Cerradomys langguthi* que apresenta as formas $2n=46$, $48-50$ e NF=56 em simpatria no estado de Pernambuco, justificada

por um polimorfismo devido a rearranjos do tipo fusão/fissão cêntrica (Maia e Hulak, 1981).

Em 1991, Mayr e Aishlock apontavam que o estudo de diferentes aspectos dos cromossomos pode ser usado para a comparação de espécies estreitamente relacionadas e, portanto, na determinação de linhagens filogenéticas.

Assim, nas últimas décadas, análises detalhadas da variação cromossômica foram úteis na resolução de alguns problemas taxonômicos e no esclarecimento das relações filogenéticas entre diferentes táxons, difíceis de serem resolvidos baseando-se exclusivamente em caracteres morfológicos. Análises cariológicas e morfológicas foram utilizadas com sucesso para esclarecer o status taxonômico de algumas espécies de roedores sigmodontinos ou para o reconhecimento de novas espécies (Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1975; Bonvicino e Geise, 1995; Geise *et al.*, 1998; Musser *et al.*, 1998; Aniskin, 1999; Weksler, 1999; Langguth e Bonvicino, 2002; Andrade, 2003; Bonvicino e Geise, 2006; Paresque *et al.*, 2009).

Um exemplo são os estudos com os roedores *Akodon cursor* e *A. montensis* que não apresentam diferenciação morfológica, mas são distintos cromossômicamente (*A. cursor* $2n=14, 15, 16$; Yonenaga-Yassuda, 1972; Yonenaga-Yassuda, 1979; Maia e Langguth, 1981; Sbalqueiro e Nascimento, 1996; Fagundes *et al.*, 1998; e *A. montensis* $2n=24, 25$; Liascovich e Reig, 1989). Em Iguape (SP), *A. cursor* e *A. montensis* ocorrem simpatricamente e foram coletados híbridos naturais entre essas duas espécies, com cariótipo $2n=19$ (Fagundes, 1997). Esse citótipo também foi obtido por cruzamento em laboratório entre ambas espécies, e representa a soma dos lotes haplóides ($n=7$ e $n=12$) dos parentais *A. cursor* ($2n=14$) e *A. montensis* ($2n=24$). Tais híbridos mostraram-se estéreis pela análise da formação de células meióticas (Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1975) o que comprova a distinção entre as espécies.

Entretanto, a variação cromossômica dentro de *A. cursor* ($2n=14, 15$ e 16) foi definida como um polimorfismo, uma vez que em estudos meióticos observou-se a segregação balanceada dos cromossomos durante a divisão celular, sem gerar problemas reprodutivos no heterozigoto ($2n=15$) (Yonenaga-Yassuda, 1979; Sbalqueiro e Nascimento, 1996; Fagundes *et al.*, 1998). Outro fator que dá suporte à condição polimórfica em *A. cursor* é a presença de uma distribuição clinal geográfica das freqüências cariotípicas (Fagundes *et al.*, 1998).

Dentro da família Echimyidae também existe um exemplo semelhante no gênero *Thrichomys*. Todos os táxons do gênero mostram pouca variação morfológica e foi

considerado por muitos anos como monoespecífico (Woods, 1993). Baseado em evidências citogenéticas, foram sugeridas algumas espécies e subespécies que apresentaram divergências cromossômicas entre os táxons, com *Trichomys pachyurus* ($2n=34$) diferindo de *T. apereoides laurentius* ($2n=30$) e de *T. a. apereoides* ($2n=28$) por uma série de rearranjos cromossômicos (Bonvicino *et al.*, 2002; Pessoa *et al.*, 2004). Esses dados foram os indícios para a investigação da possível separação das espécies no gênero, confirmadas mais tarde por estudos de análise geométrica multidimensional da forma craniana e estudos moleculares revelando uma divergência entre as espécies de 7-8% (*T. pachyurus* e as duas subespécies de *T. apereoides*) e 4-5% (*T. apereoides laurentius* e *T. a. apereoides*).

Podemos observar ainda que em outras espécies da família Echimyidae (ex. *Proechimys*, *Trinomys*) é incomum a presença de polimorfismos intra-específicos, sendo o cariótipo bastante conservado dentro das espécies. Nos casos em que mais de um cariótipo estava associado a um táxon, de modo geral, novas espécies foram descritas, sugerindo que nessa família há uma forte tendência à ocorrência de cariótipos espécie-específicos. (Bonvicino *et al.*, 2002; Corrêa *et al.*, 2005; Pessoa *et al.*, 2005).

Recentemente, em *Phyllomys*, Leite *et al.* (2008) descreveram a espécie *P. sulinus* destacando o importante papel que o cromossomo deve ter desempenhado na especiação, uma vez que esta espécie é similar genética (divergência genética de 2,7 %) e morfológica a *P. dasythrix*, mas cromossomicamente distinta (*P. sulinus* $2n=92$ e *P. dasythrix* $2n=72$).

Em nossos dados, encontramos duas formas cariotípicas associadas à espécie designada *P. pattoni*: $2n=76/NF=148$ (BA) e $2n=80/NF=108$ (BA e ES). Analisando os citótipos observamos diferenças no número e forma dos cromossomos, nas distintas marcações das regiões de heterocromatina e nos pares distintos pelas marcações das Ag-RONs ($2n=76$: par 13 e $2n=80$: par 23). Diante dessas evidências acreditamos que as diferenças entre $2n=76$ e $2n=80$ não podem ser explicadas como um polimorfismo dentro da espécie, visto que o número de rearranjos entre os mesmos é alto (19IP e 1FIFU; Tabela 2) sugerindo a incompatibilidade dos cariótipos na formação do zigoto na fusão de dois gametas, sejam $n=38$ ($2n=76$) e $n=40$ ($2n=80$), gerando problemas meióticos pela incapacidade de formação de bivalentes ou trivalentes que segreguem corretamente. Além disso, outra evidência a favor de espécies distintas e não cariótipos polimórficos é o fato de não serem observados cariótipos intermediários. É importante também destacar a presença de cariótipos espécie-específicos com pouca variação

dentro da Família Echimyidae, como nos casos de *Thrichomys* (Borodin *et al.*, 2006), *Proechimys* (Machado *et al.*, 2005) e *Trinomys* (Pessoa *et al.*, 2005), reforçando a hipótese de que cada carioforma é uma unidade taxonômica distinta com similaridade morfológica, possivelmente tratando-se de espécies crípticas.

No caso das formas cariotípicas designadas como *P. nigrispinus* encontramos $2n=90/NF=108$ e $2n=91/NF=108$. A diferença apresentada entre os citótipos com $2n=90$ e $2n=91$ pode ser explicada como um polimorfismo dentro da espécie, através da fissão/fusão em um cromossomo metacêntrico/acrocêntrico. Esses citótipos apresentaram ainda em comum o mesmo padrão das regiões heterocromáticas e dos pares marcados pela coloração das Ag- RONS (par 17). Apesar do número cromossômico das formas $2n=90/91$ (*P. nigrispinus*) serem aparentemente próximas da forma $2n=92$ (*P. sulinus*), observamos que o conjunto cariotípico e os pares marcados pelas Ag-RONS são distintos (par 17: $2n=90/91$ e par oito: $2n=92$). Possivelmente um híbrido entre esses indivíduos apresentaria problemas meióticos relacionados ao incorreto pareamento cromossômico, resultando em infertilidade e assim a incompatibilidade cariotípica se caracteriza como um mecanismo de isolamento reprodutivo entre as formas. Aliado a esse fator está a distribuição geográfica disjunta, com ocorrência do $2n=90/91$ em São Paulo e $2n=92$ no Rio Grande do Sul. Assim, consideramos o citótipo $2n=90/91$ um polimorfismo pertencente a *P. nigrispinus* e a forma $2n=92$ associada a *P. sulinus*.

Esses dados em conjunto com os demais existentes para a família Echimyidae são indícios de que o cariótipo é uma ferramenta no auxílio da distinção dos táxons dentro de *Phyllomys*.

Assim, propomos a seguinte organização entre cariótipos e espécies: os cariótipos assinalados para *P. blainvilli* devem pertencer a duas unidades taxonômicas distintas, uma com $2n=50/NF=88$ e outro com $2n=50/NF=94$; os cariótipos de *P. pattoni*, devem pertencer a três táxons distintos: um com $2n=72/NF=114$, outro com $2n=76/NF=148$ e um com $2n=80/NF=108$; *P. nigrispinus* com $2n=90, 91/NF=108$; *P. dasythrix*, com $2n=72/NF=108$ e *P. sulinus*, com $2n=92/NF=102$. A identificação de que táxon está associado a cada cariótipo é uma tarefa a ser executada em estudos futuros.

Referências Bibliográficas

- Ananina G, Peixoto AA, Bitner-Mathé BC, Souza WN, Silva LB, Valente VLS e Klaczko LB (2004). Chromosomal inversion polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: seasonal, altitudinal, and latitudinal variation. *Genetics and Molecular Biology* 27:61-69.
- Andrade AFB e Bonvicino C (2003) A new karyological variant of *Oecomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationship based on molecular data. *Genome* 46:195-203.
- Aniskin VM e Volobouev VT (1999) Comparative chromosome banding of two South-American species of rice rats of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae). *Chromosome Research* 7:557-562.
- Barton NH e Hewitt GM (1985) Analysis of Hybrid Zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:113-148.
- Bonvicino CR e Geise L (1995) Taxonomic status of *Delomys dorsalis collinus* Thomas, 1917 (Rodentia, Cricetidae) and description of a new karyotype. *Zeitschrift fur Saugertierkunde* 60:124-127.
- Bonvicino CR, Otazu IB e D'Andrea PS (2002) Karyologic evidence of diversification of the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). *Cytogenetic Genome Research* 97:200-204.
- Bonvicino CR, De Menezes A e Oliveira JA (2003) Molecular and karyologic variation in the genus *Isothrix* (Rodentia, Echimyidae). *Hereditas* 139:206-211.
- Bonvicino CR e Geise L (2006) Relevância dos estudos cariológicos na taxonomia de alguns gêneros de Oryzomyini (Rodentia, Sigmodontinae). In: Freitas TRO, Vieira E, Pacheco S, Christoff A (Org.). *Mamíferos do Brasil: genética, sistemática, ecologia e conservação*. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora.
- Borodin PM, Barreiros-Gomez SC, Zhelezova AI, Bonvicino CR e D'Andrea PS (2006) Reproductive isolation due to the genetic incompatibilities between *Thrichomys pachyurus* and subspecies of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). *Genome* 49:159-167.
- Castiglia R, Garagna S, Merico V, Oguge N e Corti M (2006) Cytogenetics of a new cytotype of African *Mus* (subgenus *Nannomys*) *minutoides* (Rodentia, Muridae) from Kenya: C- and G- banding and distribution of (TTAGGG)_n telomeric sequences. *Chromosome Research* 14:587-594.

- Corrêa MMO, Lopes MOG, Câmara EVC, Oliveira LC e Pessoa LM (2005) The karyotypes of *Trynomys moojeni* (Pessoa, Oliveira & Reis, 1992) and *Trynomys setosus elegans* (Lund, 1841) (Rodentia, Echimyidae) from Minas Gerais, eastern Brazil. *Arquivos do Museu Nacional* 63:169-174.
- Emmons LH, Leite YLR, Kock D e Costa LP (2002) A review of the named forms of *Phyllomys* (Rodentia: Echimyidae) with the description of a new species from coastal Brazil. *American Museum Novitates* 3380:1-40.
- Fagundes V (1997) Contribuição da Citogenética Molecular no entendimento da evolução cromossômica no gênero *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Fagundes V, Christoff AU e Yonenaga-Yassuda Y (1998) Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the smallest diploid number in rodents ($2n=16, 15$ and 14). *Hereditas* 129:263-274.
- Freygang CC, Marinho JR e Freitas TRO (2004) New karyotypes and some considerations about the chromosomal diversification of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae) on the coastal plain of the Brazilian state of Rio Grande do Sul. *Genetica* 121:125-132.
- Geise L, Canavez FC e Seuánez HN (1998) Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from Southeastern Brazil. *Journal of Heredity* 89:158-163.
- Gibson JL (1984) Chromosomal changes in mammalian speciation: a literature review. *Geoscience Research Institute* 11:67-89.
- Howell WM e Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1- step method. *Experientia* 36:1014-1015.
- King M (1993) *Species Evolution: The role of chromosome change*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Langguth A e Bonvicino CR (2002) The *Oryzomys subflavus* species group, with description of two new species (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). *Arquivos do Museu Nacional* 60:285-294.
- Leal-Mesquita ER, Fagundes V, Yonenaga-Yassuda Y e Rocha PLB (1993) Comparative cytogenetic studies of two karyomorphs of *Thrichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). *Genetics and Molecular Biology* 16:639-651.

- Leite YLR (2003) Evolution and systematics of the Atlantic tree rats, genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae), with description of two new species. University of California Publications in Zoology 132:1-118.
- Leite YLR, Christoff AU e Fagundes V (2008) A new species of Atlantic Forest tree rat, genus *Phyllomys* (Rodentia, Echimyidae) from southern Brazil. Journal of Mammalogy 89:845-851.
- Liascovich RC. e Reig OA (1989) Low chromosomal number in *Akodon cursor montensis* Thomas, and karyologic confirmation of *Akodon serrensis* Thomas in Misiones, Argentina. Journal of Mammalogy 70:391-395.
- Machado T, Silva MJJ, Leal-Mesquita ER, Carmignotto AP e Yonenaga-Yassuda Y (2005) Nine karyomorphs for spiny rats of the genus *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. Genetics and Molecular Biology 24:682-692.
- Maia V e Hulak A (1981) Robertsonian polymorphism in chromosomes of *Oryzomys subflavus* (Rodentia, Cricetidae). Cytogenetics and Cell Genetics 31:33-39.
- Mayr E e Aslock PD (1991) Principles of Systematic Zoology. New York, McGraw-Hill Inc.
- Musser GG, Carleton MD, Brothers EM e Gardner AL (1998) Systematics studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): diagnoses and distributions of species formerly assigned to *Oryzomys "capito"*. Bulletin of the American Museum of Natural History 236:1-376.
- Paresque R, Silva MJJ, Yonenaga-Yassuda Y e Fagundes V (2007) Karyological geographic variation of *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 (Rodentia, Cricetidae) from Brazil. Genetics and Molecular Biology 30:43-53.
- Paresque R, Christoff AU e Fagundes V (2009) Karyology of the Atlantic forest rodent *Juliomys* (Cricetidae): A new karyotype from southern Brazil. Genetics and Molecular Biology 32:301-305.
- Patton JL e Sherwood SW (1983) Chromosome evolution and speciation in rodents. Annual Review of Ecology and Systematics 14:139-158.
- Pessoa LM, Oliveira MM, Oliveira JA e Lopes MOG (2004) Karyological and morphometric variation in the genus *Thricomys* (Rodentia, Echimyidae). Mammalian Biology 69:258-269.
- Pessoa LM, Corrêa MMO, Bitencourt E e Dos Reis SF (2005) Chromosomal characterization of taxa of the genus *Trinomys* Thomas, 1921, (Rodentia,

- Echimyidae) in the states of Rio de Janeiro and São Paulo. *Arquivos do Museu Nacional* 63:161-168.
- Qumsiyeh MB (1994) Evolution of number and morphology of mammalian chromosomes. *Journal Hereditas* 85:455-465.
- Reig OA, Aguilera M, Barros MA e Useche M (1980) Chromosomal speciation in a rassenkreis of Venezuelas spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). *Genetica* 52:291-312.
- Sbalqueiro IJ, Bueno AMS, Moreira J, Ramos APD, Padovani C, Ximenez A e Agostini JMS (1988) Cariótipo com 96 cromossomos em *Echimys dasythrix*, o mais elevado número diplóide entre os mamíferos. Resumos do XV Congresso Brasileiro de Zoologia, Curitiba, p. 532.
- Sbalqueiro IJ e Nascimento AP (1996) Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosomes cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Genética* 19:565-569.
- Seabright M (1971) A rapid technique for human chromosomes. *Lancet* 2:971-972.
- Severo JB (1998) Cariótipos dos equimídeos de algumas localidades do Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul.
- Souza MJ (1981) Caracterização cromossômica em oito espécies de roedores brasileiros das famílias Cricetidae e Echimyidae. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75:304-306.
- Weksler M, Geise L e Cerqueira, R (1999). A new species of *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from southeast Brazil, with comments on the classification of the *O. capito* species group. *Zoological Journal of the Linnean Society* 125:445-462.
- Woods CA (1993) Suborder Hystricognathi. In *Mammals species of the world. A taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. Edited by DE Wilson and DM Reeder. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. pp. 771-806.
- Yonenaga-Yassuda Y (1975) Karyotypes and chromosome polymorphism in Brazilian rodents. *Caryologia* 28:269-286.

- Yonenaga-Yassuda Y (1972) Chromosomal polymorphism in the rodent *Akodon arviculoides* ssp. ($2n=14$) resulting from two pericentric inversions. *Cytogenetics* 11:488-499.
- Yonenaga-Yassuda Y, Kasahara S, Almeida EJC e Peracchi AL (1975) Chromosomal banding patterns in *Akodon arviculoides* ($2n=14$), *Akodon* sp. ($2n=24, 25$), and two male hybrids with 19 chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics* 15:388-399.
- Yonenaga-Yassuda Y (1979) New karyotypes and somatic and germ-cell banding in *Akodon arviculoides* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenetics and Cell Genetics* 23:241-249.
- Zanchin NIT (1988) Estudos cromossômicos em orizominos e equimídeos da Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul.

Apêndice 1

Catálogo dos exemplares de *Phyllomys* analisados no presente estudo. Estado (maiúsculo e negrito), número total de indivíduos (em parênteses), município e localidade da coleta (em itálico), coordenada geográfica (em parênteses), número(s) de identificação do espécime, sexo e cariótipo. Siglas dos coletores: B= Bruno Pinotti, LGA= Laboratório de Genética Animal, LPC=Leonora Pires Costa, SLF= Simone Lóss de Freitas, YL=Yuri Leite.

BAHIA (04) – *Andaraí, Fazenda Santa Rita* (12°48'S, 41°15'W): LPC 227, macho, cariótipo A. *Caravelas, Ilha da Casumbra* (17°45'S, 39°15'W): SLF73, macho, cariótipo C. *Nova Viçosa, Fazenda João Guarda e Fazenda Elma* (17°48'S, 39°39'W): SLF77, fêmea, cariótipo D e SLF94, fêmea, cariótipo D.

ESPÍRITO SANTO (11) – *Cariacica, Reserva Biológica de Duas Bocas* (20°17'S, 40°28'W): LPC1251, macho, cariótipo D. *Vitória, Parque Estadual da Fonte Grande* (20°19'S, 40°21'W): YL287, fêmea, cariótipo D; YL294, fêmea, cariótipo D; LGA1028/YL305, macho, cariótipo D; YL300, fêmea, cariótipo D; YL301, fêmea, cariótipo D e YL308, fêmea, cariótipo D. *Viana, Fazenda Boa Baixa* (20°23'S, 40°27'W): LPC1105, macho, cariótipo D. *Santa Teresa, Estação Biológica de Santa Lúcia* (19°55'S, 40°36'W): LGA273, macho, cariótipo D; LGA684, macho, cariótipo D e LGA860, fêmea, cariótipo D.

SÃO PAULO (03) – *Cotia, Reserva Florestal do Morro Grande* (23°37'S, 46°55'W): B304 macho, cariótipo F; B374, macho, cariótipo E e B723, fêmea, cariótipo E.

RIO GRANDE DO SUL (02) – *Viamão, Parque Estadual de Itapuã* (30°24'S, 50°58'W): AC629; macho, cariótipo B. *Aratiba* (27°23'S 52°19'W): LGA01, macho, cariótipo G.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)