UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

NELSON ANTONIO BAILÃO RIBEIRO

ANÁLISES CROMOSSÔMICAS E FILOGENIA DE ROEDORES DO GÊNERO *Proechimys* (ECHIMYIDAE, RODENTIA).

Belém

2006

NELSON ANTONIO BAILÃO RIBEIRO

ANÁLISES CROMOSSÔMICAS E FILOGENIA DE ROEDORES DO GÊNERO *Proechimys* (ECHIMYIDAE, RODENTIA)

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFPA para a obtenção do grau de Doutor em Genética e Biologia Molecular

Orientador: Profa. Dra. Cleusa Yoshiko Nagamachi

Belém

2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) –
Biblioteca Central/UFPA, Belém-PA

Ribeiro, Nelson Antonio Bailão.
Análises cromossômicas e filogenia de roedores do gênero *Proechimys* (Echimyidae, Rodentia) / Nelson Antonio Bailão Ribeiro; orientadora, Cleusa Yoshiko Nagamachi.- 2006
Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Pará,
Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Belém, 2006.

1. Filogenia. 2. Rearranjo cromossômico. 3. Roedores. 4. *Proechimys*. I. Título.

CDD – 21. ed. 599.82

NELSON ANTONIO BAILÃO RIBEIRO

ANÁLISES CROMOSSÔMICAS E FILOGENIA DE ROEDORES DO GÊNERO *Proechimys* (ECHIMYIDAE, RODENTIA).

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFPA para a obtenção do grau de Doutor em Genética e Biologia Molecular

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Margarete Suñé Mattevi
Universidade Luterana do Brasil

Dra. Suely Aparecida Marques-Aguiar
Museu Paraense Emílio Goeldi

Prof. Dr. Júlio César Pieckzarka
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Edivaldo Herculano Correa de Oliveira
Universidade Federal do Pará

Belém, 09 de março de 2006.

“A provação vem não só para testar o nosso valor, mas para aumentá-lo; o carvalho não é apenas testado, mas enrijecido pelas tempestades.”

Lettie Cowman

A Deus, meus filhos, minha esposa, irmãs, pais, amigos e todas as criaturas dignas de serem amadas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todos os benefícios concedidos.

Aos meus pais, por me ensinarem os primeiros passos no caminho do conhecimento.

À doutora Cleusa Nagamachi, pelos conhecimentos transmitidos e dedicação na realização deste trabalho.

À doutora Regina Barros, pelo constante apoio, simpatia e força.

Ao Dr. Julio Pieckzarka pelo trabalho desenvolvido frente à chefia do laboratório de Citogenética Geral da UFPA.

Ao doutor Manoel Soares, pela imensa contribuição e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

À Maria do Carmo Brígido, pela presteza e agilidade profissional.

Ao técnico Domingos Macedo, pela ajuda na captura dos animais e simpatia.

Ao Biomédico e colega de trabalho Jorge Rissino, pela realização das culturas celulares, conhecimentos transmitidos e companheirismo.

À Biomédica Roberta Rezende pela ajuda nos procedimentos laboratoriais.

Ao Dr. Edivaldo Herculano, pelas informações e ajuda nos momentos solicitados.

Aos estimados colegas de laboratório Daniela Rocha, Anderson Marinho, Camile Pencin, Ana Carla, Ana Neves e Adailton Moreira.

Ao colega de laboratório Pablo Soarez pela ajuda com o processamento do programa PAUP.

À funcionária do Instituto Evandro Chagas (IEC), Graça Santos, pela ajuda no processamento das imagens de vários cariótipos e fotos.

À equipe de informática do IEC, pela eficiência em todos os momentos.

Às bibliotecárias das instituições: UFPA, MPEG e IEC pela organização e preservação de acervos, tão importantes ao desenvolvimento deste e de outros trabalhos.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta tese.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....1

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ORDEM RODENTIA.....1

1.1.1 Diversidade, Alimentação e Distribuição.....1

1.1.2 Origem, Evolução e Classificação.....2

1.2 INFRA-ORDEM CAVIOMORPHA: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....4

1.3 FAMÍLIA ECHYMIDAE COM ÊNFASE NO GÊNERO *Proechimys*.....6

1.4 ANÁLISES CITOGENÉTICAS.....16

1.5 VARIAÇÕES CARIOTÍPICAS EM ROEDORES.....17

1.5.1 Mudanças na Heterocromatina.....17

1.5.2 Região Organizadora de Nucléolo.....19

1.5.3 Rearranjos Cromossômicos.....21

1.6 VARIABILIDADE CARIOTÍPICA E POLIMORFISMOS CROMOSSÔMICOS PRESENTES EM *Proechimys*.....23

1.7 CLASSIFICAÇÃO E FILOGENIA EM *Proechimys* AUXILIADAS POR DADOS CITOGENÉTICOS.....30

2 BJETIVOS.....35

2.1 OBJETIVO GERAL.....35

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....35

3 MATERIAL E MÉTODOS.....36

3.1 ESPÉCIMES.....36

3.2 COLETAS.....37

3.3 PREPARAÇÕES CROMOSSÔMICAS.....37

3.3.1 Obtenção de Cromossomos - Método Direto.....37

3.3.2 Obtenção de Cromossomos - Cultura de Fibroblastos.....38

3.3.2.1 Obtenção das Biópsias.....38

3.3.2.2 Semeadura da Cultura.....39

3.3.2.3 Tripisinização e Repique.....40

3.3.2.4 Colheita do Material para Preparação Cromossômica.....41

3.4 PREPARAÇÃO DE LÂMINAS.....42

3.5 TÉCNICAS DE CITOGENÉTICA CLÁSSICA.....42

3.5.1 Coloração Convencional por Giemsa.....42

3.5.2 Bandeamento G, segundo Seabright (1971), com modificações.....42

3.5.3 Bandeamento C (CBG), segundo Sumner (1972), com modificações.....43

3.5.4 Bandeamento G/C Seqüencial.....43

3.5.5 Marcação da Região Organizadora de Nucléolo (NOR), Segundo Howell & Black (1980).....44

3.6 ANÁLISE CROMOSSÔMICA.....44

3.6.1 Análise das Células.....44

3.6.2 Análise Cladística.....45

4 RESULTADOS.....46

4.1 CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA.....46

4.2 COMPARAÇÃO CARIOTÍPICA.....58

4.3 PROPOSTA FILOGENÉTICA.....61

5 DISCUSSÃO.....69

5.1 ANÁLISES CROMOSSÔMICAS.....70

5.2 FILOGENIA DAS ESPÉCIES DE *Proechimys*.....74

6 CONCLUSÃO.....78

REFERÊNCIAS.....79

APÊNDICE 1 - Matriz Básica de Dados Utilizada no PAUP.....93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore mais parcimoniosa publicada por Lara et al. (1996).....9

Figura 2 - Árvore de máxima verossimilhança e relógio molecular indicando a separação dos gêneros de Echimyidae na escala temporal, proposta por Leite e Patton (2002).....10

Figura 3. Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *simonsi* e *guyannensis*.....14

Figura 4. Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *goeldii* e *decumanus*. 14

Figura 5. Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *longicaudatus* e *trinitatus*. 15

Figura 6. Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *cuvieri*, *semispinosus* e *canicollis*.....15

Figura 7 – Distribuição geográfica dos grupos de espécies de *Proechimys*, cuja classificação foi baseada em dados morfológicos e citogenéticos (Gardner & Emmons, 1984).....32

Figura 8 - Cladograma proposto por Aguilera & Corti (1994) para cinco espécies de *Proechimys* (12 populações), baseado em dados morfológicos e com plotagem dos dados citogenéticos.....33

Figura 9 - Cladograma proposto por Patton et al. (2000), baseado em dados moleculares, com dados citogenéticos plotados (os números 6 e 12 representam as localidades de coleta).....34

Figura 10 - Mapas com os pontos de coleta das espécies *P. cuvieri*, *P. simonsi*, *P.* sp. 9 (A), *P. roberti* (B) e *P. steerei* (C).....36

Figura 11 - Cariótipo em coloração convencional de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho.....47

Figura 12 - Cariótipo G-bandeado de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho. As barras indicam os segmentos homeólogos translocados.....47

Figura 13 - Cariótipo C-bandeado de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho.....48

Figura 14 - Marcação de NOR no braço longo do par 5 de *P.steerei* (2n=24, NF=42).....48

Figura 15 - Cariótipo em coloração convencional de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho. A seta indica uma constrição secundária intersticial no braço longo do par 8...49

Figura 16 - Cariótipo G-bandeado de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho.....49

Figura 17 - Cariótipo C-bandeado de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho.....50

Figura 18 - Marcação de NOR em cromossomos de *P.cuvieri* (2n=28, NF=48). As setas indicam a região organizadora de nucléolo na região da constrição secundária do par 8.....50

Figura 19 - Cariótipo em coloração convencional de *P. roberti* (2n=30, NF= 54), macho.....52

Figura 20 - Cariótipo G-bandeado de *Proechimys roberti* (2n=30, NF= 54), macho.....52

Figura 21 - Cariótipo C-bandeado de *Proechimys roberti* (2n=30, NF= 54), macho.....53

Figura 22 - Marcação de NOR em *P.roberti* (2n=30, NF=54). Marcação seqüênciada de bandeamento G. As setas indicam a constrição secundária e região organizadora de nucléolo, no par 9.....53

Figura 23 - Cariótipo em coloração convencional de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 58), fêmea. A seta indica a constrição secundária no braço longo do par 8.....54

Figura 24 - Cariótipo G-bandeado de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56), fêmea.....54

Figura 25 - Cariótipo C-bandeado de *Proechimys simonsi* (2n=32, NF= 56), fêmea.....55

Figura 26 - Marcação de NOR no par 8 de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56) fêmea. As setas indicam a região organizadora de nucléolo na constrição secundária do par 8.....55

Figura 27 - Cariótipo em coloração convencional de *P.* sp 9 (2n=36, NF=58), fêmea. A seta indica a constrição secundária no braço longo do par 7.....56

Figura 28 - Cariótipo G-bandeado de *P.* sp 9 (2n= 36, NF= 58), fêmea.....57

Figura 29 - Cariótipo C-bandeado de *P.* sp 9 (2n= 36, NF= 58), fêmea.....57

Figura 30 - Marcação de NOR no par 7 de *P.sp* 9 (2n=36, NF=58). Marcação seqüenciada de bandeamento G.....58

Figura 31 - Padrões de bandas G comparativos entre as espécies deste trabalho, *P. cuvieri* (PCU), *P. roberti* (PRO), *P. simonsi* (PSI) e *P.sp*.9 (PSP9), e da literatura, *P. longicaudatus* (PLO), *P. sp*.2 (PSP2), *P.sp*.1 (PSP1) e *Trichomys apereoides* (TAP)...59

Figura 32 - Cladograma para espécies de *Proechimys*, baseado em padrões de bandeamento G.....62

Figura 33. Evolução cromossômica de TAP3.....64

Figura 34. Evolução cromossômica de TAP5.....65

Figura 35. Evolução cromossômica de TAP4.....65

Figura 36. Evolução cromossômica de TAP X.....66

Figura 37. Evolução cromossômica de TAP 1.....66

Figura 38. Evolução cromossômica de PSP1 15 e PSP1 7.....68

Figura 39. Evolução cromossômica de PSP1 1.....68

Figura 40. Evolução cromossômica de PSP1 2 e PSP1 3.....69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da Ordem Rodentia, em subordens e infra-ordens com seus principais representantes..... 4

Tabela 2. Classificação da Infra-Ordem Caviomorpha..... 5

Tabela 3. Classificação da subordem Hystricognathi, na qual Echimyidae é dividida em três subfamílias.....7

Tabela 4 . Classificação da família Echimyidae.....8

Tabela 5. Espécies de *Proechimys*, classificadas em grupos de acordo com Patton (1987), seus números diplóides, fundamentais e regiões de coletas, apresentado por Weksler et al. (2001).....26

Tabela 6. Classificação de espécimes de *Proechimys* encontradas no norte e noroeste da Venezuela.....31

RESUMO

As espécies do gênero *Proechimys* são amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do Novo Mundo. Apresentam uma classificação sistemática polêmica, devido a pouca diferenciação morfológica e grande variabilidade cariotípica. Devido a essas características, poucos são os estudos filogenéticos realizados no gênero. Objetivando contribuir para o esclarecimento da evolução de *Proechimys*, nove espécies tiveram seus cariótipos comparados, sendo cinco deste trabalho, *Proechimys steerei*, *P. cuvieri*, *P. roberti* e *P. simonsi* e *P.* sp. 9, cujas espécies foram capturadas em três Estados (Acre, Amazonas e Pará) da Amazônia brasileira, e quatro de trabalhos já publicados, *P. longicaudatus*, *P.* sp.1, *P.* sp.2, e *P.* sp.7. Para a caracterização citogenética das espécies usou-se dados de coloração convencional, bandeamentos G e C, e marcação de NORs. Para a construção do cladograma foi utilizado o programa PAUP, usando o método da máxima parcimônia, cujos dados foram polarizados com o cariótipo G-bandeado da espécie *Trichomys apereoides*. As espécies cariotipadas neste trabalho apresentaram as seguintes fórmulas cariotípicas: *P. steerei* (2n= 24, NF= 42), *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), *P. roberti* (2n= 30, NF= 54), *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56) e *P.* sp. 9 (2n= 36, NF= 58). A análise filogenética mostra uma única árvore mais parcimoniosa com a seguinte representação (TAP + (PSP1 + (PSP9 + ((PRO + PSI) + (PSP7 + (PCU + (PLO + PSP2))))). As espécies demonstraram diferenças cariotípicas inter e intra-específicas, por inversões pericêntricas e rearranjos Robertsonianos. Os dados evolutivos obtidos indicam uma tendência à redução do número diplóide.

Palavras-chave: Filogenia; rearranjo cromossômico; roedores; *Proechimys*

ABSTRACT

The species of the genus *Proechimys* are widely distributed in the tropical and subtropical regions from the New World. They have a polemic systematic classification, since they have little morphological differentiation, but wide karyotype variability. Due to these traits there are few phylogenetic studies in this family. With the aim of contribute to a better understanding of *Proechimys* evolution, nine species had their karyotypes compared, where five were done in this study: *P. steerei*, *P. cuvieri*, *P. roberti*, *P. simonsi* and *P.* sp. 9. The samples were collected in three states (Acre, Amazonas and Pará) from the Brazilian Amazonia. Another four were from already published papers: *P. longicaudatus*, *P.* sp.1, *P.* sp.2, and *P.* sp.7. The cytogenetic characterization was done using conventional staining data, G- and C-banding and NOR-staining. The software PAUP was used for building of the cladogram with the maximum parsimony option. The species here studied had the following karyotypes: *P. steerei* (2n= 24, FN= 42), *P. cuvieri* (2n=28, FN = 48), *P. roberti* (2n= 30, FN = 54), *P. simonsi* (2n= 32, FN = 56) and *P.* sp. 9 (2n= 36, FN = 58). The phylogenetic analyses showed a single most parsimonious tree with the following representation: (TAP + (PSP1 + (PSP9 + ((PRO + PSI) + (PSP7 + (PCU + (PLO + PSP2))))). The species showed inter and intraspecific differences because of pericentric inversions and Robertsonian rearrangements. The evolutionary data here obtained indicate a tendency on the reduction of the diploid number.

Key-Words: Phylogeny; Rearrangement, Chromosome; Rodentia; *Proechimys*

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ORDEM RODENTIA

1.1.1 Diversidade, Alimentação e Distribuição

Os representantes da Ordem Rodentia possuem uma extensa variedade de tamanho, desde o pequeno *Mus musculus*, com seus aproximados 15 g até a grande capivara pesando cerca de 50 kg. Entretanto, em sua maioria, são animais pequenos (pesando, em geral, menos de 1 Kg), versáteis, esguios e com adaptações que lhes permitem diferentes modos de vida: terrestre, arborícola, semi-aquático ou fossorial (EMMONS & FEER, 1997). Devido a essa variedade de adaptações ecológicas, os roedores são encontrados em regiões com climas (dos mais frios aos mais tórridos) e vegetações (abundantes ou estéreis) variados. Portanto, estão presentes em muitos *habitats* diferentes, constituindo a mais diversa ordem de mamíferos viventes (NOWAK, 1999; EMMONS & FEER, 1997).

De acordo com Emmons & Feer (1997), atualmente, existem cerca de 2.050 espécies de roedores em todo o mundo, sendo que várias espécies novas são descobertas a cada ano e certamente muitas permanecem desconhecidas.

Segundo Colbert (1969) o sucesso adaptativo da ordem é devido a quatro características: tamanho corporal (pequenos em sua maioria), comportamento (ágeis), ciclo reprodutivo (possuem elevada taxa reprodutiva) e hábito alimentar diversificado (principalmente herbívoros). Destas, destaca-se o tamanho corporal pequeno, mantida ao longo da extensa história evolutiva, que permitiu a ocupação de ambientes inexploráveis por animais maiores (competidores e predadores), possibilitando aos roedores a formação de grandes populações.

Entretanto, a característica mais marcante dos roedores é a dentição. Esses animais possuem um par de incisivos superiores grandes e de crescimento contínuo que se sobrepõem ao par inferior; não apresentam outros incisivos ou caninos e possuem poucos molares e pré-molares, estando os incisivos separados dos demais dentes por um grande espaço chamado diastema (COLBERT, 1969; NOWAK, 1994). Dessa forma, as características cranianas e dentárias são as mais utilizadas em estudos de classificação do grupo.

1.1.2 Origem, Evolução e Classificação.

De acordo com os dados paleontológicos, a ordem Rodentia é uma das mais antigas da classe Mammalia. Segundo Colbert (1969) e Vaughan (1978), os registros fósseis mais antigos são da América do Norte, datam do final do Paleoceno e pertencem ao gênero *Paramys* (família Paramyidae). Os autores sugerem que este gênero tornou-se abundante no continente e na Eurásia durante o Eoceno, constituindo o grupo básico a partir do qual surgiram todos os roedores.

Ao longo de 55 milhões de anos de evolução, os roedores apresentaram um grande sucesso adaptativo em relação a outros grupos terrestres (HARTENBERG, 1981), tornando-se a mais numerosa e bem sucedida ordem de mamíferos, devido a uma intensa radiação (ANDERSON & JONES, 1967; ANDERSON, 1967; VAUGHAN, 1978), registrada, principalmente, na morfologia do crânio.

Considerando as diferenças na estrutura craniana, nos padrões de especializações do músculo masseter e, sobretudo, nas relações deste com o conduto infra-orbitário, inicialmente os roedores foram classificados em três grandes categorias subordinais (SIMPSON, 1945; ANDERSON, 1967): Sciuromorpha (roedores semelhantes a esquilos), formada pelas famílias Aplodontidae, Sciuridae, Geomyidae,

Heteromyidae, Castoridae, Anomaluridae e Pedetidae; Myomorpha (roedores semelhantes a ratos), formada por Muridae, Gliridae, Seleviniidae, Zapodidae e Dipodidae; e Hystricomorpha (roedores semelhantes a porcos-espinhos), formada por Hystricidae, Erethizontidae, Caviidae, Hydrochaeridae, Dinomyidae, Heptaxodontidae, Dasyproctidae, Chinchillidae, Capromyidae, Octodontidae, Ctenomyidae, Abrocomidae, Echimyidae, Thryonomyidae, Petromyidae, Bathyergidae, e Ctenodactylidae.

Posteriormente, outras diferenças presentes na musculatura craniana e formas da mandíbula e do crânio, foram utilizadas para reagrupar as famílias em duas subordens (WOODS, 1976; CARLETON, 1984; HARTENBERGER, 1985 e WOOD, 1985): Sciurognathi e Hystricognathi, palavras que se referem aos diferentes tipos de mandíbulas (POUGH et al., 2003). Nessa nova classificação, Sciuromorpha, Myomorpha e uma família (Ctenodactylidae) de Hystricomorpha foram unidas em Sciurognathi, onde Myomorpha passou à categoria taxonômica de infra-ordem; os Hystricomorpha, exceto a família Ctenodactylidae, passaram a se chamar Hystricognathi. Houve também, algumas mudanças de agrupamentos familiais. Assim, as famílias Geomyidae, Heteromyidae (pertencente à antiga subordem Sciuromorpha) e Ctenodactylidae (pertencente à antiga subordem Hystricomorpha), passaram a integrar a atual infra-ordem Myomorpha, sendo essa nova classificação estudada e aperfeiçoada por outros autores.

Reig (1981) adotou a proposta dicotômica de Woods (1976), considerando oito infra-ordens (Tabela 1). Mais tarde novas classificações aumentaram o número de infra-ordens como em Nowak (1999).

Tabela 1 – Classificação da Ordem Rodentia, em subordens e infra-ordens com seus principais representantes

Subordem	Infraordem	Representantes
Sciurognathi	Protrogomorpha	Roedores primitivos, paramideos e aplodontes.
	Sciuromorpha	Esquilos e marmotas
	Castorimorpha	Castores
	Myomorpha	Ratos e camundongos, geômis, rato canguru, jerbius
	Theridomorpha	Roedores extintos na Europa, anomalurideos e ctenodactilideos
Hystricognathi	Hystricomorpha	Porco-espinho do Velho Mundo
	Phiomorpha	Roedores africanos e indianos, rato-de-rochedo e batiergideos
	Caviomorpha	Cavias da América do Sul, capivaras, agoutis, chinchilas, ratos-de-espinho e porcos-espinhos do Novo Mundo

Fonte: Woods (1976); Reig (1981).

1.2 INFRA-ORDEM CAVIOMORPHA: CONSIDERAÇÕES GERAIS

De acordo com Colbert (1969), os histricomorfos (roedores com pêlos modificados em espinhos, ou espinhosos) do Novo Mundo (Erethizontidae, Hydrochaeridae, Dinomyidae, Agoutidae, Dasyprotidae e Echimyidae), posteriormente reunidos na infra-ordem Caviomorpha, teriam evoluído independentemente daquelas do Velho Mundo (Hystricidae, Thryonomyidae, Petromyidae e Bathyergidae). No entanto, as últimas evidências apontam para uma origem comum africana, indicando afinidades entre Caviomorpha e histricognatos africanos da infra-ordem Phiomorpha, e que os

primeiros teriam chegado à América do Sul, no final do Eoceno (NOWAK, 1999).

Após sua chegada os caviomorfos evoluíram durante todo o Oligoceno dando origem a várias linhagens como: os porcos-espinhos do Novo Mundo, as cavias ou porcos-da-Guiné, capivaras (atualmente os maiores roedores), agoutis, pacas, chinchilas e octodontóideos, também chamados ratos-de-espinhos (NOWAK, 1999).

Atualmente Caviomorpha está dividida em quatorze famílias, sendo a maioria das espécies endêmicas das Américas Central e do Sul. Embora esses animais sejam muito diversos em sua morfologia externa, compartilham características suficientes para constituir um grupo monofilético. Muitos são grandes como as pacas, cutias, e o maior roedor do mundo, a capivara. Entretanto, alguns são semelhantes a ratos, como os roedores da família Echimyidae, a mais diversificada da infra-ordem (COLBERT, 1969).

A classificação de Caviomorpha não é clara, apesar da monofilia comprovada. Existem várias propostas, podendo-se destacar as de Simpson (1945), Wood (1955; 1965; 1976), Anderson (1967), Chaline et al. (1977), Reig (1981) e a mais recente (Tabela 2), apresentada em Nowak (1999).

Tabela 2 – Classificação da Infra-Ordem Caviomorpha

(continua)

Superfamília	Família	Número de Gêneros
Erethizontoidea	Erethizontidae	4
Chinchilloidea	Chinchillidae	3
Cavioidea	Dinomyidae	1

Tabela 2 – Classificação da Infra-Ordem Caviomorpha

(conclusão)

Superfamília	Família	Número de Gêneros
Cavioidea	Caviidae	1
	Hydrochaeridae	1
	Agoutidae	1
	Dasyproctidae	2
	Ctenomyidae	1
Octodontoidea	Octodontidae	6
	Abrocomidae	1
	Capromyidae	5
	Heptaxodontidae	4 (todos extintos)
	Myocastoridae	1
	Echimyidae	16

Fonte: Nowak (1999).

1.3 FAMÍLIA ECHIMYIDAE COM ÊNFASE NO GÊNERO *Proechimys*

Os roedores da família Echimyidae apresentam tamanhos variando de médio a grande (entre 130 e 900g). Constituem a maior e morfologicamente mais diversa família de roedores caviomorfos, com aproximadamente 15 gêneros e 100 espécies (PATTON & REIG, 1989; SILVA & PATTON, 1993; WOODS, 1993; LARA, 1994; EMMONS & FEER, 1997; MCKENNA & BELL, 1997; EISENBERG & REDFORD, 1999 e NOWAK, 1999).

A taxonomia dos equimídeos é pouco clara, de acordo com Emmons & Feer (1997), sujeita a modificação, devido a constante descoberta de novas espécies. Portanto várias classificações foram propostas para Echimyidae ao longo de quatro décadas.

Segundo Cabrera (1961) Echimyidae é formada por aproximadamente 70 espécies, distribuídas em duas subfamílias: Echimyinae e Dactylomyinae. A primeira compreende 11 gêneros: *Proechimys*, *Hoplomys*, *Euryzygomatomys*, *Cliomys*, *Carterodon*, *Cercomys*, *Mesomys*, *Lonchothrix*, *Isothrix*, *Diplomys* e *Echimys* e a segunda, apenas três: *Dactylomys*, *Kannabatheomys* e *Thrinacodus*. Entretanto, segundo Woods (1993), Emmons & Feer, (1997), Mckenna & Bell (1997) e Eisenberg & Redford (1999) o número de gêneros e espécies de equimídeos podem ser ampliados para 18 e 80, respectivamente.

Reig (1981), baseado em diferenças morfológicas relacionadas ao modo de vida das espécies analisadas, propõe a divisão de Echimyidae em três subfamílias: Heteropsomyinae (*Proechimys*, *Hoplomys*, *Thrichomys* e *Euryzygomatomys*), cujos gêneros apresentam hábitos terrestres ou fossoriais, Dactylomyinae (*Dactylomys*, *Kannabateomys* e *Olallamys*) e Echimyinae (*Diplomys*, *Echimys*, *Isotrix* e *Makalata*), apresentando gêneros arborícolas (Tabela 3).

Tabela 3 – Classificação da subordem Hystricognathi, na qual Echimyidae é dividida em três subfamílias

Subordem	**Infraordem**	**Superfamília**	**Família**	**Subfamília**
			Octodontidea	
			Abrocomidea	
Hystricognathi	Caviomorpha	Octodontoidea		Heteropsomyinae
			Echimyidae	Echimyinae
				Dactilomyinae

Fonte: Reig (1981).

Uma nova classificação para Echimyidae foi proposta por Wilson & Reeder (1993), aumentando para cinco o número de subfamílias (Tabela 4). No entanto, segundo Nowak (1999), variações morfológicas sutis presentes em uma grande variedade de espécies de Echimyidae, caracterizam-na como um grupo complexo, necessitando de revisão e outras análises, usando novas metodologias, como a filogenética.

Tabela 4 – Classificação da família Echimyidae

Família	Subfamília	Gênero
Echimyidae	Chaetomyinae	*Chaetomys*
	Dactylomyinae	*Dactylomys, Kannabateomys* e *Olallamys.*
	Echimyinae	*Diplomys, Echimys, Isothrix* e *Makalata.*
	Eumysopinae	*Carterodon, Clyomys, Euryzygomatomys, Hoplomys, Lonchothrix, Mesomys, Proechimys* e *Thrichomys*
	Heteropsomyinae	*Boromys, Brotomys, Heteropsomys* e *Puertoricomys.*

Fonte: Wilson & Reeder (1993).

Dados adicionais sobre a sistemática e evolução de Echimyidae foram obtidos por meio de estudos filogenéticos, os quais incluíram novos gêneros na família e esclareceram a respeito do tempo de divergência.

Lara et al. (1996) publicaram a primeira análise filogenética entre os equimídeos, usando dados moleculares (análise da seqüência completa do gene mitocondrial citocromo b) de 12 táxons, concluindo que *Hoplomys gymnurus* e *Trichomys apereoides* constituem os dois grupos mais basais em relação a *Proechimys*, nessa ordem, respectivamente (Figura 1). Os autores também concluíram que

diversificações inter e intra-genéricas ocorreram de forma simultânea e recente em Echimyidae e propuseram a elevação de *Trinomys* a categoria de gênero.

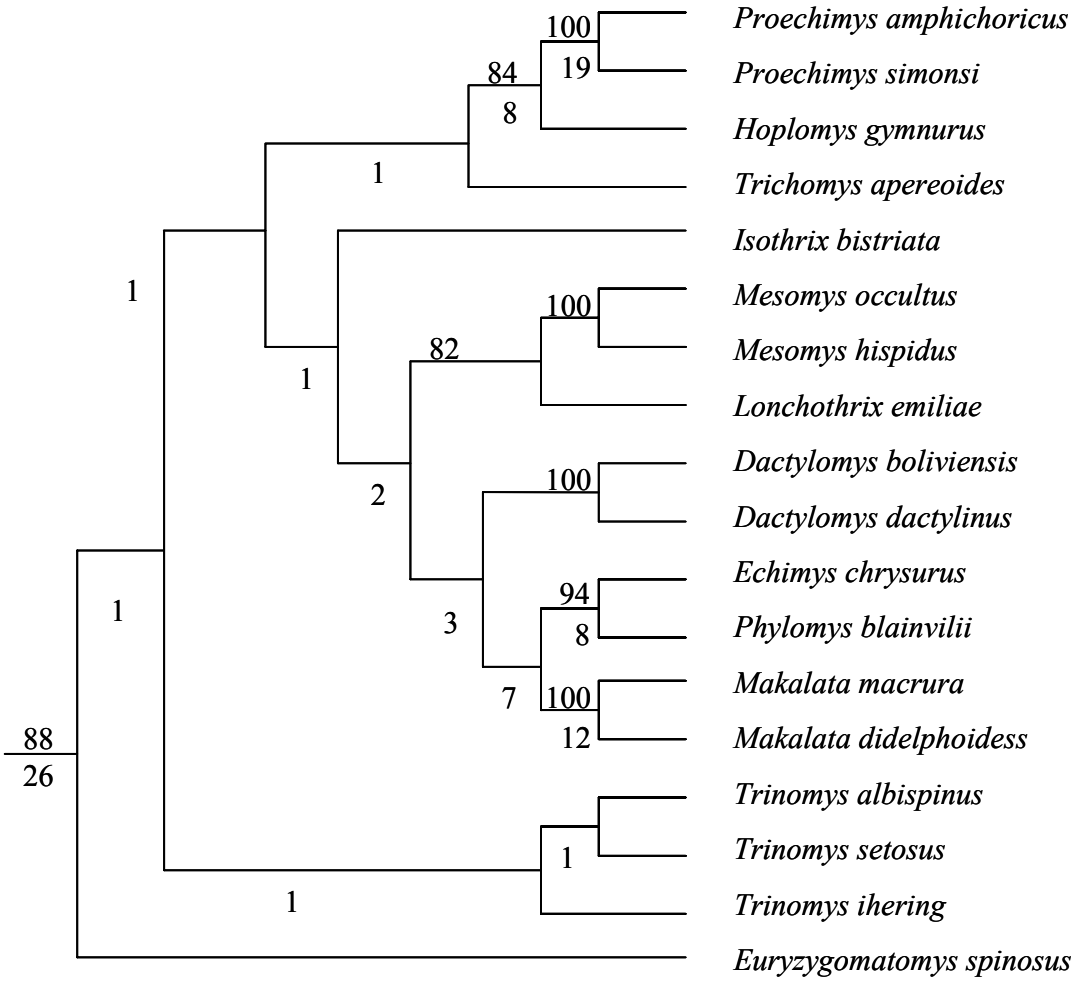


Figura 1 – Árvore mais parcimoniosa publicada por Lara *et al*. (1996).

Leite & Patton (2002) fizeram uma revisão da filogenia proposta por Lara et al. (1996), aumentando para 35 o número de táxons analisados (envolvendo equimídeos e espécies de outras famílias), e para três o número de genes (citocromo b, 12S e 16S), usando diferentes métodos de análises, máxima parcimônia, máxima verossimilhança e "neighbor-joining". O método de máxima parcimônia resultou em uma topologia diferente da apresentada por Lara et al. (1996), em relação a *Trichomys apereoides*, ficando este bastante distanciado de *Proechimys*. No entanto, o de máxima verossimilhança (Figura 2)

apresentou o mesmo achado para os três táxons obtido por Lara et al. (1996). O terceiro método, “neighbor-joining”, resultou em uma nova topologia, sem diferir significativamente do segundo. Leite & Patton (2002) também concluíram por uma divergência rápida e recente em Echimyidae.

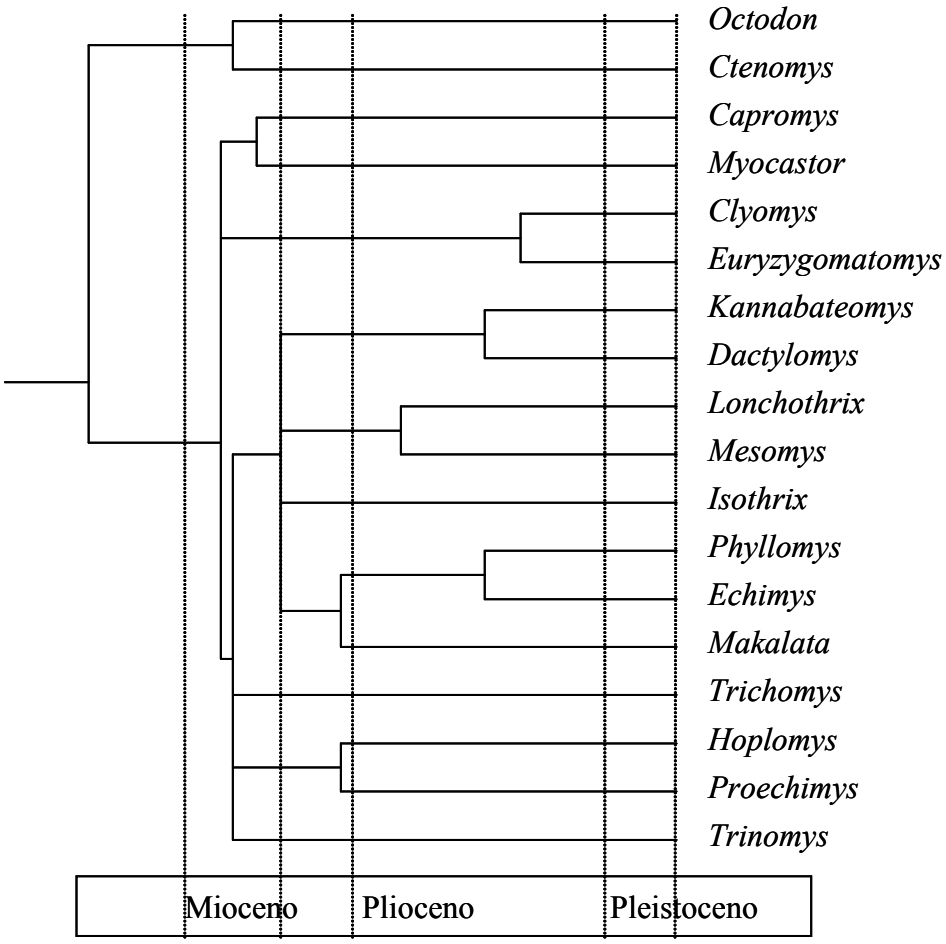


Figura 2 – Árvore de máxima verossimilhança e relógio molecular indicando a separação dos gêneros de Echimyidae na escala temporal, proposta por Leite e Patton (2002)

É evidente, pelos poucos estudos evolutivos em Echimyidae, que muito ainda precisa ser esclarecido sobre a classificação e evolução dessa importante família de Caviomorpha, cuja antiga história de ocupação do continente (Oligoceno) é

registrada por fósseis, encontrados na Bolívia, datando de 25 milhões de anos atrás, (PATTERSON & WOOD, 1982). Suas espécies são encontradas da Nicarágua, na América Central ao Paraguai, na América do Sul (PACKARD, 1967; REIG, 1981; HONACK et al, 1982; EISEMBERG, 1983).

A enigmática história evolutiva de Echimyidae é conseqüência do pouco conhecimento de seus gêneros e espécies destacando-se em particular, o gênero *Proechimys* (maior em número de espécies da família), taxonomicamente o mais complexo, e menos conhecido grupo de roedores neotropicais (PATTON & ROGERS, 1983). Esse gênero apresenta espécies noturnas e terrestres, ocupando as florestas primárias e secundárias do Novo Mundo (LARA et al., 1996; EMMONS & FEER, 1997) e possui a mesma distribuição geográfica de Echimyidae (REIG & USECHE, 1976; EMMONS & FEER, 1997).

A dificuldade na identificação taxonômica de *Proechimys* é atribuída a um nível incomum de variações intra-populacionais das características morfológicas, tradicionalmente usadas na sistemática de mamíferos (THOMAS, 1928; MOOJEN, 1948; HERSHKOVITZ, 1948; PATTON & GARDNER, 1972), resultando em uma classificação bastante questionada.

Segundo Gardner & Emmons (1984), dos 14 gêneros reconhecidos de Echimyidae, *Proechimys* é o que contém maior número de espécies. No entanto, existe grande controvérsia em torno desse número, já que várias espécies apresentam características morfológicas pouco diferenciadas. Dessa maneira, de acordo com Patton (1987), para haver uma identificação mais precisa é necessário que diferentes dados sejam considerados em conjunto, entre eles, a estrutura do crânio e o cariótipo.

De fato, a pouca variabilidade nas características morfológicas de *Proechimys* têm tornado difícil a identificação de suas espécies, visto que muitas delas,

como cor da pelagem, padrões de esmalte dentário e número e posição dos tubérculos plantares, variam geograficamente e com a idade do próprio animal. Segundo Moojen (1948), Hershkovitz (1948) e Patton & Gardner (1972), tais características devem ser usadas para distinguir apenas espécies simpátricas.

Devido às grandes dificuldades de classificação das espécies de *Proechimys*, ocorreram várias tentativas de classificá-las, utilizando-se diferentes dados.

Tate (1935 *apud* REIG & USECHE, 1976), reconheceu 46 espécies em *Proechimys*, dividindo-as em dois subgêneros, *Proechimys* e *Trinomys*, reconhecendo na época diferenças significantes entre os dois grupos, fato que reforçaria mais tarde (LARA et al., 1996; LEITE & PATTON, 2002), a elevação de *Trinomys* à categoria de gênero. Nessa classificação o subgênero *Proechimys* apresenta 44 espécies distribuídas na maior parte das áreas tropicais da América do Sul, enquanto *Trinomys* apenas duas espécies restritas ao leste do Brasil. Posteriormente, Tate (1939 *apud* REIG & USECHE, 1976), propôs reduzir consideravelmente o número de espécies do subgênero *Proechimys*.

Ellerman (1940) reconheceu somente dezenove espécies no subgênero *Proechimys* e duas em *Trinomys*, considerando que grande parte das diferenças morfológicas as quais foram atribuídos valores específicos na classificação de Tate (1935 *apud* REIG & USECHE, 1976), seriam reflexos de variações individuais, ou devido à idade dos animais. Entretanto, Cabrera (1961), baseado na revisão parcial de Hershkovitz (1948) e de Moojen (1948), reduziu o número de espécies do primeiro subgênero para sete, e ampliou o do segundo para cinco.

Moojen (1948) classificou, no Brasil, nove espécies no subgênero *Proechimys*, encontradas na floresta Amazônica e florestas de galeria do cerrado, e seis

espécies em *Trinomys*, com distribuição limitada à floresta Atlântica, concordando com a classificação dicotômica de Tate (1935 *apud* REIG & USECHE, 1976).

Patton (1987), baseado em caracteres morfológicos (dados baculares e cranianos), classificou 59 espécies de *Proechimys*, em nove grupos, sendo três monotípicos (*decumanus*, *canicollis* e *simonsi*) e os seis restantes (*semispinosus*, *longicaudatus*, *goeldii*, *guyannensis*, *cuvieri* e *trinitatus*) politípicos e com um número incerto de espécies, apresentando mapas com as distribuições geográficas dos referidos grupos (Figuras 3, 4, 5 e 6).

No entanto, de acordo com Emmons & Feer (1997), não devem existir mais do que 20 ou 30 espécies nesse gênero. De acordo com essa última proposta, Nowak (1999) apresenta 32 espécies de *Proechimys*: (1) *P. albispinus,* (2) *P. amphichoricus,* (3) *P. bolivianus,* (4) *P. brevicauda,* (5) *P. canicollis,* (6) *P. cayennensis,* (7) *P. chrysaelus,* (8) *P. cuvieri,* (9) *P. decumanus,* (10) *P. dimidiatus,* (11) *P. goeldii,* (12) *P. gorgonae,* (13) *P. guairae,* (14) *P. gularis,* (15) *P. hendeei,* (16) *P. hoplomyoides,* (17) *P. iheringi,* (18) *P. longicaudatus,* (19) *P. magdalenae,* (20) *P. mincae,* (21) *P. myosuros,* (22) *P. oconnelli,* (23) *P. oris,* (24) *P. poliopus,* (25) *P. quadruplicatus,* (26) *P. semispinosus,* (27) *P. setosus,* (28) *P. simonsi,* (29) *P. steerei,* (30) *P. trinitatis,* (31) *P. urichi,* (32) *P. warreni.*

As várias propostas classificatórias apresentadas para *Proechimys* são resultantes das dificuldades encontradas na caracterização morfológica desses táxons. Diante dessas dificuldades, várias revisões modernas, amparadas no conceito biológico de espécie, tenderam pela redução a uma quantidade moderada de espécies subdivididas em muitas raças geográficas ou subespécies.

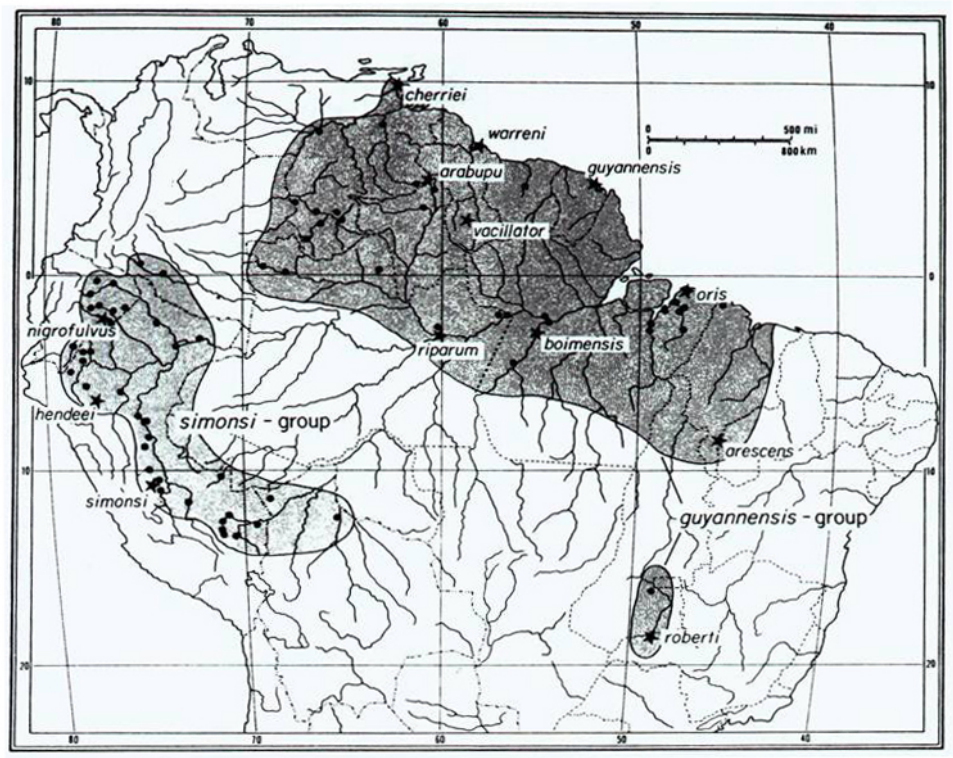


Figura 3 – Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *simonsi e guyannensis* (Patton, 1987).

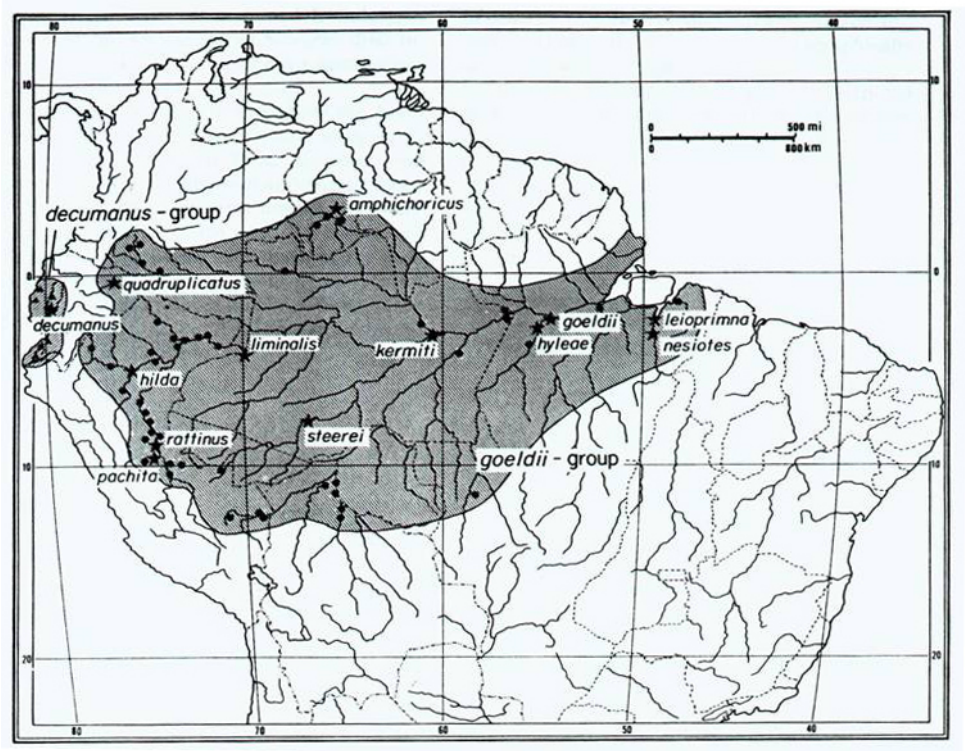


Figura 4 – Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *goeldii decumanus* (Patton, 1987).

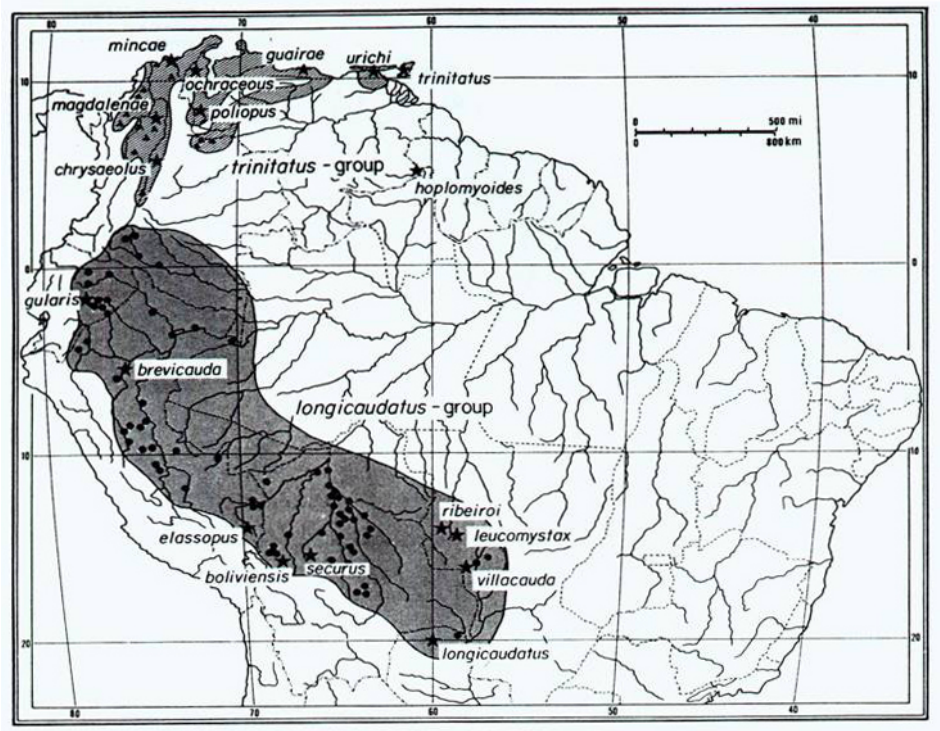


Figura 5 – Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *longicaudatus* e *trinitatus* (Patton, 1987).

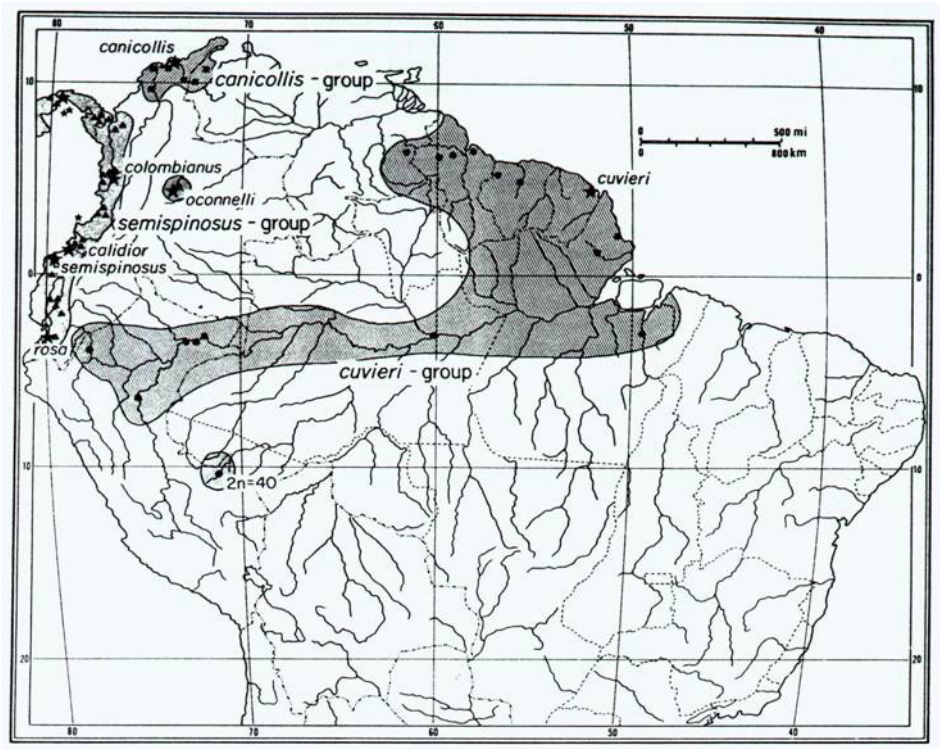


Figura 6 – Distribuição geográfica dos táxons dos grupos *cuvieri*, *semispinosus* e *canicollis* (Patton, 1987).

De acordo com Reig & Useche (1976), as dificuldades na sistemática de *Proechimys*, indicam que esse gênero esteja passando por um intenso processo de evolução, fato confirmado por Lara et al. (1996) e Leite & Patton (2002). Assim, *Proechimys* apresenta-se como um importante grupo para estudos dos processos de especiação, em seus estágios iniciais, destacando-se entre esses, a análise dos rearranjos cromossômicos.

1.4 ANÁLISES CITOGENÉTICAS

Os estudos citogenéticos vêm sendo já há alguns anos, associados aos morfológicos e moleculares, a fim de esclarecer os processos de diferenciação ocorridos entre as espécies. Esses estudos têm permitido identificar, entre outros, elevadas variabilidades cariotípicas interespecíficas, variações cromossômicas geográficas e polimorfismos cromossômicos, caracterizando os chamados estudos citotaxonômicos.

Pelo fato dos roedores constituírem um grupo no qual, muitas vezes, as diferenças morfológicas são bastante sutis, os estudos citogenéticos tornam-se de grande importância para a sua identificação e para estudos de relações filogenéticas.

O desenvolvimento de técnicas de bandeamento cromossômico tornou possível caracterizar variações inter e intra-populacionais através do reconhecimento de homologias totais ou parciais e das diferenças, resultantes dos rearranjos cromossômicos. Assim as técnicas de bandeamento G, C e marcação de Regiões Organizadoras de Nucléolo (NORs), tem sido de grande importância na caracterização cromossômica de diferentes espécies e na identificação dos rearranjos ocorridos.

Exemplos da contribuição citogenética na resolução de questões filogenéticas em roedores são observados nos gêneros: *Oryzomys*, *Delomys*, *Bolomys*, *Akodon*, *Deltamys* e *Oxymycterus*, por meio de comparação dos padrões de

bandeamento e morfologia cromossômica (SBALQUEIRO, 1989).

1.5 VARIAÇÕES CARIOTÍPICAS EM ROEDORES

A Ordem Rodentia é citogeneticamente, muito diversa. Em alguns casos, espécies diferenciadas cariotipicamente e raças cromossômicas apresentam um padrão morfológico externo comum. Além disso, as taxas de mudanças cariotípicas estimadas para os roedores, estão entre as mais altas observadas nos mamíferos (BENGTSSON, 1980; BUSH et al., 1977; MARUYAMA & IMAI, 1981).

1.5.1 **Mudanças na Heterocromatina**

Segundo Patton & Sherwood (1983), as mudanças na forma dos cromossomos podem ocorrer pela ação de dois mecanismos: a mudança estrutural por adição e/ou deleção de braços heterocromáticos e o rearranjo cromossômico por quebra do cromossomo, seguida de reunião modificada.

A heterocromatina constitutiva é formada por DNA altamente repetitivo, apresentando replicação tardia na fase S (GUERRA, 1988). Segundo Hsu (1975), na maioria das vezes ela é encontrada nas regiões centroméricas dos cromossomos, sendo a segunda região mais freqüente a distal, e com menor freqüência é encontrada em regiões intersticiais. Além da classe de DNA e a posição, a heterocromatina constitutiva apresenta outras especificidades.

Sumner (1990) citou como principais características da heterocromatina constitutiva a universalidade (toda banda C é heterocromática), a diversidade (variação na composição de bases do DNA heterocromático) e a variabilidade (variação inter e intra-específica, na quantidade de heterocromatina constitutiva).

John & Miklos (1979), consideram que a instabilidade evolutiva da heterocromatina constitutiva a torna um importante objeto de estudo para análises de

relações filogenéticas entre os organismos. Dessa forma, diferenças quantitativas e/ou qualitativas significantes podem existir entre táxons proximamente relacionados ao nível de heterocromatina, sendo importante para o conhecimento de estruturas populacionais.

Estudos em populações naturais de roedores focalizando as diferenças interespecíficas encontraram como principais variações: (a) o número de braços heterocromáticos no cariótipo; (b) o tamanho das bandas C centroméricas; (c) o número e o tamanho dos blocos teloméricos ou intersticiais e (d) os padrões nos cromossomos sexuais (PATTON & SHERWOOD, 1983).

Vários gêneros de roedores possuem variabilidade no cariótipo de suas espécies devido a diferenças no número de braços heterocromáticos, entre eles *Peromyscus* (DUFFEY, 1972; PATHAK et al., 1973; ROBBINS & BAKER, 1981), *Onychomys* (BAKER & BARNETT, 1981), *Neotoma* (MASCARELLO & HSU, 1976), *Reithrodontomys* (ROBBINS & BAKER, 1980), *Meriones* (KOROBITSYNA & KORABLEV, 1980), *Mesocricetus* (POPESCU & DIPAOLO, 1980) e *Thomomys* (PATTON & SHERWOOD, 1983).

Além de diferenças interespecíficas, foram registradas também diferenças intra-específicas no tamanho das bandas C pericentroméricas em *Rattus* (YOSIDA & SAGAI, 1975), *Mus* (DEV et al., 1975), *Perognathus* (PATTON, 1977), e pericentroméricas em *Proechimys* (MAIA & LANGGUTH, 1993). Variações nos tamanhos das bandas C intersticiais e/ou teloméricas foram encontradas em *Uromys* (BAVERSTOCK et al., 1976), *Ammospermophilus* (MASCARELLO & MAZRIMAS, 1977), *Thomomys* (PATTON & SHERWOOD, 1983) e *Proechimys* (BUENO & GÓMEZ-LAVERDE, 1993), já as variações de heterocromatina nos cromossomos sexuais são conhecidas em gêneros como *Nectomys* e *Pseudomys* (BAVERSTOCK et al., 1977a; b).

1.5.2 Região Organizadora de Nucléolo

Os nucléolos são estruturas nucleares esféricas, não envolvidas por membrana, sendo 60% da sua constituição, proteínas e RNA ribossômico. Apresentam pequena quantidade de DNA, correspondente a genes codificadores de RNA ribossomais (RNAr), denominado DNA ribossômico (DNAr), proteínas e RNAs que participam das transcrições e das modificações pós-transcricionais dos RNArs (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000).

Em células eucariontes os genes que codificam os RNAs ribossomais estão presentes em múltiplas cópias por genoma. As células humanas contém cerca de 400 cópias do gene para o RNAr, que estão dispersas em cinco pares de cromossomos, enquanto células de *Xenopus* (um anfíbio) contém cerca de 600 cópias desse gene, em um único par de cromossomos. As várias cópias do gene estão arranjadas *in tandem*, ou seja, repetidas sequencialmente, estando cada gene separado do seguinte por um segmento de DNA não transcrito. Assim, o DNAr apresenta seqüências transcritas alternadas com seqüências não transcritas. Cada seqüência transcrita contém de 8.000 a 13.000 pb, enquanto nas seqüências não transcritas, esse número varia entre as espécies (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000).

Durante a divisão celular os cromossomos iniciam o processo de condensação, atingindo seu grau máximo na metáfase, ficando o DNAr localizado, em geral, em uma região de pouca condensação, devido a intensa atividade transcricional, durante a prófase, chamada constrição secundária (GUERRA, 1998). Por esse motivo, muitas vezes existe uma correlação entre constrições secundárias e NORs em cromossomos metafásicos. No entanto de acordo com Svartman (1989) essa correlação não é obrigatória, havendo regiões de DNAr fora de constrições secundárias e também constrições secundárias sem DNAr.

A identificação das NORs, iniciou-se com a utilização de técnicas de hibridização *in situ* utilizando sondas marcadas com material radioativo (HSU et al. 1975; PARDUE & HSU, 1975), sendo portanto, uma técnica bastante dispendiosa, e por isso, mais tarde foi substituída por técnicas que utilizam nitrato de prata, substância que apresenta afinidade por proteínas (GOODPASTURE & BLOOM, 1975; HOWELL & BLACK, 1978; HOWELL & BLACK, 1980).

Após o desenvolvimento desta técnica, por ser mais simples e econômica, um grande número de animais passaram a ser caracterizados quanto ao número de cromossomos portadores de NOR e sua localização nos mesmos, permitindo o estabelecimento de relações filogenéticas em grupos de vertebrados, nos quais outras técnicas de bandeamento são de difícil aplicação como: peixes, anfíbios e répteis, mostrando-se de grande ajuda na citotaxonomia e na elucidação de rearranjos cromossômicos (RUIZ et al. 1984; TOLEDO & FORESTI, 1985; KASAHARA et al., 1987a).

Segundo HSU et al. (1975) a maioria das NORs localiza-se em autossomos, sendo este fato relacionando ao mecanismo de compensação de doses nos cromossomos X de fêmeas de mamíferos. No entanto posteriormente verificou-se que as NORs podem estar presentes em cromossomos sexuais. Babu & Verma (1986b) identificaram NORs nos cromossomos X e Y de *Muntjacus muntijak*, e Yonenaga-Yassuda et al. (1983) identificaram em autossomos e cromossomos X de *Akodon arviculoides*.

Em alguns grupos de vertebrados existe grande variabilidade do número de cromossomos portadores de NORs como répteis (BICKHAM & ROGERS, 1985; KASAHARA et 1987a) e em outros o número de cromossomos é bastante estável como nos roedores da família Echimyidae (YONENAGA-YASSUDA, 1985) e do gênero *Ctenomys* (FREITAS & LESSA, 1984).

1.5.3 Rearranjos Cromossômicos

Segundo Bickham & Baker (1979), Bush et al. (1977) e White (1973, 1978), as diferenças nos padrões de bandeamentos cromossômicos entre as espécies, são utilizadas para auxiliar a filogenia e conseqüentemente a taxonomia, principalmente ao nível específico. Em grandes grupos taxonômicos, como a Ordem Rodentia, em geral, essas modificações estão relacionadas aos processos de diferenciação das populações.

Existem dois efeitos dos rearranjos cromossômicos que geralmente são usados para explicar a relação entre diferenciação cromossômica e taxonômica: (a) os efeitos meióticos de heterozigosidade estrutural no estabelecimento do isolamento reprodutivo e (b) o presumido efeito de alteração da função gênica pela mudança de posição (STURTEVANT *apud* BENAZZI, 1973) na criação de complexos de genes "coadaptados" (DOBZHANSKY, 1970). Esses dois efeitos consideram diferentes componentes de adaptabilidade. O primeiro, se relaciona à fertilidade e/ou fecundidade em relação aos efeitos meióticos dos cromossomos rearranjados e o segundo, à adaptação fenotípica. As duas classes de efeitos são igualmente consideradas e geralmente aceitas nas discussões sobre a importância das mudanças cromossômicas na especiação e evolução (PATTON & SHERWOOD, 1983).

Apesar do considerável conhecimento em relação às alterações envolvendo cromossomos, deve ser levado em conta que a quantidade e tipos de mudanças cromossômicas observadas em populações naturais, representam na verdade, apenas uma pequena parte das modificações que de fato ocorrem. Dois fatores contribuem para essa sub-estimativa: (a) o tamanho amostral, inadequado para estimar a freqüência com a qual as mudanças realmente acontecem e (b) a observação apenas das alterações cromossômicas que se tornaram estáveis nas populações (FUTUYMA & MAYER, 1980).

Nos dados obtidos em populações naturais de roedores, são predominantes dois tipos de rearranjos estruturais, os rearranjos Robertsonianos (fusões e fissões cêntricas) e as inversões pericêntricas, enquanto que as fusões *in tandem*, translocações recíprocas, e inversões paracêntricas são, consideravelmente, menos comuns (PATTON & SHERWOOD, 1983).

As mudanças cêntricas podem ocorrer de duas maneiras: (1) pela fusão de dois cromossomos acrocêntricos, originando um cromossomo de dois braços, fusão cêntrica, ou (2) pela dissociação de um cromossomo de dois braços formando dois acrocêntricos, fissão cêntrica (GUERRA, 1988).

O rearranjo Robertsoniano altera o número diplóide, porém não o número de braços cromossômicos (número fundamental) do cariótipo (YOSIDA, 1983). Segundo Nesbitt & Francke (1973), a cromatina dos braços cromossômicos não seria afetada nesse tipo de rearranjo, fato reforçado pelos dados de Polani (1972), que verificou a permanência das freqüências quiasmáticas, em espécies do gênero *Mus*, a partir da fusão de acrocêntricos. Esse fato também foi observado por Comings & Avelino (1972), os quais não detectaram perda de DNA do genoma da espécie *Mus poschiavinus,* apesar do extenso número de rearranjos Robertsonianos ocorridos em seu cariótipo.

Os efeitos meióticos da heterozigosidade nos rearranjos Robertsonianos são variados. A heterozigosidade estrutural em *Mus* resulta em gametas aneuplóides (GROPP & WINKING, 1981), porém, em *Akodon molinae* (BIANCHI & MERANI, 1981), é o homozigoto e não o heterozigoto, que tem menor adaptabilidade. Assim, os heterozigotos Robertsonianos nem sempre apresentam dificuldades meióticas. A espécie de roedor *Sigmodon fulviventre* mantém fusões polimórficas em várias populações por pareamento cis e por uma orientação do trivalente meiótico, de forma que a segregação

produz apenas gametas balanceados (ELDER & PATHAK, 1980).

Outro tipo de rearranjo bastante comum em roedores é a inversão pericêntrica, rearranjo que altera a posição dos centrômeros e o número de braços dos cromossomos no cariótipo, mas não o número diplóide (YOSIDA, 1983). Portanto, são facilmente observadas, ainda que tenham sido confundidas com variação de braços heterocromáticos inteiros em *Peromyscus* e *Thomomys* (GREENBAUM et al., 1978; HSU & ARRIGHI, 1968; PATHAK et al., 1973; PATTON, 1972). Este tipo de rearranjo representa um importante componente de evolução cromossômica em alguns gêneros, como *Reithrodontomys* (ROBBINS & BAKER, 1980) e *Peromyscus* (ROBBINS & BAKER, 1981).

As inversões pericêntricas alteram a ordem linear da cromatina e podem potencialmente alterar a função dos genes presentes nas regiões de quebras cromossômicas. Entretanto, a ocorrência de uma função gênica alterada ainda não foi demonstrada em roedores, sendo esse mecanismo mais significante na meiose (PATTON & SHERWOOD, 1983), especialmente as grandes inversões, pois, necessitam de uma alça de inversão para acomodar o pareamento do segmento invertido, o que não ocorre nas pequenas inversões (WHITE, 1954). Assim pequenas inversões polimórficas têm sido observadas em populações de *Proechimys*, com certa freqüência (PATTON et al., 2000).

1.6 VARIABILIDADE CARIOTÍPICA E POLIMORFISMOS CROMOSSÔMICOS PRESENTES EM *Proechimys*

De acordo com vários autores (MOOJEN, 1948; REIG et al.,1970; 1980; PATTON & GARDNER, 1972; REIG & USECHE 1976; GARDNER & EMMONS 1984; PATTON, 1987), o gênero *Proechimys* apresenta um elevado grau de

variabilidade cariotípica, inter e intra-específica. Assim, o número diplóide nesse gênero varia de 2n=14, em espécimes coletados no estado do Pará, Brasil (BARROS, 1978) a 2n= 62, em espécimes coletados em diferentes regiões na Venezuela, apesar da pouca diferenciação morfológica (AGUILERA & CORTI, 1994; REIG & USECH, 1976). Não obstante desta grande variabilidade, os estudos citogenéticos no gênero são, na maioria, limitados a fórmulas cariotípicas, obtidas por coloração convencional.

Até o presente momento, foram caracterizadas 36 espécies e mais 18 subespécies com suas variantes cariotípicas, totalizando 49 citótipos diferentes, obtidos em estudos realizados na Venezuela (14 cariótipos), Peru (13 cariótipos), Brasil (12 cariótipos), Colômbia (5 cariótipos), Equador (4 cariótipos) e Guiana Francesa (2 cariótipos). Apesar da maior parte das espécies de *Proechimys* serem encontrados em território brasileiro, segundo Patton (1987) e Nowak (1999), são relativamente poucos os estudos realizados neste gênero no país.

Barros (1978) analisou citogeneticamente 40 espécimes de *Proechimys*, coletados no Estado do Pará, encontrando sete formas cariotípicas diferentes. Essas formas foram classificadas em três espécies chamadas sp1, sp2 e sp3. Todos os exemplares de *sp*1 apresentaram o mesmo cariótipo, 2n=30; NF=54. Entretanto, em *Proechimys sp*2 foram encontrados três citótipos diferentes, o cariótipo 1 com 2n= 26; NF=44, o cariótipo 2 com 2n=27; NF=45 e o cariótipo 3, um mosaico com 2n=26/27; NF=44/45, cujas diferenças eram devidas à presença ou ausência de um cromossomo supranumerário. Em *Proechimys sp*3 foram encontrados também três tipos de cariótipos, o cariótipo 1 com 2n=16; NF=16; o cariótipo 2 com 2n=15; NF=16 e o cariótipo 3 com 2n= 14; NF=16, cujas diferenças eram devidas a rearranjos Robertsonianos envolvendo dois pares de acrocêntricos. Além de coloração convencional foram feitos bandeamentos G, C e marcação de NORs.

Svartman (1989) analisou os cromossomos corados convencionalmente de exemplares de *Proechimys sp*. com 2n= 30 e NF= 54, o mesmo cariótipo de *sp*. 1 apresentado por Barros (1978), posteriormente identificado como *Proechimys roberti*, por Weksler et al. (2001).

Leal-Mesquita (1991) analisou por coloração convencional, bandeamentos G, C e marcação de NORs os cariótipos de *P.sp* 1, 2n= 44, NF= 52, *P.sp* 2, 2n= 30, NF= 52 e *P. longicaudatus*, 2n= 28, NF= 48, coletados na Usina hidrelétrica de Samuel, estado de Rondônia.

Silva (1998) caracterizou, por coloração convencional, oito espécies capturadas ao longo do rio Juruá (AM), sendo quatro bastante conhecidas dessa região, *P. simonsi* (2n= 32, NF= 58)*, P. brevicauda* (2n= 28, NF= 48-50)*, P. cuvieri* (2n= 28, NF= 46-48)*, e P. steerei* (2n= 24, NF= 40-42), e as outras quatro, novas espécies, *P. echinothrix* (2n= 32, NF= 60), *P. kulinae* (2n= 34, NF= 52), *P. pattoni* (2n= 40, NF= 56), e *P. gardneri* (2n= 40, NF= 56).

Machado et al. (2005) analisaram 42 exemplares coletados em 12 localidades da região Amazônica e Cerrado, identificando por meio de coloração convencional e bandeamento C, 4 diferentes citótipos para *P. roberti* (2n= 30), com variação de heterocromatina constitutiva e número fundamental, três para *P. longicaudatus* (2n= 28, este apresentando também dados de bandeamento G), um para uma espécie classificada no grupo goeldi (2n= 15) e um para *Proechimys* sp. 1 (2n= 44).

Weksler et al. (2001) em uma análise complexa, envolvendo dados citogenéticos, morfológicos e moleculares, identificaram o cariótipo de *P. roberti* (2n= 30, NF=54) por coloração convencional e bandeamentos G e C. Neste trabalho os autores avaliam o *status* taxonômico de *P. roberti* Thomas, 1901 e *P. oris*, Thomas,

1904, e concluíram que *P. oris* é, na realidade, um sinônimo júnior de *P. roberti*, resolvendo assim uma questão sistemática que se estendia por mais de um século. Esses autores também apresentam uma revisão de todos os dados citogenéticos para o gênero (Tabela 5), cujos agrupamentos taxonômicos seguem a proposta de Patton (1987), evidenciando a grande variabilidade cariotípica do gênero.

Tabela 5 – Espécies de *Proechimys*, classificadas em grupos de acordo com Patton (1987), seus números diplóides, fundamentais e regiões de coletas, apresentado por Weksler et al. (2001).

Grupos de Espécies	**2n**	**NF**	**Localidade**
guyannensis			
P. oris	30	56	Curuá-Una, Pará, Brasil.
P. roberti	30	54-55	Goiás, Tocantins e Maranhão, Brasil.
P. cherriei	40	54	Cairara del Orinoco, Venezuela
P. guyannensis	40	54	Cayenne e Saül, Guiana Francesa.
P. cf. *pattoni* (*guyanensis*)	40	56	Balta, Loreto, Peru.
P. patonni	40	56	Rio Juruá, Amazonas, Brasil.
P. gardneri	40	56	Rio Juruá, Amazonas, Brasil.
goeldii			
P. steerei	24	42	Pucallpa, Peru; Loreto, Peru, sul do Peru.
P. cf. *steerei*	24	44	Ucayali, Peru.
P. amphichoricus	26	44	Território Federal Amazonas, Venezuela.
P. quadruplicatus	28	44	Limoncocha, Napo, Equador.
P. quadruplicatus	28	42	La Poza, Santiago, Peru.

Tabela 5 – Espécies de *Proechimys*, classificadas em grupos de acordo com Patton (1987), seus números diplóides, fundamentais e regiões de coletas, apresentado por Weksler et al. (2001)

(continua)

Grupos de Espécies	**2n**	**NF**	**Localidade**
longicaudatus			
P. longicaudatus	28	48	Rio Jamari, Roraima, Brasil.
P. brevicauda	28-30	48-50	Sul do Peru
P. gularis	30	48	Limoncocha, Equador.
Proechimys sp. 1	28	51-52	Ucayali, Peru.
Proechimys sp. 2	30	50	Ucayali e Loreto, Peru.
Proechimys sp. 3	28	51-52	Loreto, Peru.
Proechimys sp. 4	34	56	Loreto, Peru.
simonsi			
P. simonsi (*hendeei*)	32	58	Balta, Peru; Putumayo, Colômbia.
P. simonsi	32	58	Equador e sul do Peru
P. cf. *simonsi*	32	57-58	Ucayali e Loreto, Peru.
cuvieri			
P. cuvieri	28	46	Rio Uatumã, Amazonas, Brasil.
P. cuvieri	28	50	Cayenne, Guiana Francesa.
trinitatis			
P. poliopus	42	72	Táchira, Zulia e Merida, Venezuela.
P. poliopus	42	76	Kasmera, Los Angeles del Tucuco, Venezuela.
P. guairae	44-50	72	Aragua, Venezuela.

Tabela 5 – Espécies de *Proechimys*, classificadas em grupos de acordo com Patton (1987), seus números diplóides, fundamentais e regiões de coletas, apresentado por Weksler et al. (2001)

(continua)

Grupos de Espécies	2n	NF	Localidade
trinitatis			
P. guairae	46-52	72-74	El Limon, Turiamo, Palmero, Turén, Cueva de Agua e San Juan de Areo, Venezuela.
P. guairae	46-52	72-74	El Limon, Turiamo, Palmero, Turén, Cueva de Agua e San Juan de Areo, Venezuela. (Repetido)
P. guairae	46	68	Aragua, Carabobo e Falcon, Venezuela.
P. guairae	46	70	Ocumare, Aragua, Venezuela.
P. mincae	48	68	Minca (topotipos), Magdalena, Colômbia.
P. guairae spp.	50	66	Cojedes e Portuguesa, Venezuela.
P. trinitatis	62	80	Cueva del Guacharo, Venezuela
P.trinitatis (*P. urichi*)	62	76	Monagas, Venezuela
P. urichi sp.	62	66	Barinas, Venezuela.
Proechimys semispinosus	62	74	Guaquitas, Tierra Buena las Matas, e la Nilita, Venezuela.
P. semispinosus	30	50	Isla Gorgona, Colombia: Choco, Colombia.
P. semispinosus rosa	30	52	Santa Rosa, Ecuador.
P. semispinosus	30	50-54	Limón, Costa Rica; Canal Zone, Panama; Valle, Colombia; Esmeraldas e El Oro, Ecuador.
P. oconnelli	32	52	Meta, Colombia.

Tabela 5 – Espécies de *Proechimys*, classificadas em grupos de acordo com Patton (1987), seus números diplóides, fundamentais e regiões de coletas, apresentado por Weksler et al. (2001)

(fim)

Grupos de Espécies	2n	NF	Localidade
canicollis			
P. canicollis	24	44	Bonda (topotypes), Magdalena, Colombia; Rio Cachiri, Venezuela.
decumanus			
P. decumanus	30	54	Aguas Verdes (topotipos), Tumbes, Peru e Guayas e El Oro, Ecuador.
desconhecidos			
P. echinothrix	32	60	Rio Juruá, Amazonas, Brasil.
P. kulinae	34	52	Rio Juruá, Amazonas, Brasil.
Proechimys sp. 5	14-16	18	Amazonas, Brasil.
Proechimys sp. 6	30	52	Rio Juruá, Roraima, Brasil.
Proechimys sp. 7	32	54	Boyacá, Colombia.
Proechimys sp. 8	44	52	Manaus, Amazonas, Brasil.

Fonte: Weksler et al. (2001)

O conhecimento sobre os mecanismos de rearranjos cromossômicos envolvidos nesta grande variabilidade cariotípica em *Proechimys*, como observada na tabela 5, é obscurecido pela falta de estudos envolvendo bandeamentos. A maioria dos dados citogenéticos reunidos por Weksler et al. (2001), são de trabalhos que apresentam apenas fórmulas cariotípicas. Entre os poucos com bandeamentos estão o de Bueno et al. (1989), para exemplares de *Proechimys sp* 7 (provável *P. chrysaeolus*), cujo cariótipo foi caracterizado por coloração convencional, bandas Q, G, C e marcação de NOR, presente na região intersticial do braço longo do par 7, um submetacêntrico médio.

Bueno & Gómez-Laverde (1993), avaliaram os polimorfismos cromossômicos por bandeamento C em populações de *Proechimys semispinosus* (2n= 30 e NF= 56) de áreas continentais e insulares da Colômbia, verificando a presença de raças cromossômicas, caracterizadas, em algumas, pela ausência quase total de heterocromatina pericentromérica e presença de blocos grandes terminais em vários cromossomos, e em outras, pela presença de blocos pericentroméricos muito pequenos, na maioria dos cromossomos, e blocos terminais pequenos e médios em apenas três pares. Outra diferença identificada foi quanto ao número do par cromossômico portador da constrição secundária, nas populações continentais correspondendo ao par 8 e nas insulares ao par 7, diferença relacionada com a quantidade de heterocromatina em cada.

1.7 CLASSIFICAÇÃO E FILOGENIA EM *Proechimys* AUXILIADAS POR DADOS CITOGENÉTICOS

Vários estudos citogenéticos realizados em populações de *Proechimys* indicaram que os dados cromossômicos permitem caracterizar as espécies com maior precisão que os morfológicos, auxiliando, portanto, na sua classificação e filogenia.

Reig & Useche (1976), evidenciaram em espécimes de *Proechimys* coletados na Venezuela, Perú e Colômbia, variação cariotípica de 2n= 24 a 62, chamando a atenção para o elevado grau de diferenças cromossômicas e escassa diferenciação morfológica.

Benado et al. (1979), realizaram análises de heterozigozidade e grau de polimorfismo em 22 loci gênicos de várias raças das espécies *P. guairae, P. urichi* e *P. trinitatis*, encontradas na Venezuela. Os resultados mostram que a especiação ocorreu com pequena divergência gênica, porém, com grande número de rearranjos cromossômicos; justificando o extenso polimorfismo, e baixa diferenciação morfológica no grupo.

Intrigados por estes achados Reig et al. (1980), analisaram 163 espécimes de *Proechimys*, amostradas em 37 localidades do norte e noroeste da Venezuela, identificando seis cariótipos, 2n=42, 44, 46, 48, 50 e 62, cujas diferenças eram devidas a rearranjos Robertsonianos e inversões pericêntricas. Apesar da pouca precisão dos limites geográficos, o padrão é claramente indicativo de um agrupamento espacial de populações, com variação cariotípica em gradiente, dado que levou a classificação desse grupo em uma superespécie (Tabela 6), seguindo as recomendações de Amadon (1966), denominada *Proechimys* [*guairae*], dividida em três espécies e quatro subespécies.

Tabela 6 – Classificação de espécimes de *Proechimys* encontradas no norte e noroeste da Venezuela

Espécie	**Subespécie**	**2n**
Proechimys [*guairae*] *poliopus*		2n=42
Proechimys [*guairae*] *guairae*	*Proechimys guairae ochraceus*	2n=44
	Proechimys guairae guairae	2n=46
	Proechimys guairae subespécie de Miranda (local de coleta)	2n=48
	Proechimys guairae subespécie de Llano (local de coleta)	2n=50
Proechimys [*guairae*] *sp*.		2n=62

Fonte: Reig et al. (1980)

Gardner & Emmons (1984), baseados em dados morfológicos e citogenéticos, reconheceram quatro grupos de espécies em *Proechimys*: (1) semispinosus (*P. semispinosus, P. chrysaeolus* e *P. oconnelli*), encontrado dentro da área zoogeográfica da América Central e costa pacífica da Colômbia e Equador; (2) brevicauda (*P. amphichoricus, P. bolivianus, P. brevicauda, P. canicollis, P. cuvieri, P.*

decumanus, P. goeldi, P. gularis, P. guyannensis, P. longicaudatus, P. magdalenae, P. oris, P. simonsi, P. steerei, *P. canicollis* e *P. quadruplicatus*, e outros táxons com classificação indefinida) amplamente distribuído na Amazônia; (3) guairae (*P. mincae* e *P. trinitatis*), encontrado na bacia Llanos do nordeste da Colômbia ao norte da Venezuela, e (4) trinomys (*P. albispinus, P. iheringi* e *P. myosurus*), encontrado em regiões serranas do sudeste brasileiro (Figura 7). De acordo com os autores, os grupos semispinosus e brevicauda são filogeneticamente os mais próximos, chamados respectivamente, grupos da América Central e Amazônico e o grupo guairae mais próximo aos dois primeiros que de trinomys.

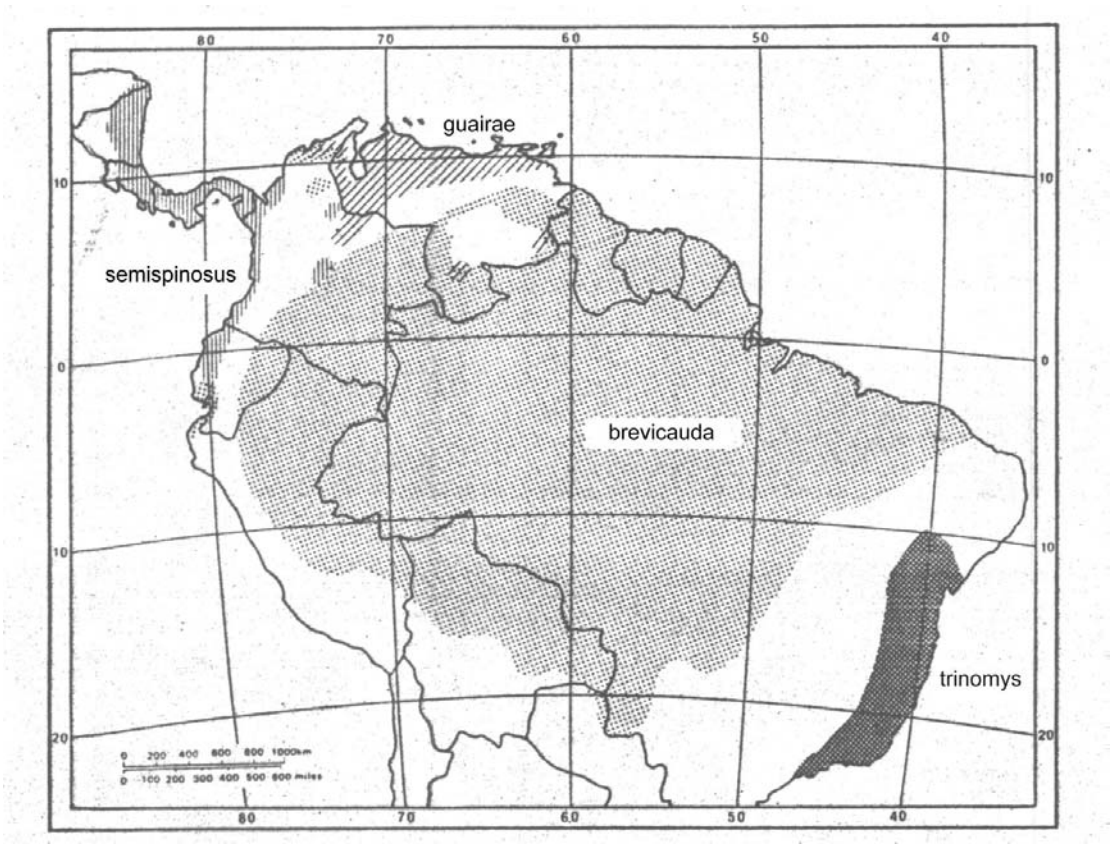


Figura 7 – Distribuição dos grupos de espécies de *Proechimys*, cuja classificação foi baseada em dados morfológicos e citogenéticos (Gardner & Emmons, 1984).

Aguilera & Corti (1994) apresentaram um cladograma (Figura 8) resultante da análise morfológica de 5 espécies de *Proechimys*, distribuidas em 12 populações da Venezuela: *Proechimys sp*. Guaquitas (2n=62), *P. sp*. La Nulita (2n=62), *P. sp*. Tierra Buena (2n=62), *P. guairae* Falcon (2n=46), *P.guairae* Llanos Palmero (2n=50), *P. g. guairae* El limon (2n=48), *P. poliopus* (2n= 42), *P. guairae* Llanos Turén (2n=50), *P. guairae* Turiamo (2n=48), *P. trinitatis* (2n=62), *P. guairae* Oriente (2n=52) e *P. canicollis* (2n=24), concluindo que as mesmas, passaram por sucessivos eventos de especiação. Adicionalmente plotou no cladograma dados citogenéticos obtidos previamente (REIG et al., 1980), sugerindo que o número diplóide tenha aumentado neste grupo ao longo da evolução.

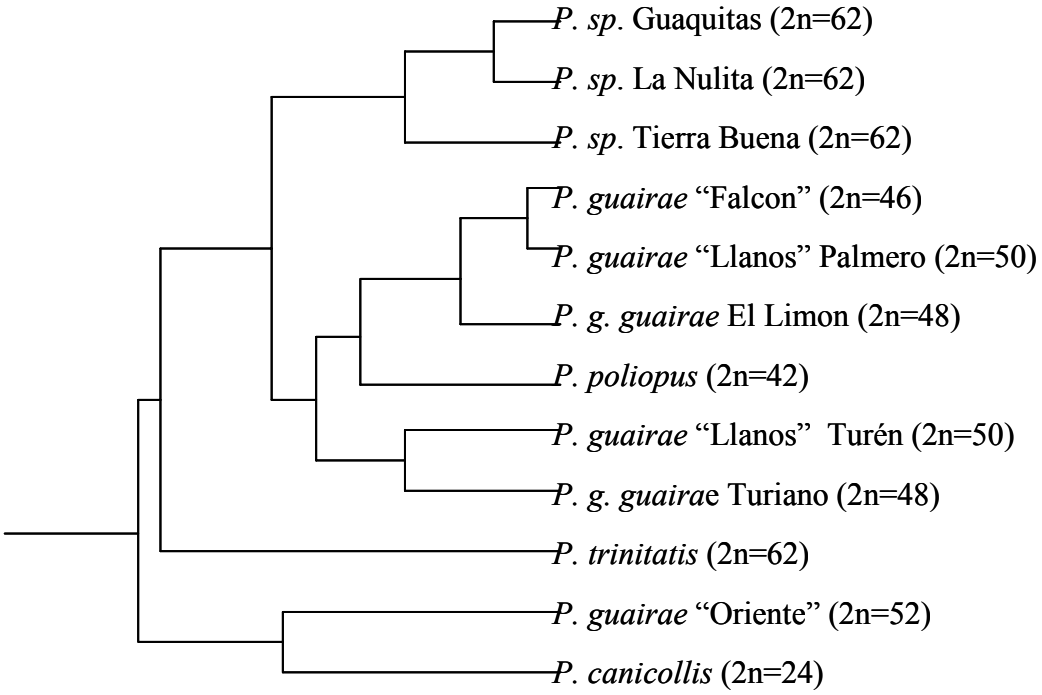


Figura 8 – Cladograma proposto por Aguilera & Corti (1994) para cinco espécies de *Proechimys* (12 populações), baseado em dados morfológicos e com plotagem dos dados citogenéticos.

Patton et al. (2000) apresentaram a mais recente proposta filogenética para *Proechimys*, sendo a mesma baseada em dados moleculares (gene mitocondrial

citocromo b), envolvendo oito espécies encontradas ao longo do rio Juruá, Estados do Amazonas e Acre (Figura 9). Nesse cladograma não foi possível esclarecer as relações filogenéticas entre as espécies *P. brevicauda*, *P. cuvieri*, *P. simonsi*, *P. steerei* e *P. echinothrix* envolvidas em uma politomia, enquanto *P. kulinae*, *P. patoni* e *P. gardneri* ficaram separadas em outro grupo.

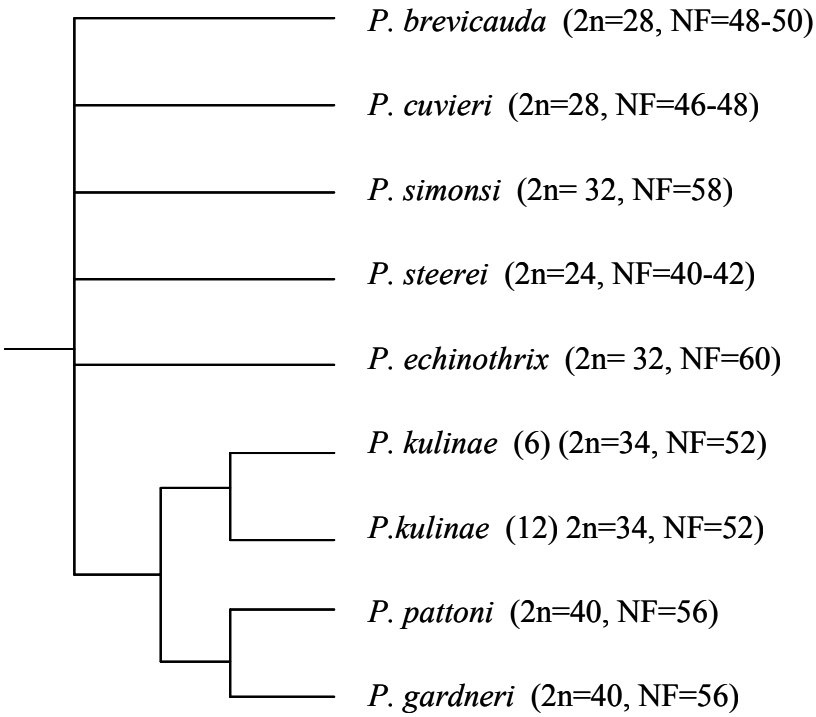


Figura 9 – Cladograma proposto por Patton *et al*. (2000), baseado em dados moleculares, com dados citogenéticos plotados (os números 6 e 12 representam as diferentes localidades de coleta).

2 OBJETIVOS

Levando-se em consideração toda a problemática que envolve o gênero *Proechimys*, quanto à classificação e relações filogenéticas, e considerando que os poucos estudos citogenéticos realizados até o momento, demonstram haver uma grande variabilidade cariotípica, são objetivos do presente trabalho:

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar cariotipicamente espécies de roedores do gênero *Proechimys*, encontradas na Amazônia brasileira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar cromossomicamente cinco espécies de *Proechimys*, *Proechimys steerei*, *P. cuvieri*, *P. roberti*, *P. somonsi*, *Psp* 9 (citótipo novo), encontradas na Amazônia brasileira, quanto ao número diplóide (2n), número fundamental (NF), localização das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) e padrões de bandas G e C;
- Fazer uma análise comparativa inter e intra-específicas dos cariótipos estudados, visando identificar os rearranjos cromossômicos ocorridos durante a evolução, assim como os possíveis polimorfismos;
- Comparar os resultados obtidos com os descritos na literatura para o gênero *Proechimys*;
- Propor, com base nos dados cromossômicos obtidos neste e em outros trabalhos, uma filogenia para as espécies analisadas;

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESPÉCIMES

Foram estudadas cinco espécies de *Proechimys*, procedentes de três municípios da Amazônia brasileira (Figura 10), totalizando 30 exemplares. Destas, três - *P. cuvieri* (1 macho e 2 fêmeas), *P. simonsi* (7 machos e 6 fêmeas) e *P. sp.9* (1 fêmea) - são procedentes de Plácido de Castro (Figura 10A), estado do Acre, Km 7 da estrada de acesso ao município, localidade de Birroque; uma espécie, *P. roberti* (3 machos e 2 fêmeas) de Abaetetuba, estado do Pará, (Figuras 10B1 e 10B2), região insular, desses, um casal foi cedido pelo Biotério do Instituto Evandro Chagas -IEC e uma espécie *P. steerei* (4 machos e 4 fêmeas) em Pauiní, estado do Amazonas (Figura 10C), estrada do Macutí.

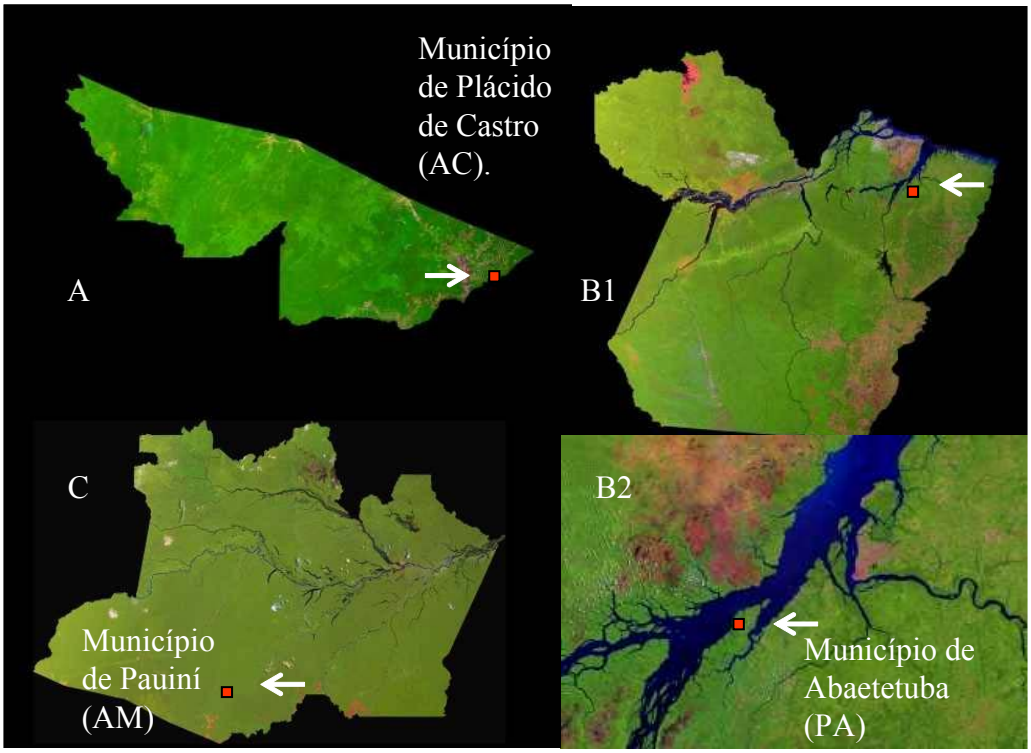


Figura 10 – Mapas com os pontos de coleta das espécies *P. cuvieri*, *P. simonsi*, *P. sp*. 9 (A), *P. roberti* (B) e *P. steerei* (C).

3.2 COLETAS DOS ESPÉCIMES

As coletas foram realizadas a partir das 18:00 h, utilizando-se 50 armadilhas Sherman, que foram armadas, em locais considerados propícios, matas primárias e secundárias, usando-se grãos de milho como isca. As armadilhas foram inspecionadas pela manhã e os animais de interesse capturados, e transportados até o laboratório de Citogenética Geral da UFPA, ou de Hepatologia Animal do IEC, onde foram processados ao todo 30 exemplares de *Proechimys*.

3.3 PREPARAÇÕES CROMOSSÔMICAS

3.3.1 Obtenção de Cromossomos Metafásicos - Método Direto

Os cromossomos foram obtidos pela técnica de Ford & Hamerton (1956), com modificações:

– O animal foi colocado no interior de uma cuba anestésica e sacrificado por inalação de vapores de éter;

– Em seguida foi afixado sobre uma bancada, e o fêmur esquerdo extraído e colocado em uma placa de Petri contendo 5 mL de uma solução de Hanks gelada, pH 7,0;

– As epífises foram cortadas e a medula extraída por jatos da solução de Hanks, utilizando-se uma seringa de vidro de 5 mL;

– Após a separação celular, o material foi colocado em tubo de centrífuga, homogeneizado e centrifugado a uma velocidade de 1000 rpm durante 10 minutos;

– O sobrenadante foi desprezado e o sedimento, ressuspenso suavemente em 10 mL de solução hipotônica de Cloreto de Potássio (KCl) a 0,56

% ou 0,075 M a uma temperatura de 37^0C;

– À suspensão celular foram acrescentados 0,1 mL de solução de colchicina na concentração de 0,0016%, sendo então colocada em estufa a 37^0C por 40 minutos;

– Após este tempo, foi acrescentado 1 mL de fixador Carnoy (3 mL de metanol para 1 mL de ácido acético glacial), e a suspensão foi homogeneizada com pipeta Pasteur;

– O material foi centrifugado a 1000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento, ressuspenso com pipeta Pasteur em 5 mL de fixador (3:1);

– Este procedimento foi repetido mais duas vezes, sendo que na última vez, após desprezar o sobrenadante, acrescentou-se uma pequena quantidade de fixador (3:1), suficiente para que a suspensão celular apresente uma concentração adequada.

3.3.2 Obtenção de Cromossomos Metafásicos – Cultura de Fibroblasto

As culturas de fibroblasto foram realizadas pelo Biomédico Jorge Rissino, no Laboratório de Citogenética Animal do Centro de Ciências Biológicas da UFPA (Belém – PA), utilizando biópsias de orelha e cauda dos animais em estudo, com o seguinte procedimento:

3.3.2.1 Obtenção das Biópsias

– Foi feita assepsia completa no local a ser realizada a biópsia (extremidade da orelha e/ou cauda), por meio de lavagens sucessivas com algodão embebido em acetona, álcool etílico a 70 %, éter e

Merfene (solução desinfetante, contendo 0,05 g de borato de fenilmercúrio, 50 mL de metanol a 95 % e 100 mL de água deionizada), respectivamente, repetidas vezes;

– Com o auxílio de tesoura e pinça, devidamente esterilizadas por flambagem em bico de Bunsen, as biópsias foram obtidas e colocadas em frascos de vidro contendo 2 mL de meio de cultura Dulbecco's (DMEM) com 5 % de soro bovino fetal e uma composição de dois antibióticos, Penicilina (100 U/mL) e Streptomicina (100 mg/mL) e deixado em geladeira por 24 h.

3.3.2.2 Semeadura da Cultura

As etapas que envolvem o cultivo celular foram realizadas em condições de assepsia, em uma capela de fluxo laminar, como segue:

– As biópsias foram transferidas para placas de Petri estéril contendo 0,5 mL de meio de cultura completo (DMEM com 20% de soro bovino fetal). Com o auxílio de pinça e tesoura esterilizadas, as biópsias foram picotadas em fragmentos com cerca de 1 mm^3 e depois colocadas na superfície inferior de garrafas de cultura, de 25 cm^2 (marcas Corning, Falcon ou Costar), previamente umedecidas com soro bovino fetal;

– As garrafas de cultura foram viradas, e nelas acrescentados 2 mL de meio completo, na parede superior. Foram fechadas e deixadas em repouso por 15 a 30 minutos em estufa a 37^0C. Após esse tempo foram novamente viradas, cuidadosamente, para que os fragmentos entrassem em contato com o meio de cultura, e deixadas em estufa a 37^0C por aproximadamente cinco dias;

– Quando as células começaram a proliferar, foram adicionados mais 3 mL de meio completo e as garrafas foram retornadas para a estufa a 37^0C.

Durante essa etapa, foram necessárias observações diárias das garrafas de cultura para controlar o pH do meio, que deve ficar na faixa de 7,4 a 7,6. No caso de muita acidez, foram adicionadas algumas gotas de bicarbonato de sódio (NaHCO2) 2,8 % e, para neutralizar a alcalinidade, foi usado HEPES 2,5 % (N-2-hidroxi-etil-piperazina-N'-2-ácido etanossulfônico).

Ocorrendo o crescimento celular, o meio de cultura foi trocado para remoção de produtos tóxicos do metabolismo e reposição de nutrientes.

Com a proliferação celular, as mesmas cobrem toda a superfície do frasco, formando uma camada basal ou monocamada, ocorrendo inibição por contato, o que leva ao seu envelhecimento e conseqüente morte. Para evitar isso, é necessária a repicagem das células, fazendo-se a tripsinização.

3.3.2.3 Tripsinização e Repique

– Os meios de cultura foram desprezados das garrafas e adicionados 2 mL de solução de Hanks sem Ca++ e Mg++, agindo por 2 a 5 minutos à temperatura ambiente; em seguida os sobrenadantes foram desprezados e acrescentados 3 mL de solução de tripsina 0,125 % e EDTA 0,02 % (Etileno Diamino Ácido Tetracético) diluídos em Hanks sem Ca++ e Mg++, e feito o monitoramento no invertoscópio para observar a mudança na forma das células de alongadas (células aderidas) a arredondadas (células propensas a soltura);

– O sobrenadante foi desprezado, adicionados 2 mL de meio completo e

dadas batidas nas paredes laterais das garrafas de cultura, com a palma das mãos, afim de soltar as células, observando em seguida no invertoscópio se o desprendimento ocorreu;

– De cada garrafa, metade do material, aproximadamente metade das células, foi transferido para uma garrafa nova. Nas duas garrafas foram acrescentadas meio DMEM com 20 % de soro bovino fetal até completar um volume de 5 mL, sendo novamente colocadas em estufa a 37^0C. Após o crescimento celular, antes de completar a monocamada de células, algumas garrafas foram preparadas para a obtenção de cromossomos metafásicos e outras para congelamento em nitrogênio líquido.

3.3.2.4 Colheita do Material para Preparação Cromossômica

– Foram colocados 0,1 mL de colchicina a 0,0016 % em cada garrafa de cultura, as quais retornaram para a estufa a 37^0C;

– Após 1 hora, os meios foram transferidos para tubos de centrífuga, juntamente com as células que restavam na garrafa de cultura, após tripsinizadas, aproveitando-se ao máximo todo o material;

– O material celular foi centrifugado a 1000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante desprezado;

– Foram adicionados 8 mL de solução hipotônica de KCl 0,056 % ou 0,075 M. A suspensão foi homogeneizada e deixada em banho-maria a 37^0C durante 8 minutos. Em seguida, se procedeu como nos dois últimos itens da preparação direta de medula óssea, com fixação progressiva e preparo das lâminas.

3.4 PREPARAÇÃO DE LÂMINAS

– Lâminas, devidamente lavadas e mantidas em álcool a 70 %, foram secas com papel toalha e colocadas sobre um suporte no interior de um banho-maria a 60^0C, até ficarem umedecidas pelo vapor;

– A suspensão celular foi gotejada apenas uma vez em cada lâmina deixando-as secar a temperatura ambiente;

– As lâminas foram identificadas, guardadas em caixas plásticas apropriadas, e mantidas em refrigerador até o procedimento de análise.

3.5 TÉCNICAS DE CITOGENÉTICA CLÁSSICA.

3.5.1 Coloração Convencional por Giemsa

– As lâminas com o material fixado foram colocadas sobre um suporte e coradas com solução de Giemsa (MERCK), diluída em tampão fosfato (solução B, 10,6794 g de Na_2HPO_4. $2H_2O$, diluídos em 1 litro de água destilada, e solução A, 8,1654 g de KH_2PO_4, diluídos em um litro de água destilada, sendo essas soluções misturadas em proporções iguais), pH 6,8 na proporção de 1:30, durante 10 minutos;

– Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente.

3.5.2 Bandeamento G, segundo Seabright (1971), com modificações

– As lâminas foram colocadas em solução de 2XSSC ($Na_3C_6H_6O_7.2H_2O$ citrato de sódio 8,82 g + NaCl cloreto de sódio 17,532 g para 1 L de água destilada) por 5 segundos;

– Foram lavadas em água destilada e secas em temperatura ambiente;

– A seguir, foram coradas com solução de Wright (2,5 g do corante Wright (SIGMA), diluído em 1000 mL de metanol MERCK) diluída em tampão fosfato pH 6,8 a uma proporção de 1:3, durante dois minutos e trinta segundos.

3.5.3 Bandeamento C (CBG), segundo Sumner (1972), com modificações

– As lâminas foram colocadas em solução de hidróxido de bário ($BaOH_2$) a 2 %, por 30 segundos a 60^0C, e passadas rapidamente em solução de ácido clorídrico (HCl) a 0,2 N;

– Foram lavadas em água destilada e secas ao ar;

– Em seguida foram colocadas em solução de 2 X SSC por 3 minutos a 60^0C;

– Foram lavadas e secas novamente;

– Em seguida foram coradas com solução de Giemsa diluído em tampão fosfato na proporção de 1: 30, por 40 minutos.

3.5.4 Bandeamento G/C Seqüencial.

– Algumas metáfases fotomicrografadas após o bandeamento G, foram descoradas em bateria de álcool a 30%, 60%, 90%, 60% e 30%, permanecendo um minuto em cada diluição;

– Após a descoloração, as lâminas foram submetidas ao bandeamento C com tempo reduzido de imersão nas soluções de hidróxido de bário 5% (10 segundos) e 2 X SSC (1 minuto);

– As lâminas foram coradas com solução de Giemsa e as metáfases fotomicrografadas novamente.

3.5.5 Marcação de Região Organizadora de Nucléolo (NOR), segundo Howell & Black (1980).

– As lâminas foram colocadas sobre um suporte e sobre elas, duas gotas de solução de gelatina (5 g de gelatina + 25 mL de água deionizada à 60^0 C + 0,25 mL de ácido fórmico), e quatro gotas de solução de nitrato de prata (AgNO3), a 50 %;

– Este material foi coberto com uma lamínula;

– A lâmina foi invertida e colocada em uma câmara úmida escura, que foi levada para a estufa à 60^0C por cerca de 5 minutos, estando este tempo sujeito a variações;

– Após isto, a lâmina foi lavada, seca e corada por 1 minuto com solução de Giemsa diluída em tampão fosfato pH 6,8 a uma diluição de 1:100.

3.6 ANÁLISE CROMOSSÔMICA

3.6.1 Análise das Células

– As lâminas processadas com as técnicas acima descritas foram analisadas em foto microscópio Carl Zeiss III, e Axiophot inicialmente com objetivas de menor aumento 10 X, 16 X, 40 X, ocular de 10 X, e optovar 1,25. Assim as melhores metáfases foram selecionadas e fotomicrografadas, com filme Imagelink, utilizando-se DIN 6, ASA 3,2, e optovar 1,25 em filtro verde, com objetiva de imersão (100 X) e ocular de 10 X;

– O filme foi revelado em revelador D-76 (Kodak) e fixado em fixador (Kodak); ambos diluídos em 1 L de água destilada, seguindo o protocolo do fabricante;

– Para as cópias fotográficas utilizou-se papel Kodabrome Print F3 (Kodak), revelador dektol (Kodak) e fixador (Kodak);

– As cópias fotográficas dos cromossomos foram recortadas e montadas considerando-se a morfologia e a ordem decrescente de tamanho.

3.6.2 Análise Cladística

Neste estudo foram determinadas as relações de similaridades cromossômicas por padrões de bandeamento G (homeologias), entre as espécies de *Proechimys* analisadas neste trabalho e de trabalhos já publicados como: *P. sp*. 7, 2n= 32, NF= 56 (BUENO et al., 1989); *P. sp*. 8, 2n=44, NF=52; *P. sp*. 2, 2n= 30, NF= 52; e *P. longicaudatus*, 2n=28, NF= 48 (LEAL–MESQUITA, 1991). Foi usado como grupo externo o cariótipo da espécie *Trichomys apereoides*, 2n= 30, NF= 54 (LEAL-MESQUITA et al., 1993), por ser a mais próxima filogeneticamente de *Proechimys*, depois de *Hoplomys gymnurus* (não estudado citogeneticamente), de acordo com as análises filogenéticas de Lara et al. (1996) e Leite & Patton (2002).

Os caracteres escolhidos foram as diferenças cromossômicas, detectadas pela análise comparativa, dos padrões de bandeamento, entre as espécies estudadas, de acordo com Nagamachi et al. (1999). Essas diferenças foram convertidas em dados numéricos e utilizadas para a construção da Matriz Básica de Dados (MBD), observada no Apêndice 1. Os caracteres, formas alternativas dos cromossomos, são do tipo discretos (qualitativos) e binários ou duplo estado (presença ou ausência). Foi atribuído peso igual para todos os caracteres. A presença de determinado caráter foi representado na matriz pelo valor 1 e a ausência, pelo valor 0.

A MBD foi analisada, usando-se o programa “Phylogenetics Analysis

Under Parsimony" (PAUP- SWOFFORD, 2002), pelo método de máxima parcimônia, polarizada com os dados de cromossomos G-bandeados da espécie *Trichomys apereoides*, e realizando busca heurística de 2000 réplicas, afim de, apresentar árvores filogenéticas mais parcimoniosas.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA

Proechimys steerei apresenta 2n= 24 e NF= 42 (Figura 11) dos quais 2 pares de cromossomos autossômicos são de dois braços (metacêntricos-submetacêntricos) de tamanhos grandes (pares 1 e 2), 8 pares são de dois braços de tamanhos médios a pequenos (pares 3 a 10) e um par acrocêntrico pequeno (par 11). Os pares 1 e 4 apresentam heteromorfismo de tamanho. O cromossomo X é um acrocêntrico de tamanho médio e o Y, um acrocêntrico pequeno. A Figura 12 ilustra o padrão de bandas G desta espécie, na qual, constata-se uma translocação recíproca envolvendo parte dos braços longos dos cromossomos 1 e 4, resultando no heteromorfismo descrito acima. A heterocromatina constitutiva está presente nas regiões pericentroméricas dos pares 1 a 8 e dos cromossomos X e Y, não sendo observada nos três últimos pares de autossomos, pares 9, 10 e 11 (Figura 13). As NORs estão localizadas na região intersticial distal, no braço longo do par 5 (Figura 14).

Proechimys cuvieri apresenta 2n= 28 e NF= 48 (Figura 15), dos quais 3 pares autossômicos são cromossomos grandes de dois braços (pares 1 a 3), 8 pares de dois braços com tamanho variando de médio a pequeno (pares 4 a 11), e dois pares são acrocêntricos pequenos (pares 12 e 13). O par 8 possui uma constrição secundária intersticial no braço longo. O cromossomo X é um acrocêntrico de tamanho médio e o Y, um metacêntrico pequeno. A Figura 16 ilustra o padrão de bandas G desta espécie. A

heterocromatina constitutiva está presente em pequena quantidade, na região pericentromérica de todos os cromossomos, exceto do par sete (Figura 17). As NORs estão localizadas na constrição secundária do braço longo do par 8 (Figura 18).

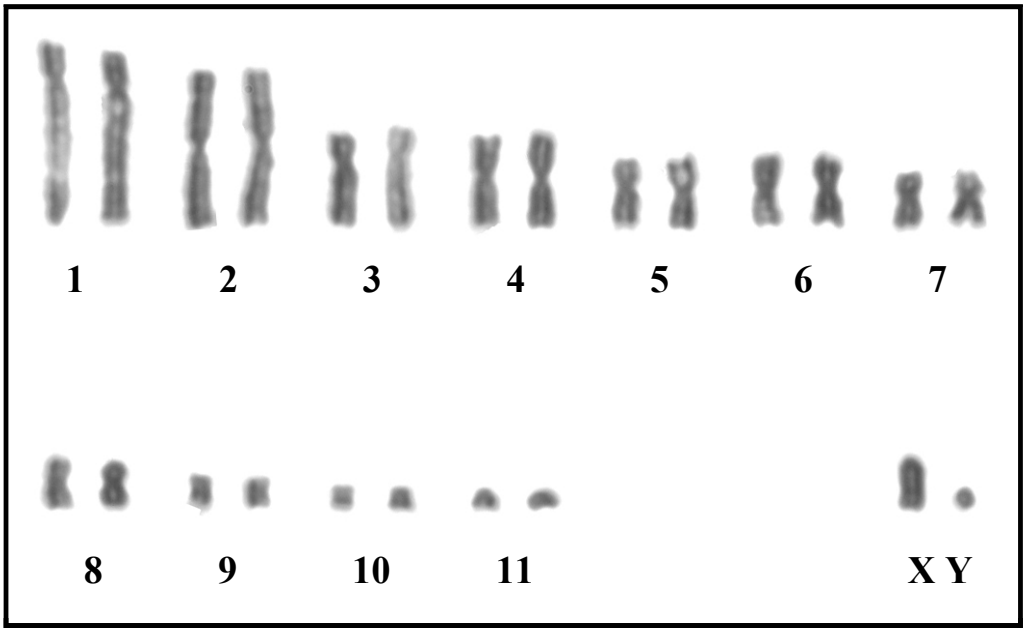


Figura 11 – Cariótipo em coloração convencional de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho.

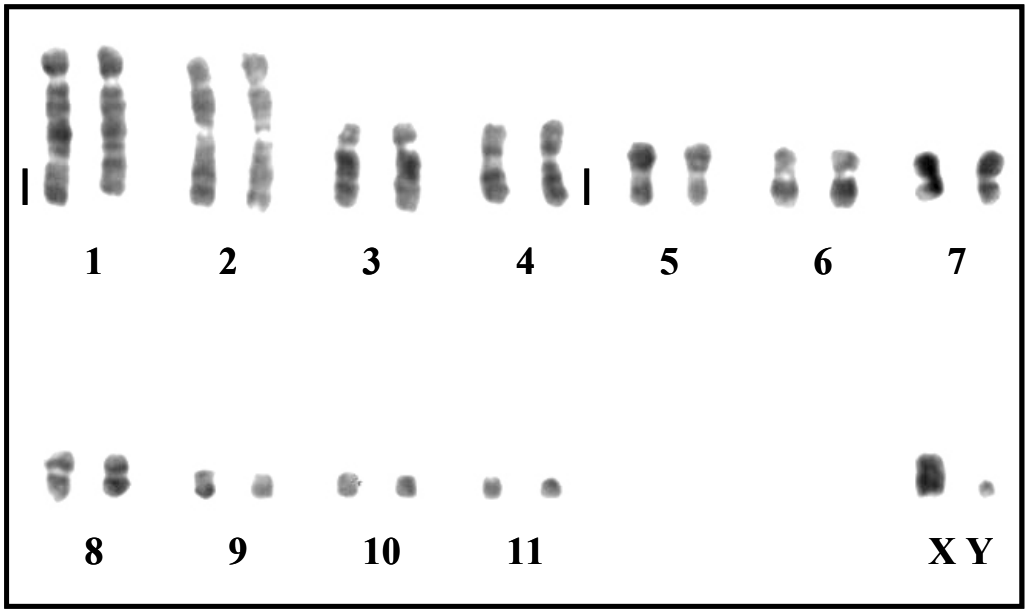


Figura 12 – Cariótipo G-bandeado de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho. As barras

indicam os segmentos homólogos translocados.

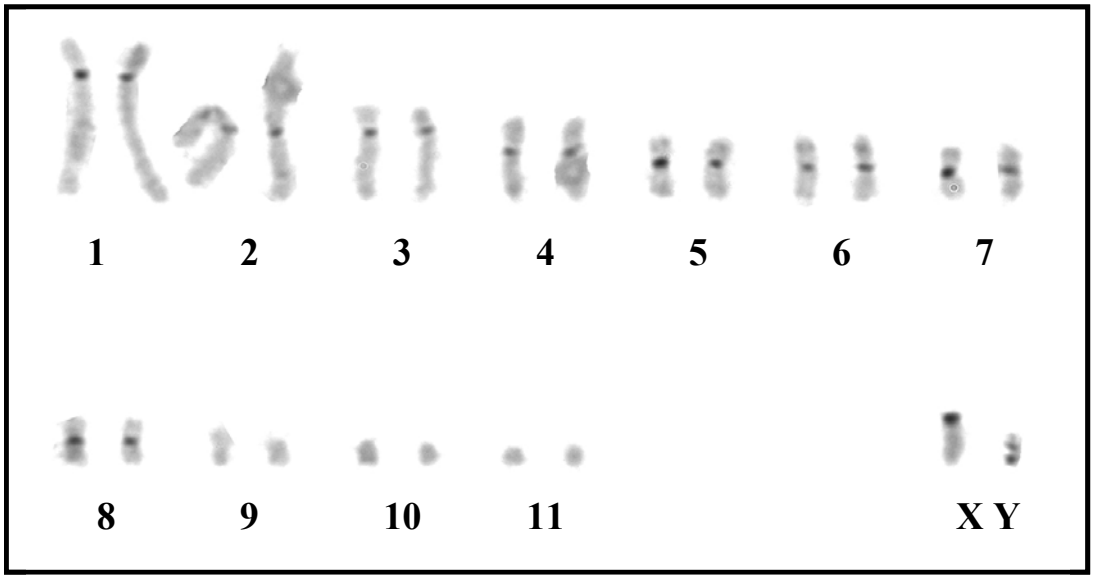


Figura 13 –Cariótipo C-bandeado de *P. steerei* (2n=24, NF= 42), macho.

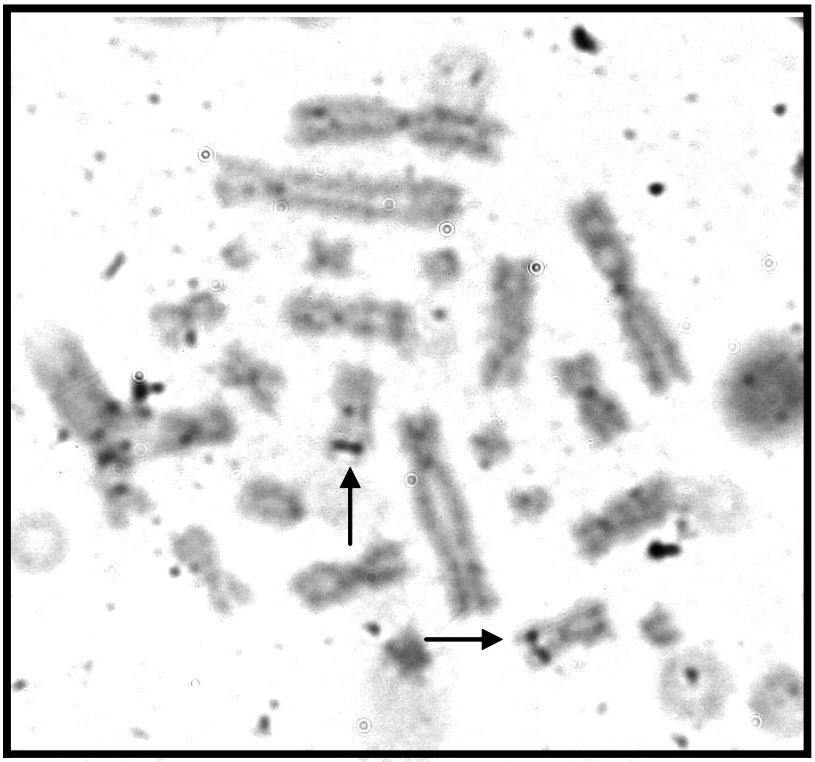


Figura 14 – Marcação de NOR no braço longo do par 5 de *P.steerei* (2n=24, NF=42).

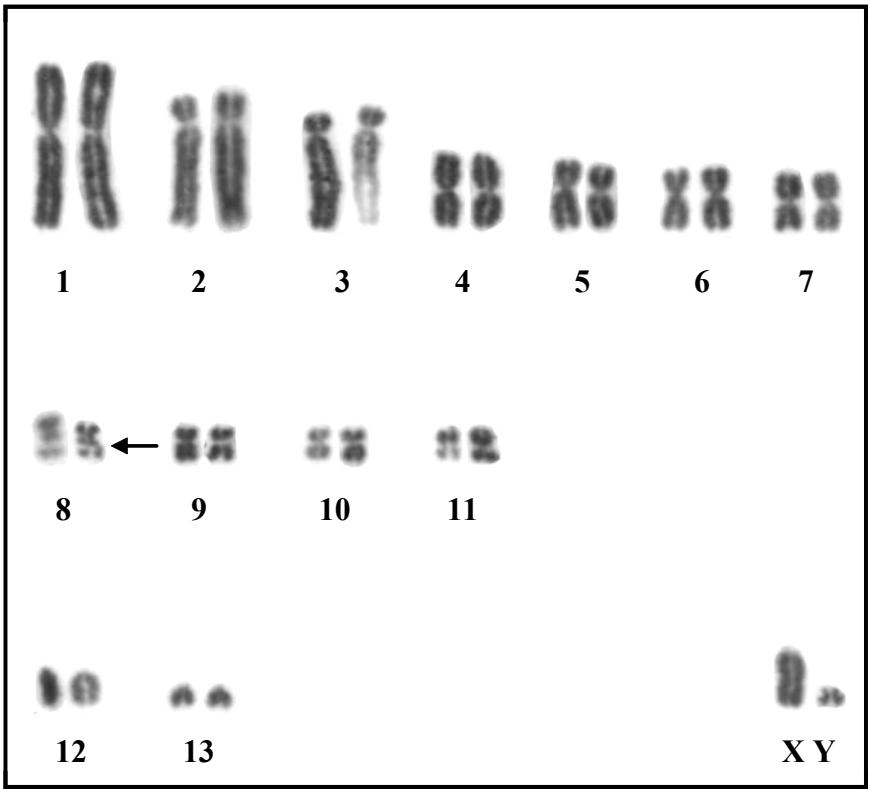


Figura 15 – Cariótipo em coloração convencional de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho. A seta indica uma constrição secundária intersticial no braço longo do par 8.

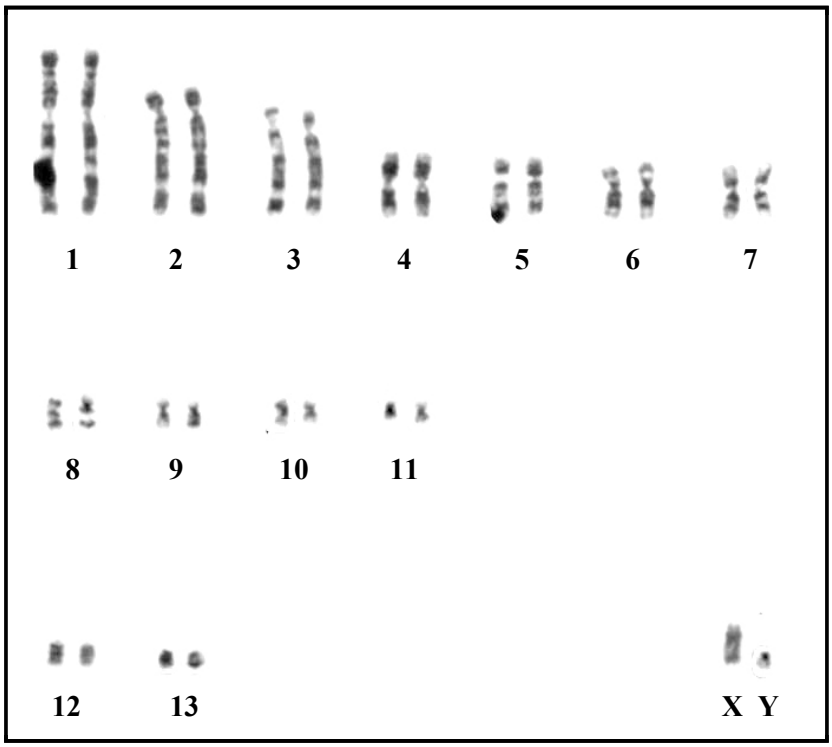


Figura 16 – Cariótipo G-bandeado de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho.

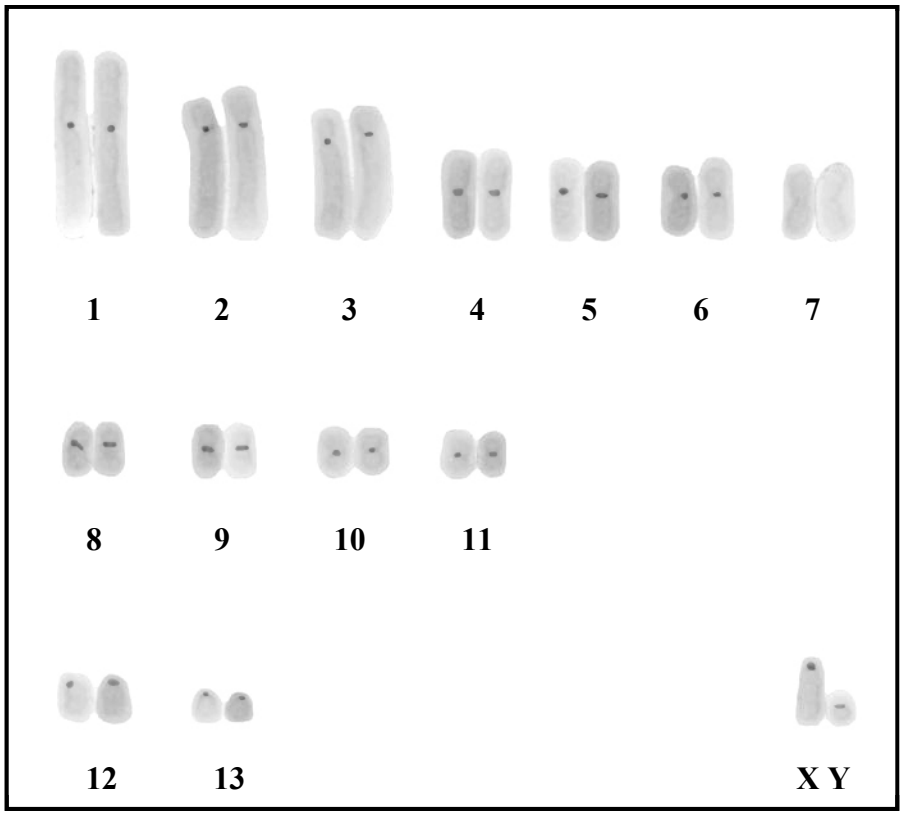


Figura 17 – Cariótipo C-bandeado de *P. cuvieri* (2n=28, NF= 48), macho.

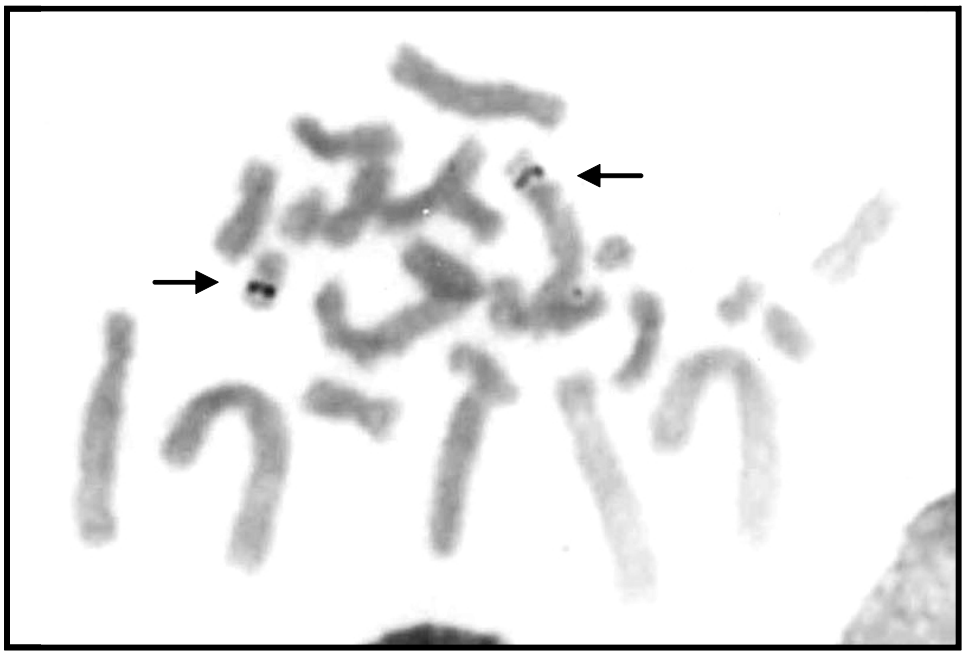


Figura 18 – Marcação de NOR em cromossomos de *P.cuvieri* (2n=28, NF=48). As setas indicam a região organizadora de nucléolo na região da constrição secundária do par 8.

Proechimys roberti apresenta 2n= 30 e NF= 54 (Figura 19), dos quais 4 pares autossômicos são cromossomos grandes de dois braços (pares 1 a 4), 9 pares de dois braços são de tamanho médio a pequeno (pares 5 a 13), e 1 par é acrocêntrico pequeno (par 14). O cromossomo X é um submetacêntrico médio e o Y, um acrocêntrico pequeno. A Figura 20 ilustra o padrão de bandas G desta espécie. A heterocromatina constitutiva está presente em pequena quantidade, nas regiões pericentroméricas dos cromossomos 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e X, não sendo observada nessa região nos demais; forma blocos na região distal do braço curto dos cromossomos 3 e 7, na região distal no braço longo dos pares 10, 11, 12, 13 e 14 e distal em ambos os braços do par 9 e o cromossomo Y possui todo o braço longo heterocromático (Figura 21). As NORs estão localizadas na constrição secundária do braço longo do par 9 (Figura 22).

Proechimys simonsi apresenta 2n= 32 e NF= 56 (Figura 23), dos quais 14 pares autossômicos são de dois braços, sendo 2 submetacêntricos grandes (pares 1 e 2) e 10 pares metacêntricos com tamanho variando de médio a pequeno (pares 4 a 13), 2 pares são subtelocêntricos, um grande (par 3) e um pequeno (par 15) e 1 par é acrocêntrico médio (par 14). O cromossomo X é um acrocêntrico médio. A Figura 24 ilustra o padrão de bandas G desta espécie. A heterocromatina constitutiva está presente em pequena quantidade, nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos, exceto do par 7, sendo o braço curto do par 15 totalmente heterocromático (Figura 25). As NORs estão localizadas na constrição secundária do braço longo do par 8 (Figura 26).

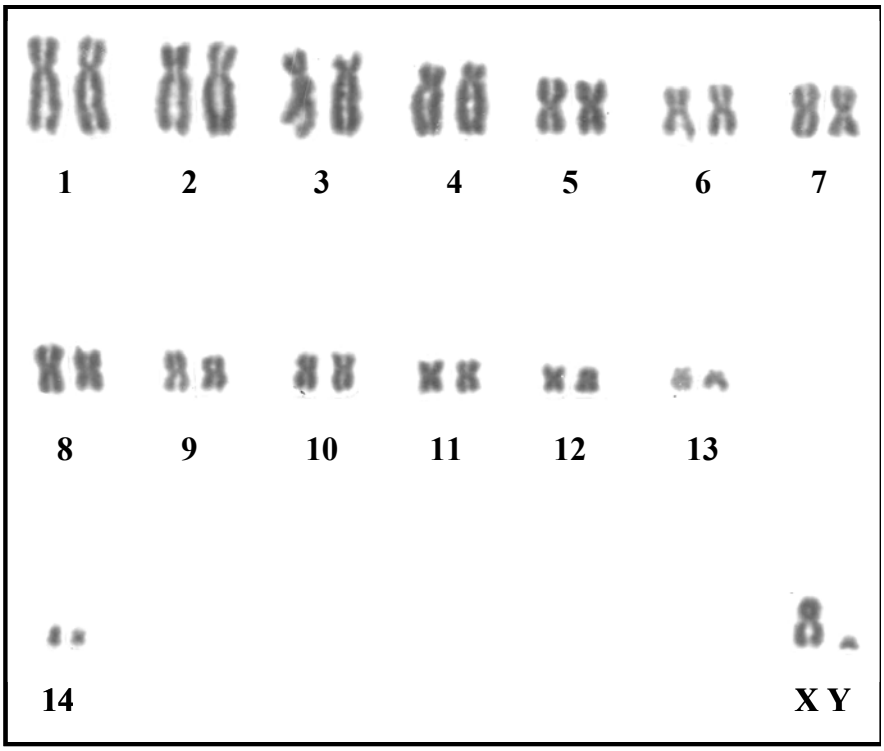


Figura 19 – Cariótipo em coloração convencional de *P. roberti* (2n=30, NF= 54), macho.

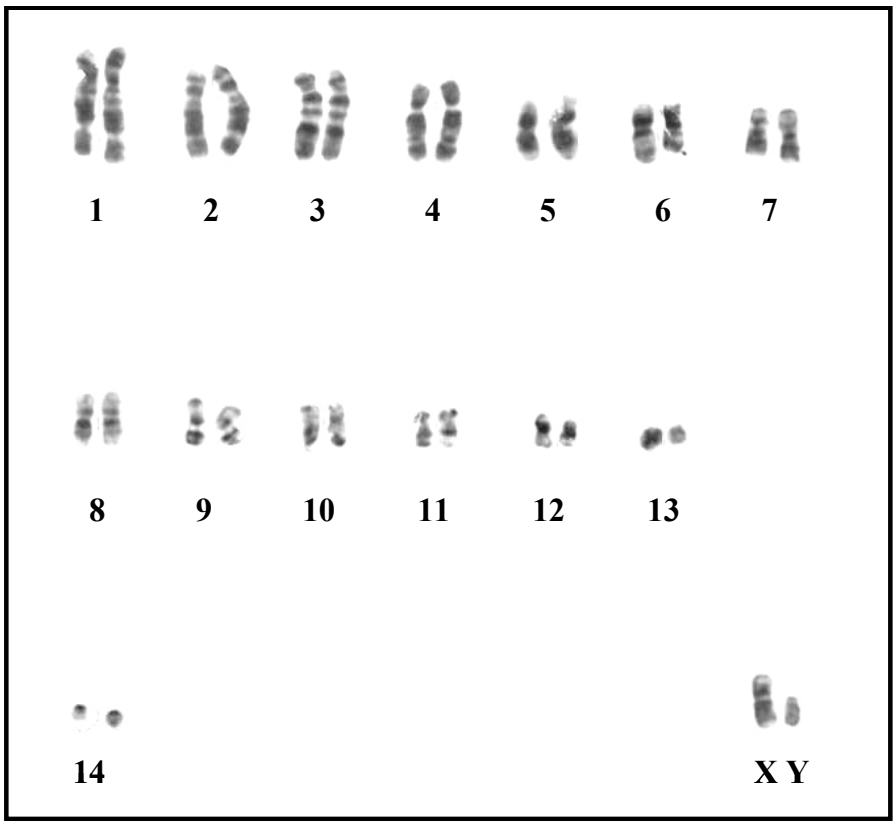


Figura 20 – Cariótipo G-bandeado de *Proechimys roberti* (2n=30, NF= 54), macho.

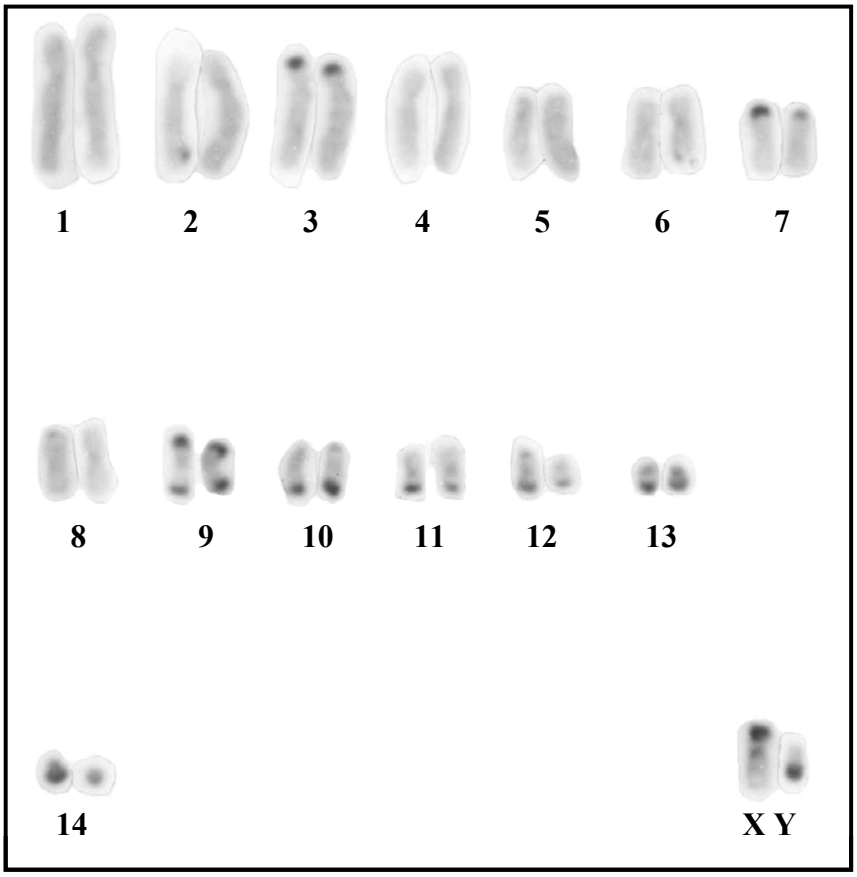


Figura 21 – Cariótipo C-bandeado de *Proechimys roberti* (2n=30, NF= 54), macho.

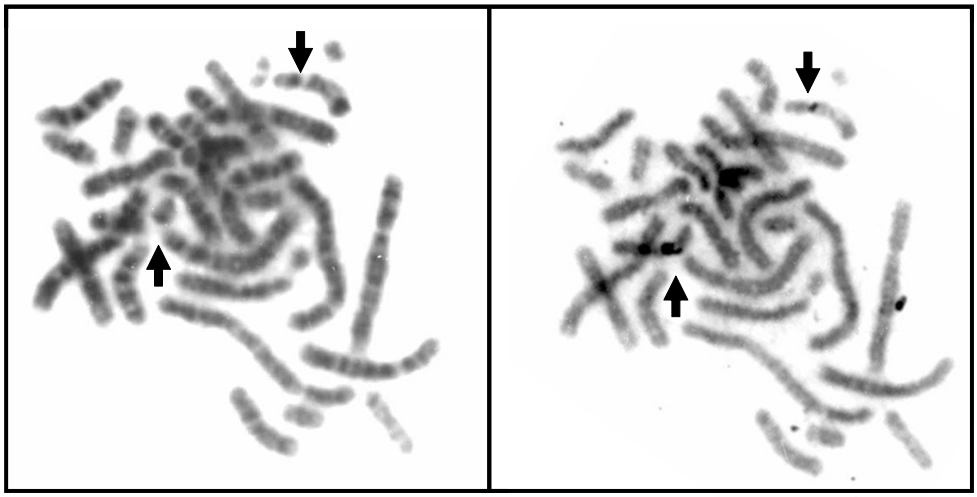


Figura 22 – Marcação de NOR em *P.roberti* (2n=30, NF=54). Marcação seqüênciada de bandeamento G. As setas indicam a constrição secundária e região organizadora de nucléolo, no par 9.

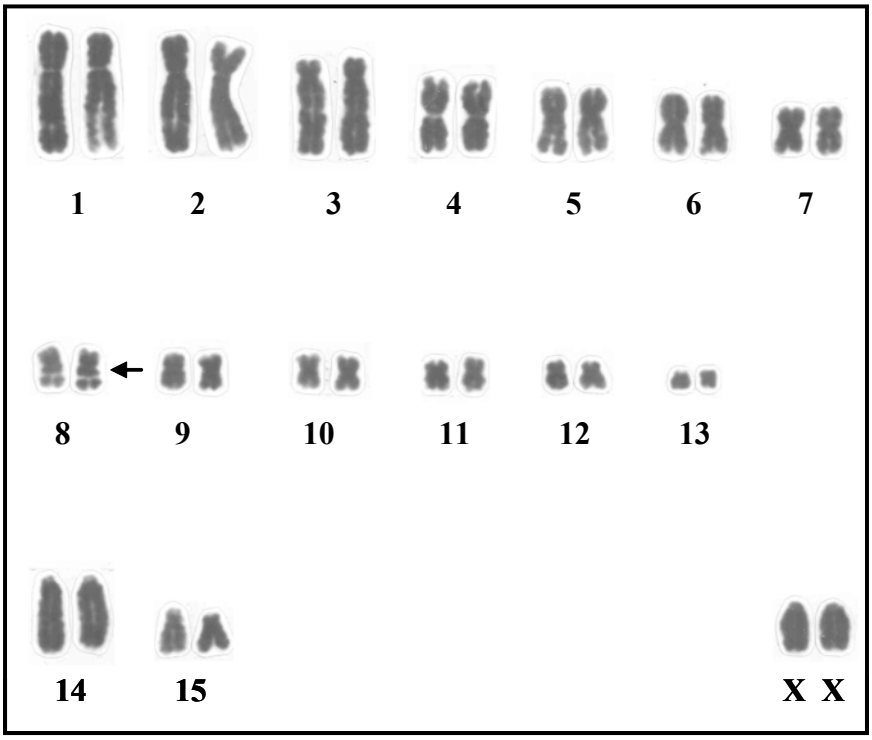


Figura 23 – Cariótipo em coloração convencional de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56), fêmea. A seta indica a constrição secundária no braço longo do par 8.

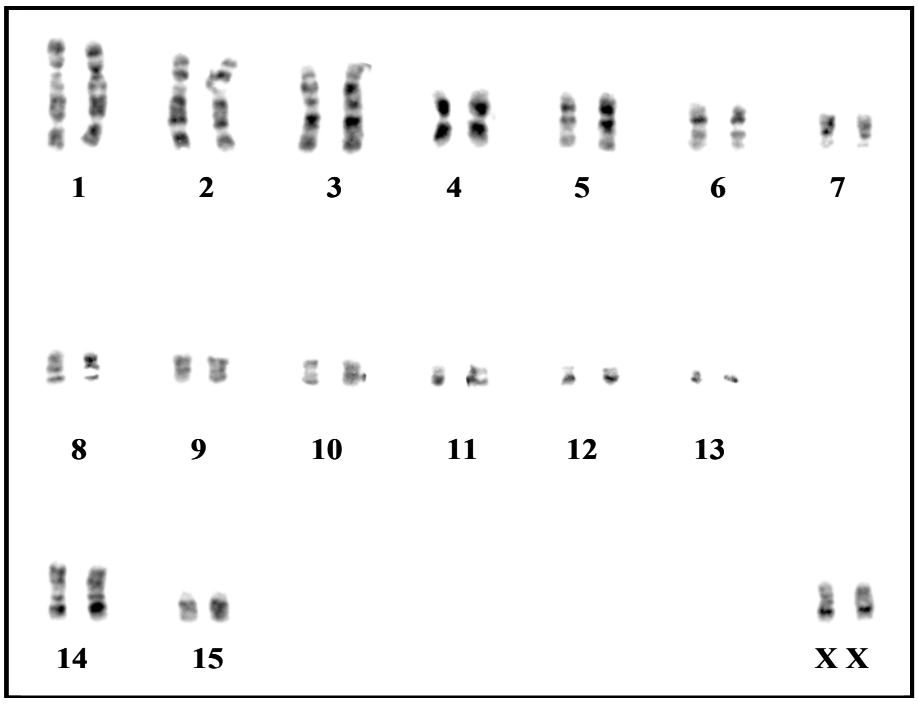


Figura 24 – Cariótipo G-bandeado de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56), fêmea.

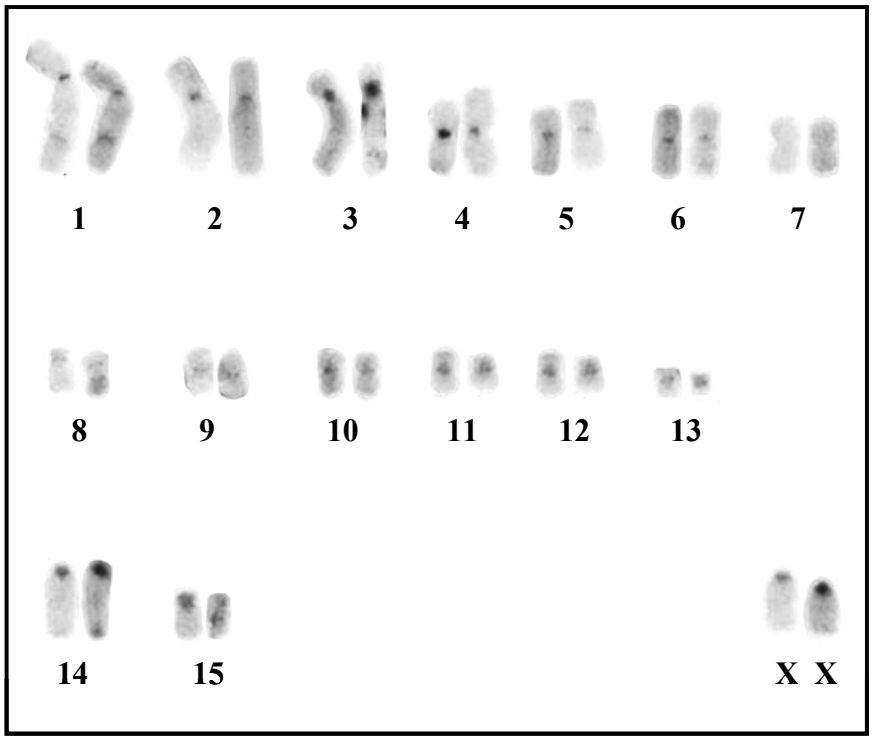


Figura 25 – Cariótipo C-bandeado de *Proechimys simonsi* (2n=32, NF= 56), fêmea.

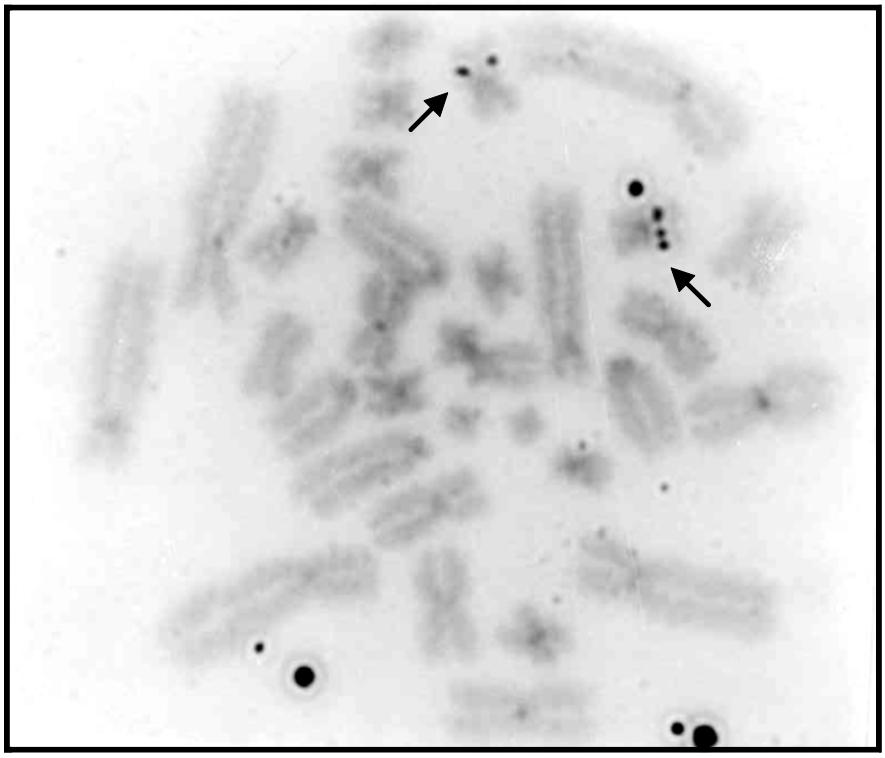


Figura 26 – Marcação de NOR no par 8 de *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56) fêmea. As setas indicam a região organizadora de nucléolo na constrição secundária do par 8.

P.sp. 9 apresenta 2n= 36 e NF= 58 (Figura 27), dos quais 11 pares autossômicos são de dois braços, sendo 2 pares grandes (pares 1 e 2) e 9 pares de tamanhos variando de médios a pequenos (par 3 e pares 5 a 12), 1 par é subtelocêntrico médio (par 4) e 5 pares são acrocêntricos de tamanho médio a pequeno (pares 13 a 17). O cromossomo X é um acrocêntrico médio. O par 7 apresenta uma constrição secundária na região intersticial do braço longo. A figura 28 ilustra o padrão de bandas G dessa espécie. A heterocromatina constitutiva esta presente, em pequena quantidade, nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos, exceto nos pares 3 e 6 (Figura 29). As NORs estão localizadas na constrição secundária do par 7 (Figura 30)

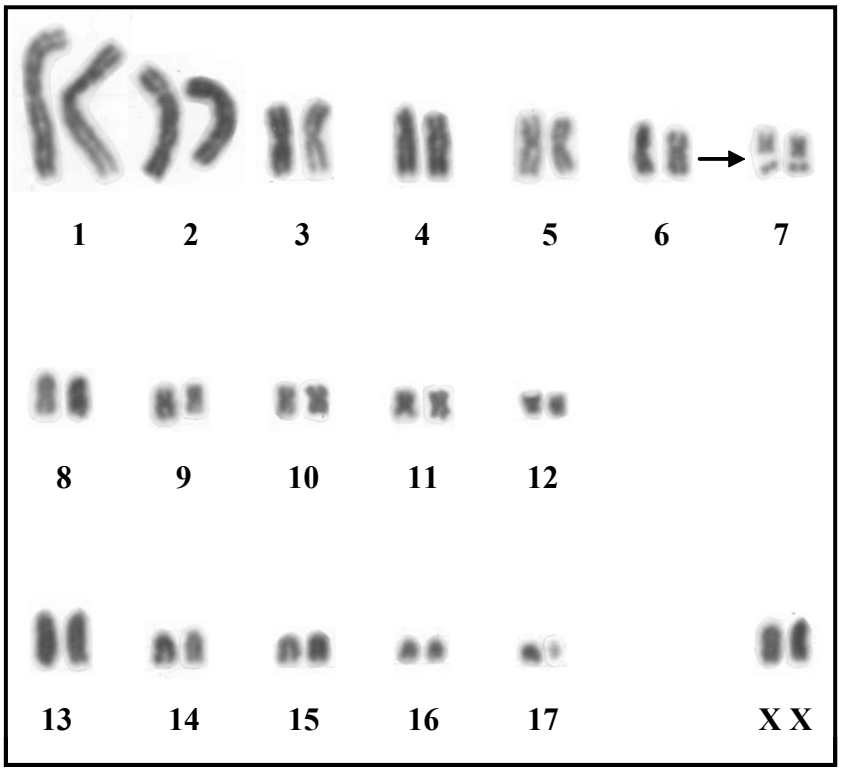


Figura 27 – Cariótipo em coloração convencional de *P. sp* 9 (2n=36, NF=58), fêmea. A seta indica a constrição secundária no braço longo do par 7.

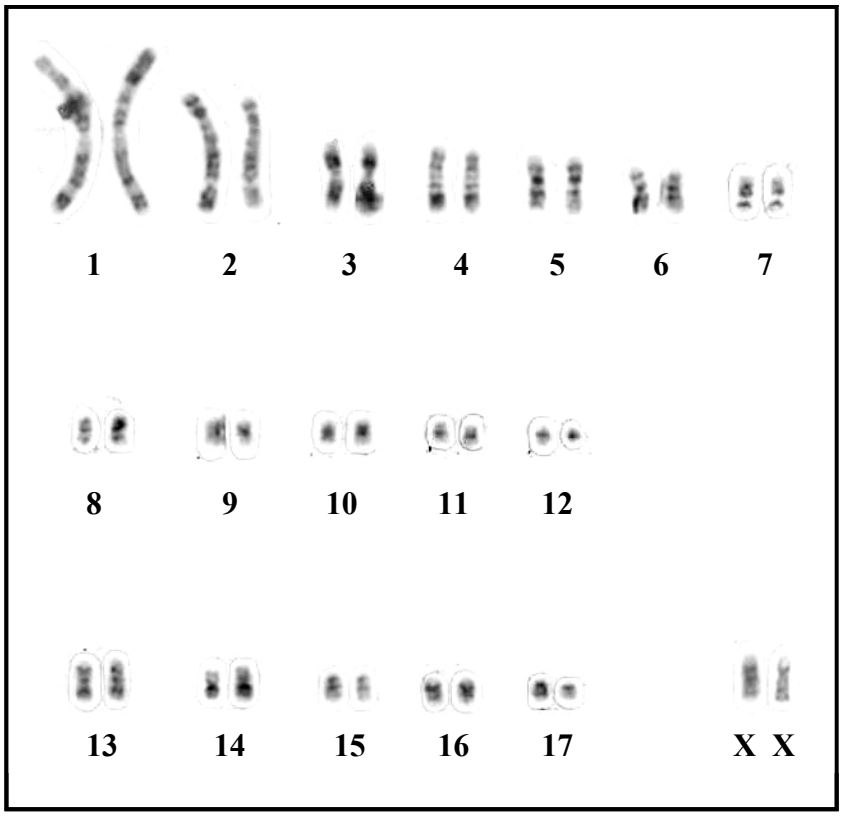


Figura 28 – Cariótipo G-bandeado de *P. sp* 9 (2n= 36, NF= 58), fêmea.

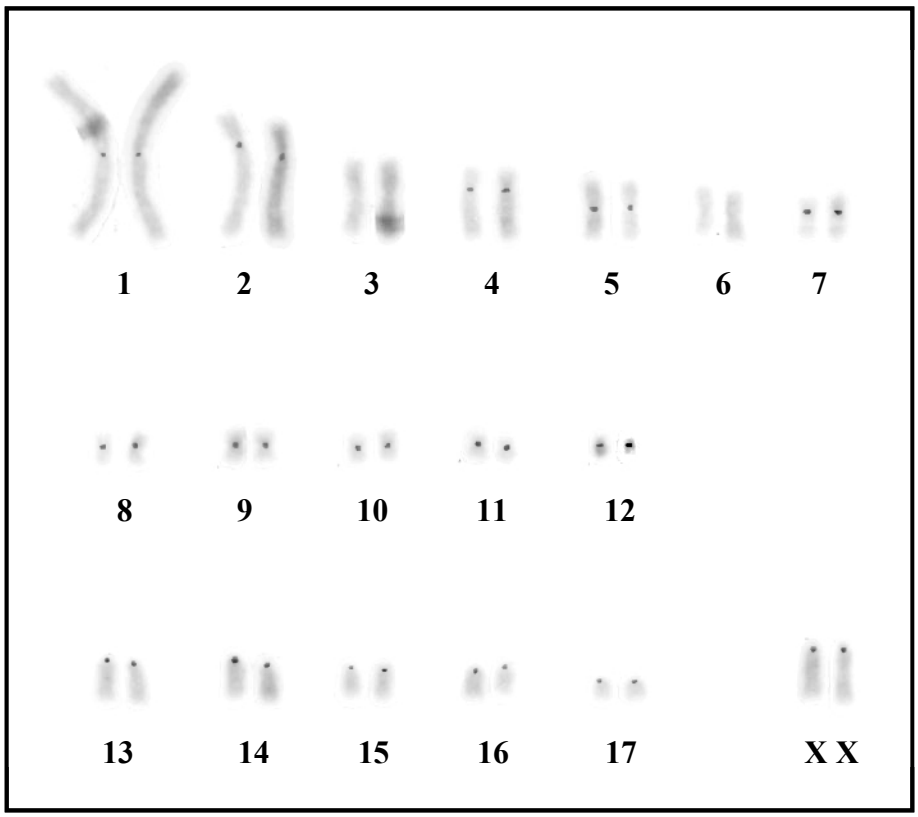


Figura 29 – Cariótipo C-bandeado de *P. sp* 9 (2n= 36, NF= 58), fêmea.

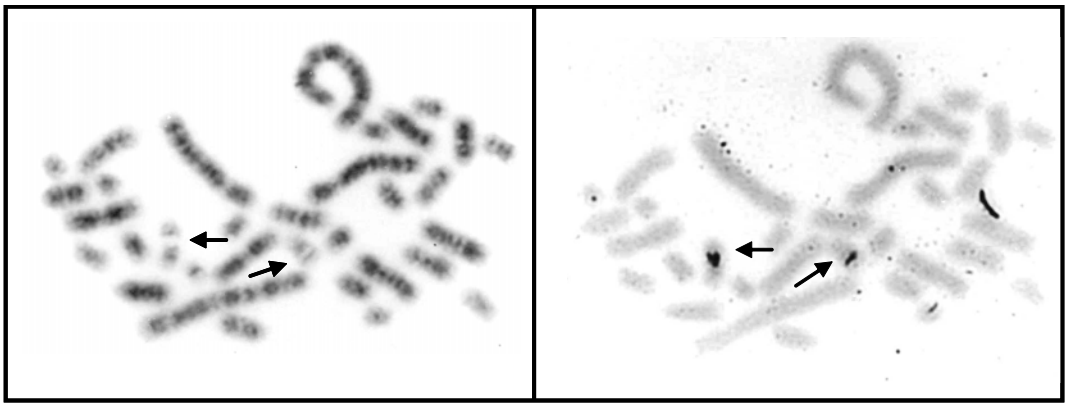
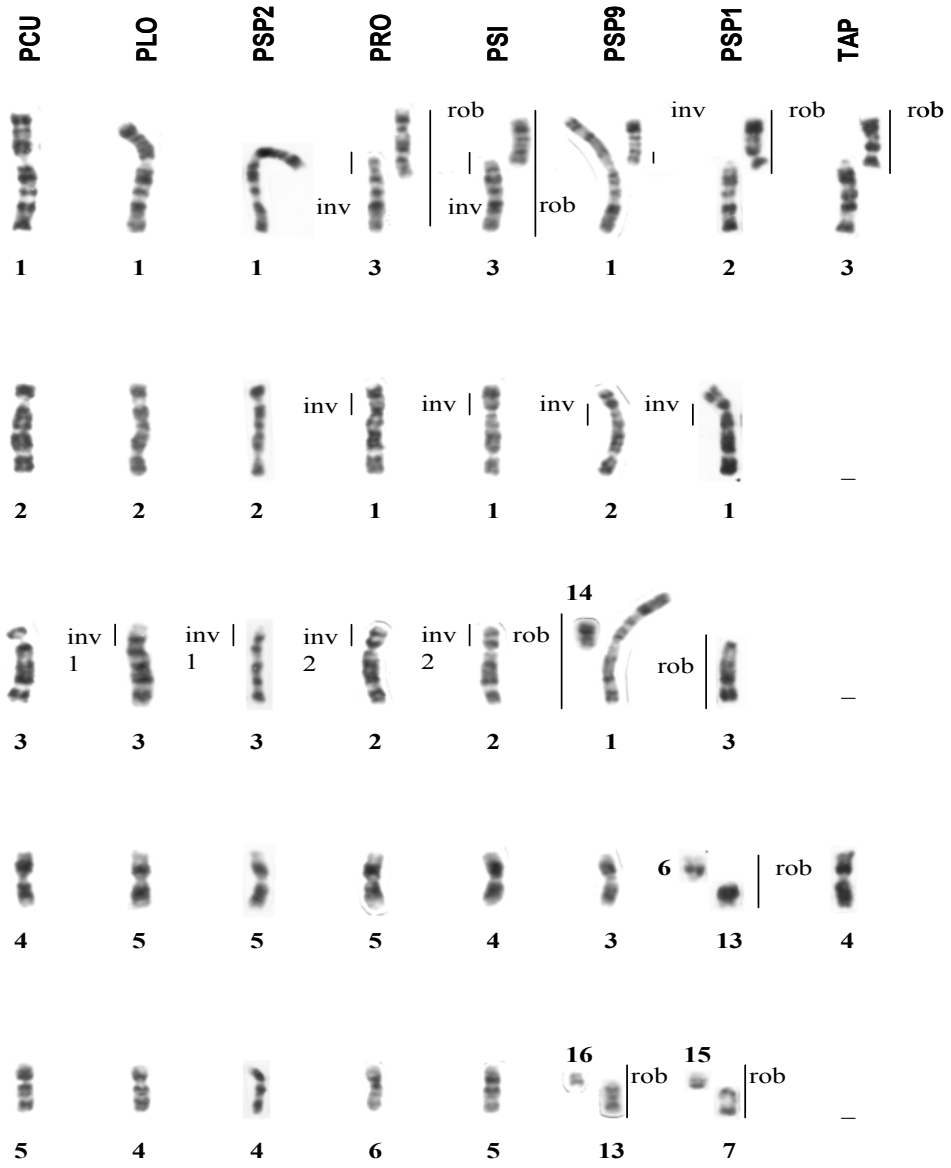


Figura 30 – Marcação de NOR no par 7 de *P.sp* 9 (2n=36, NF=58). Marcação seqüenciada de bandeamento G.

4.2. COMPARAÇÃO CARIOTÍPICA

A análise comparativa dos cromossomos G-bandeados entre as espécies de *Proechimys* obtidos no presente trabalho, *P. steerei* (2n= 24; NF= 42), *P. cuvieri* (2n=28, NF=48), *P. roberti* (2n=30, NF=54), *P. simonsi* (2n=32, NF=56), *P. sp*. 9 (2n=36, NF=58) e compilados da literatura, *P. longicaudatus* (2n=28, NF=48), *P. sp*. 2 (2n=30, NF=52), *P. sp*.1 (2n=44, NF=52) (LEAL-MESQUITA, 1991) e *P. sp*. 7 (2n=32, NF=54) (BUENO et al., 1989), evidencía a existência de um grande número de rearranjos cromossômicos relacionados com a diferenciação cariotípica dessas espécies, envolvendo principalmente os maiores cromossomos do complemento, enquanto que os de tamanho médio e pequenos apresentam-se relativamente conservados. Esse grande número de rearranjos cromossômicos mostrou-se ainda mais acentuado na comparação envolvendo as espécies de *Proechimys* e o grupo externo, *T. apereoides*, sendo encontradas correspondências envolvendo apenas cinco cromossomos (Figura 31):

Os cromossomos das espécies *P. steerei* e P. sp7 não foram incluídos na figura comparativa (Figura 31). No primeiro caso, devido a não identificação de homeologias com as demais espécies, usando as técnicas de citogenética clássica, e no segundo, por serem cromossomos pro-metafásicos.



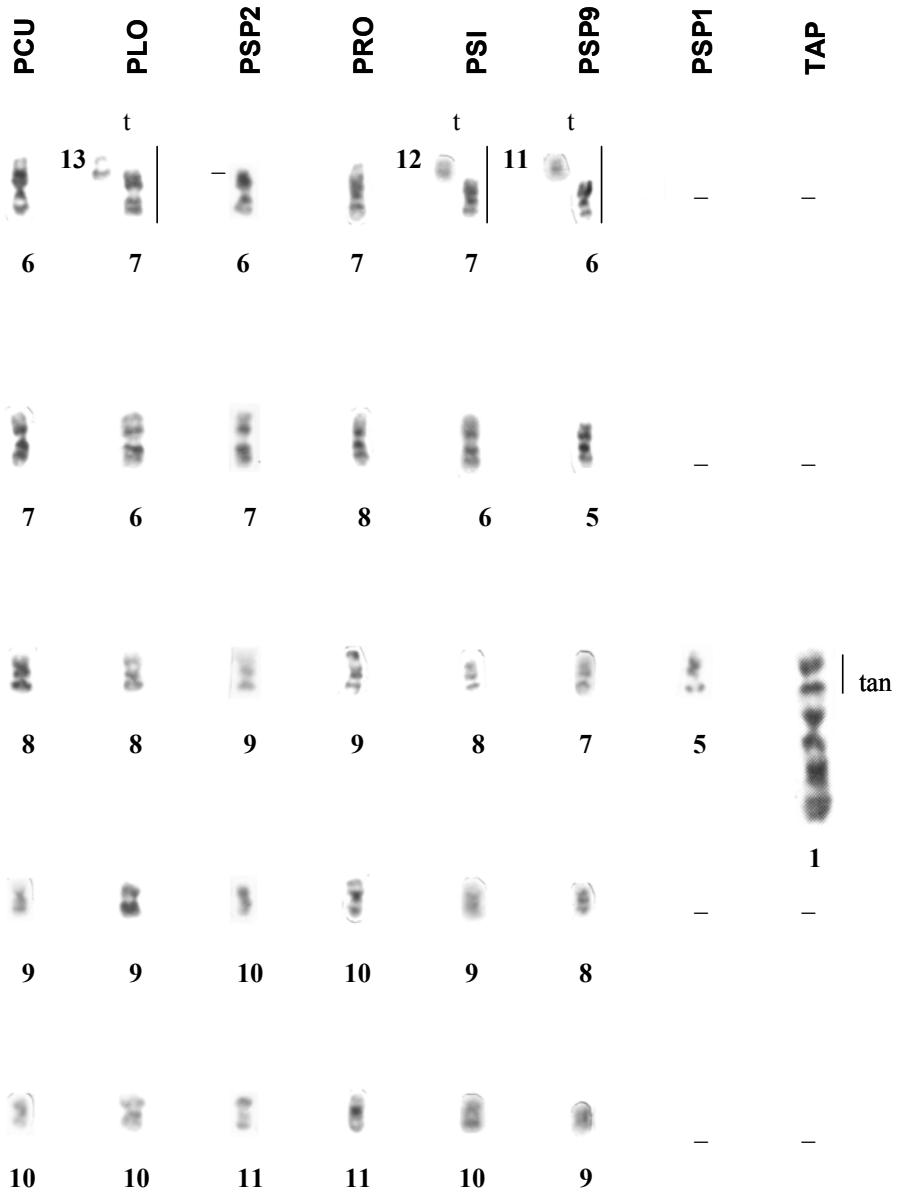
(continua)

Figura 31 – Padrões de bandas G comparativos entre as espécies

Dados deste estudo	Dados da literatura
P. cuvieri (PCU),	*P. longicaudatus* (PLO),
P. roberti (PRO),	*P. sp*.2 (PSP2),
P. simonsi (PSI)	*P.sp*.1 (PSP1)
P.sp.9 (PSP9)	*Trichomys apereoides* (TAP)

Sinais convencionais utilizados (Conferência Internacional de Paris, 1971)

inv = inversão pericêntrica,
rob = rearranjo Robertsoniano,
_ = homeologia não identificada.



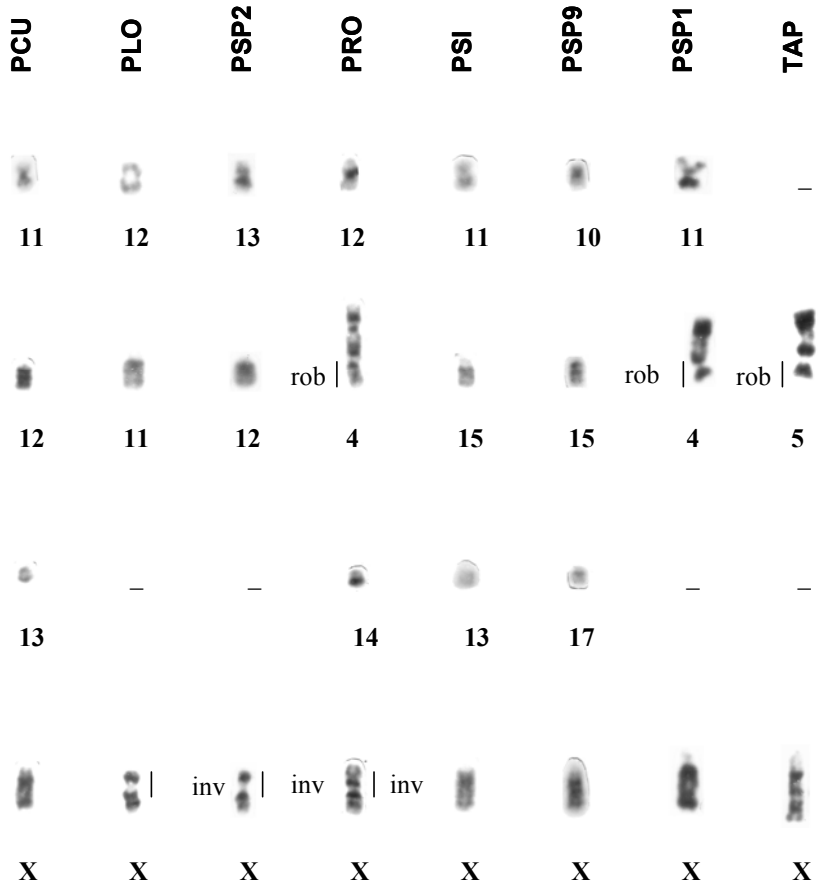
(continuação)

Figura 31 – Padrões de bandas G comparativos entre as espécies

P. cuvieri (PCU),
P. roberti (PRO),
P. simonsi (PSI)
*P.sp.*9 (PSP9) (da literatura)
P. longicaudatus (PLO),
*P. sp.*2 (PSP2),
*P.sp.*1 (PSP1)
Trichomys apereoides (TAP).

Sinais convencionais utilizados (Conferência Internacional de Paris, 1971)

t = translocação,
tan = translocação *in tandem*,
_ = homeologia não identificada.



(conclusão)

Figura 31 – Padrões de bandas G comparativos entre as espécies

P. cuvieri (PCU), *P. longicaudatus* (PLO),
P. roberti (PRO), *P. sp.*2 (PSP2),
P. simonsi (PSI) *P.sp.*1 (PSP1)
*P.sp.*9 (PSP9) (da literatura) *Trichomys apereoides* (TAP).

Sinais convencionais utilizados (Conferência Internacional de Paris, 1971)

– rob = rearranjo Robertsoniano,
inv = inversão pericêntrica,
_ = homeologia não identificada

4.3 PROPOSTA FILOGENÉTICA

A análise da matriz de dados feita pelo programa PAUP gerou uma única árvore mais parcimoniosa (Figura 32) com índice de consistência 0,875 e índice de homoplasia 0,735. Essa árvore polarizada com os cromossomos da espécie *T. apereoides* mostra como espécie mais basal *P. sp.*1 (2n= 44, NF= 52), vindo em seguida *P. sp.* 9 (2n= 36, NF= 58), e depois uma dicotomia onde em um ramo são agrupadas as

espécies *P. simonsi* (2n= 32, NF= 56) e *P. roberti* (2n= 30, NF= 54) e no outro tendo como espécie mais basal *P. sp*. 7 (2n= 32, NF= 54), vindo em seguida *P. cuvieri* (2n= 28, NF= 48) e ocupando a posição mais derivada as espécies *P. longicaudatus* (2n= 28, NF= 48) e *P. sp*. 2 (2n= 30, NF= 52).

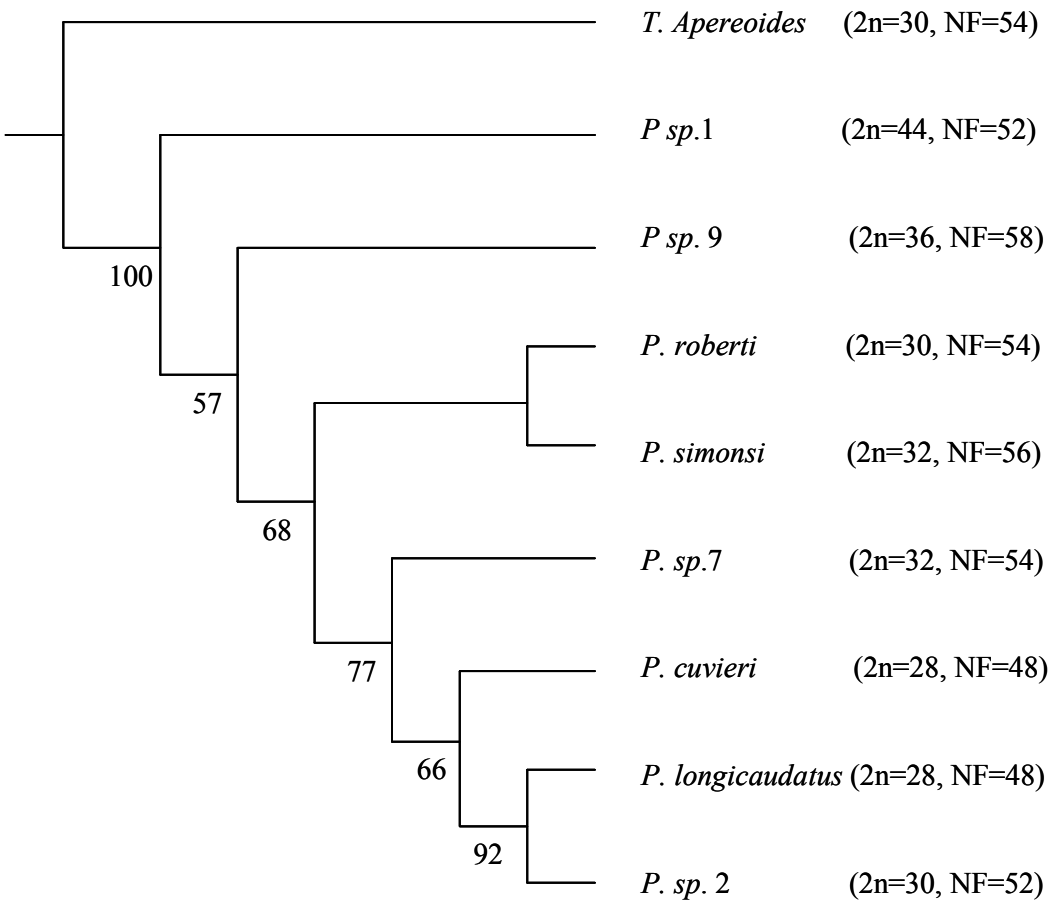


Figura 32 – Cladograma para espécies de *Proechimys*, baseado em padrões de bandeamento G, com os valores de "bootstrap".

A partir da árvore filogenética obtida, foi possível acompanhar os rearranjos cromossômicos ocorridos ao longo da evolução, para as cinco homeologias identificadas entre o grupo externo, *T. apereoides* e as espécies de *Proechimys*, rearranjos ocorridos para os cromossomos TAP 3, TAP 5, TAP 4, TAP X e TAP 1. Para facilitar a visualização, no cladograma, dos braços cromossômicos homeólogos, foram

acrescentadas barras de cores diferentes, cada cor correspondendo a um braço cromossômico.

Assim, o cromossomo TAP 3, um acrocêntrico de tamanho grande, corresponde ao cromossomo 2 de P. sp1 (PSP1 2); ao braço longo do cromossomo 1 de P. sp9 (PSP9 1q); aos cromossomos 3 de *P. roberti* (PRO 3) e 3 de *P. simonsi* (PSI 3), diferindo por uma inversão pericêntrica, a qual originou subtelocêntricos, (uma apomorfia para essas duas espécies); como também aos braços longos dos cromossomos 1 de *P. cuvieri* (PCU 1q), 1 de *P.longicaudatus* (PLO 1q) e 1 de P. sp2 (PSP2 1q) (Figura 33).

O cromossomo TAP 5, um submetacêntrico de tamanho médio, corresponde ao cromossomo 4 de P. sp1 (PSP1 4); e 4 de *P. roberti* (PRO 4). O braço longo do cromossomo TAP 5 de *T. apereoides* corresponde ao cromossomo 4 de P. sp9 (PSP9 4), diferindo por uma inversão pericêntrica, 14 de *P. simonsi* (PSI 14) e 13 de P. sp7 (PSP7 13), e ao braço curto dos cromossomos 1 de *P. cuvieri* (PCU 1p), 1 de *P. longicaudatus* (PLO 1p) e 1 de P. sp2 (PSP2 1p). O braço curto do cromossomo TAP5 de *T. apereoides* corresponde aos cromossomos 15 de P. sp9 (PSP9 15), 15 de *P. simonsi* (PSI 15), 14 de P. sp7 (PSP7 14), 12 de P. sp2 (PSP2 12), 11 de *P. longicaudatus* (PLO 11) e 12 de *P. cuvieri* (PCU 12) (Figura 34).

O cromossomo TAP 4, um metacêntrico de tamanho médio, corresponde aos cromossomos, 3 de P. sp9 (PSP9 3), 4 de *P. simonsi* (PSI 4), 5 de *P. roberti* (PRO 5), 5 de P. sp2 (PSP2 5), 5 de *P. longicaudatus* (PLO 5), 4 de *P. cuvieri* (PCU 4) e 3 P. sp7 (PSP7 3); O braço curto e longo do cromossomo TAP 4 de *T. apereoides* corresponde aos cromossomos 6 e 13 de P. sp1 (PSP1 6 e PSP1 13), respectivamente (Figura 35).

O cromossomo TAP X, um acrocêntrico de tamanho médio, corresponde aos cromossomos X de todas as espécies de *Proechimys* analisadas, diferindo no tamanho devido a um bloco heterocromático proximal no braço longo. Este cromossomo difere também daquele encontrado na espécie *P. roberti* (metacêntrico) e nas espécies *P. longicaudatus* e P. sp2 (sumetacêntricos), por uma inversão pericêntrica. A diferença observada entre a espécie *P. roberti* (metacêntrico) e as espécies *P. longicaudatus* e PSP2 (sumetacêntricos) é devido à presença de um bloco heterocromático terminal no braço curto do cromossomo X de *P. roberti* (Figura 36).

A parte terminal do braço curto de TAP 1, no qual está contida a RON nessa espécie, corresponde aos cromossomos 5 de P. sp1 (PSP1 5), 7 de P. sp9 (PSP9 7), 8 de *P. simonsi* (PSI 8), 9 de *P. roberti* (PRO 9), 9 de P. sp2 (PSP2 9), 8 de *P. longicaudatus* (PLO 8), e 8 de *P. cuvieri* (PCU 8), todos portadores das RONs em todas as espécies de *Proechimys* analisadas (Figura 37).

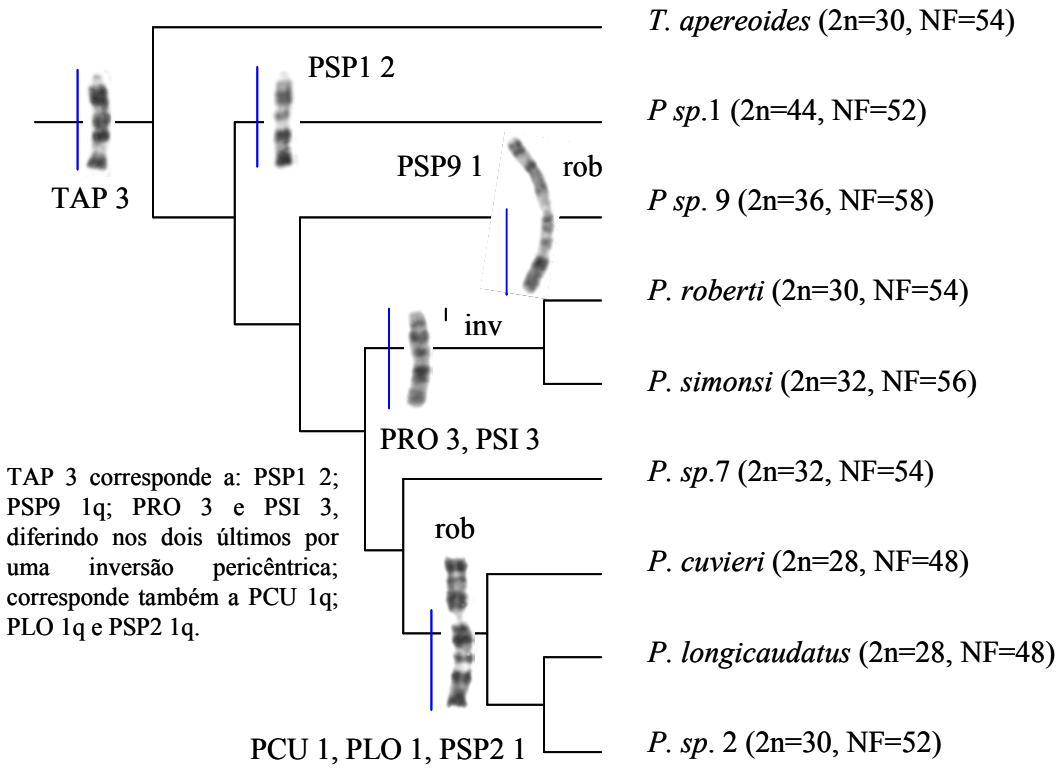


Figura 33 – Evolução cromossômica de TAP3.

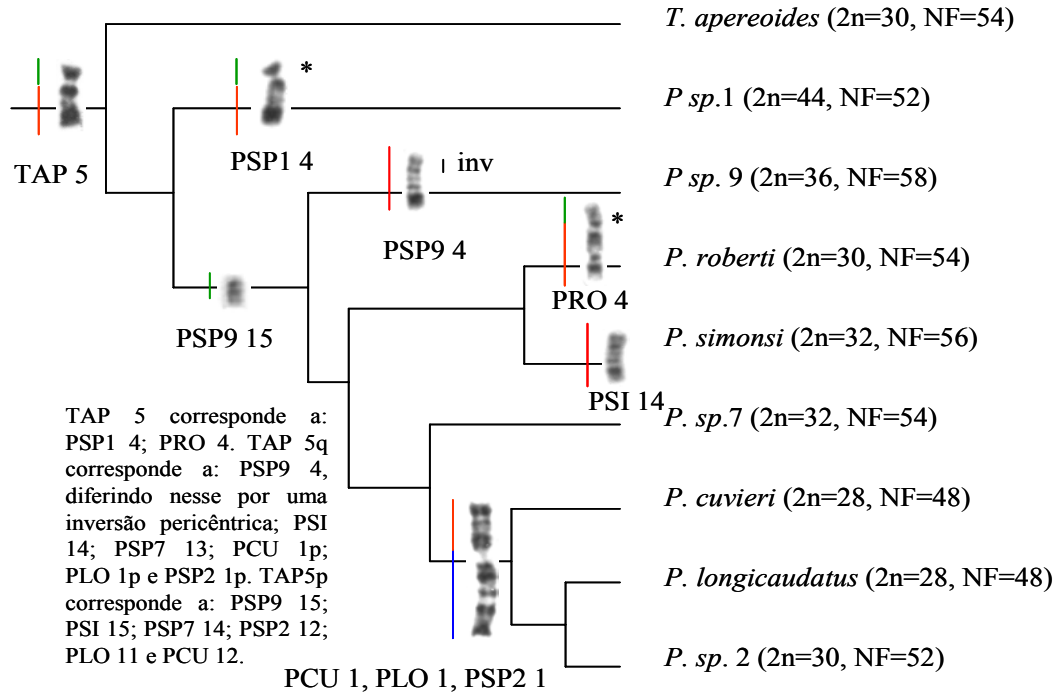


Figura 34 – Evolução cromossômica de TAP5.
*Homoplasia

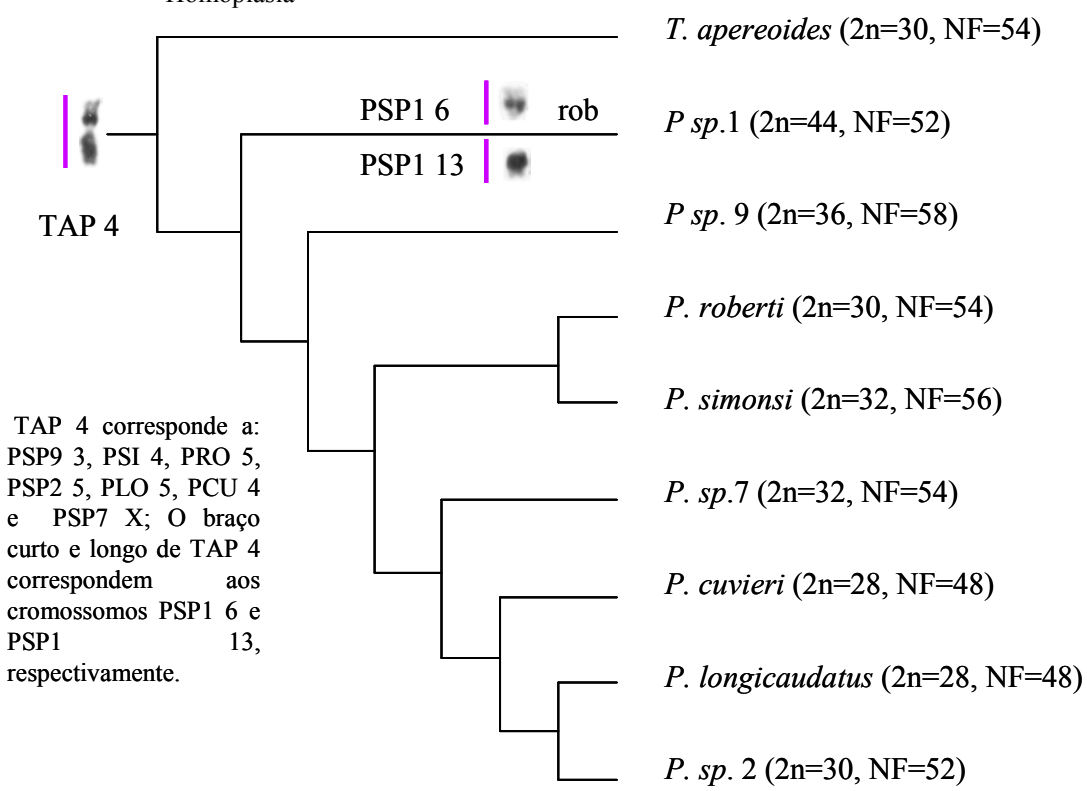


Figura 35 – Evolução cromossômica de TAP4.

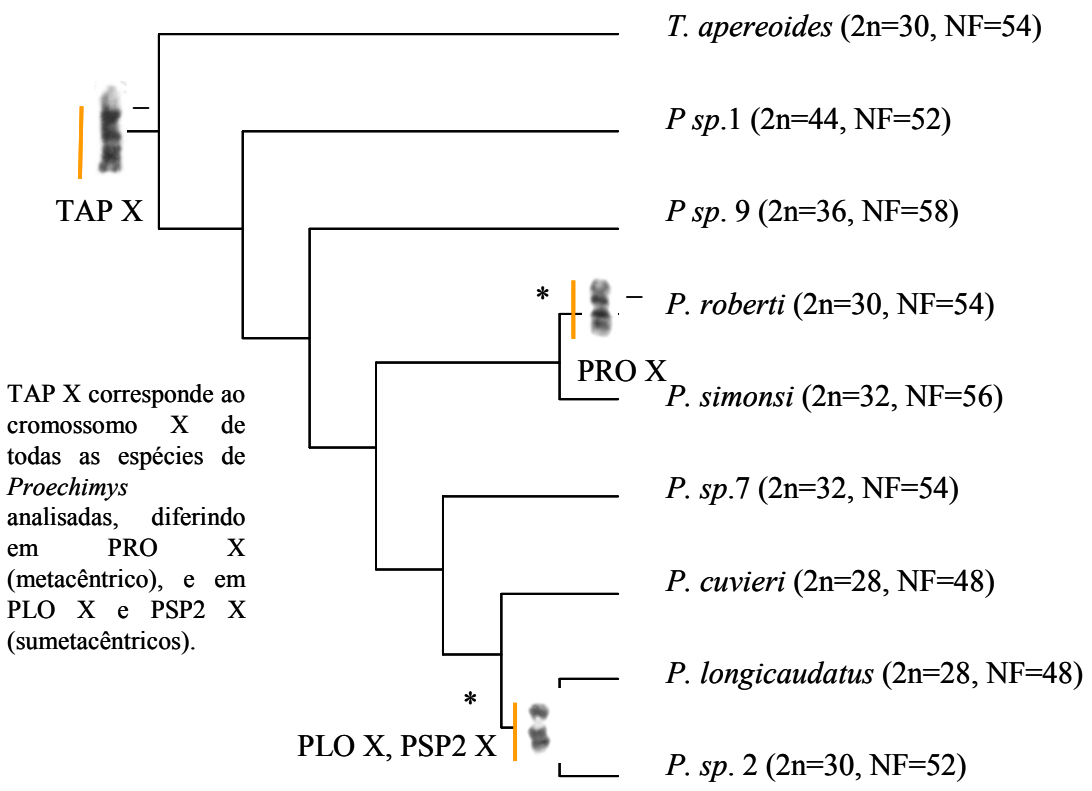


Figura 36 – Evolução cromossômica de TAP X.

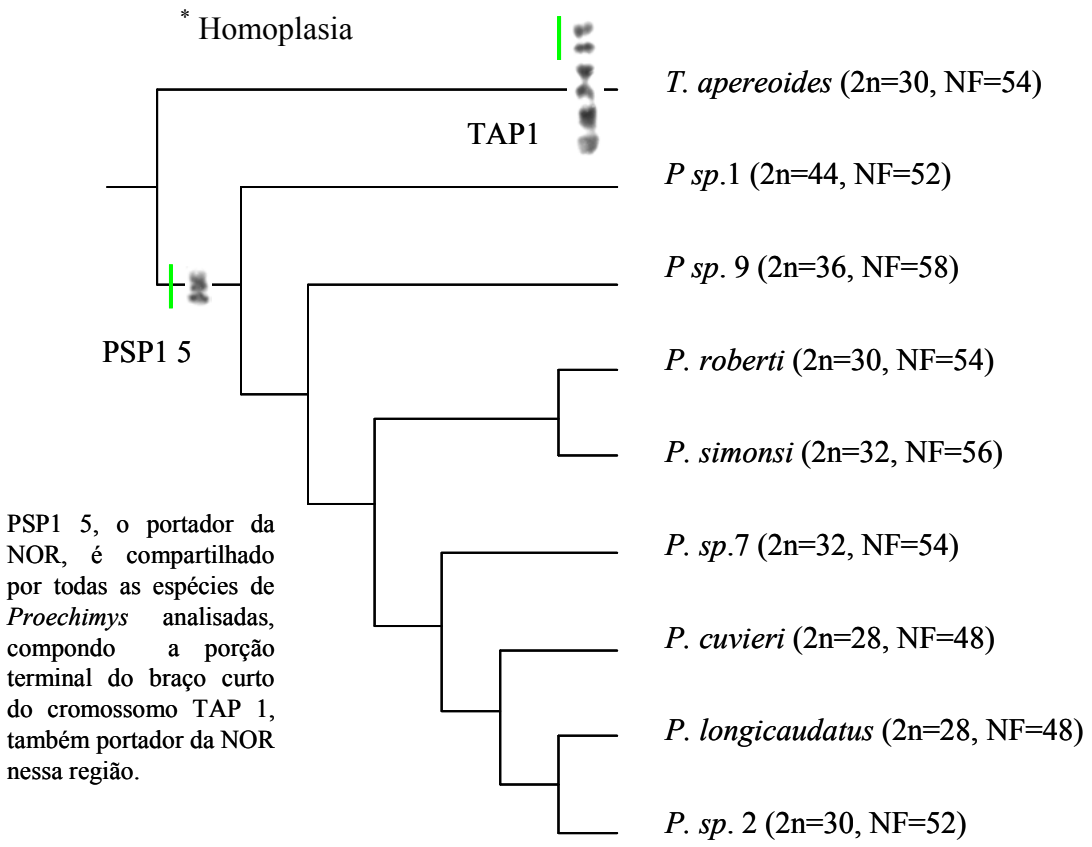


Figura 37 – Evolução cromossômica de TAP 1.

A partir do cladograma obtido por polarização de dados com a espécie *T. apereoides*, outras análises de rearranjos cromossômicos tornaram-se possíveis nas espécies do grupo interno (*Proechimys*), analisadas neste trabalho, tendo como referência a espécie mais basal, P. sp1. Desse modo, identificaram-se rearranjos envolvendo os cromossomos, PSP1 15 e PSP1 7, PSP1 1, PSP1 2 e PSP1 3.

Os cromossomos acrocêntricos PSP1 15 e PSP1 7, são compartilhados por P. sp9, correspondendo aos cromossomos PSP9 16 e PSP9 13, respectivamente. Esses cromossomos teriam sofrido fusão cêntrica no ramo ancestral que deu origem as demais espécies de *Proechimys*, dando origem a um cromossomo semelhante a PSI 5 (Figura 38).

O cromossomo PSP1 1 é compartilhado pelas espécies P. sp9 (PSP9 2), *P. roberti* (PRO 1) e *P. simonsi* (PSI 1) e teria sofrido uma inversão pericêntrica em seu braço curto, originando um subtelocêntrico compartilhado pelas demais espécies de *Proechimys*, identificados como: PSP7 2, PCU 2, PLO 2, PSP2 2 (Figura 39).

Os cromossomos acrocêntricos PSP1 2 e PSP1 3 sofreram uma fusão cêntrica originando o submetacêntrico PSP9 1. De um novo rearranjo, uma translocação, envolvendo PSP9 14 e PSP9 1p surgiram os submetacêntricos PRO 2 e PSI 2. Após isso, uma inversão pericêntrica originou os subtelocêntricos PSP7 2, PCU 3 e uma segunda inversão pericêntrica os acrocêntricos PLO 3, PSP2 3 (Figura 40).

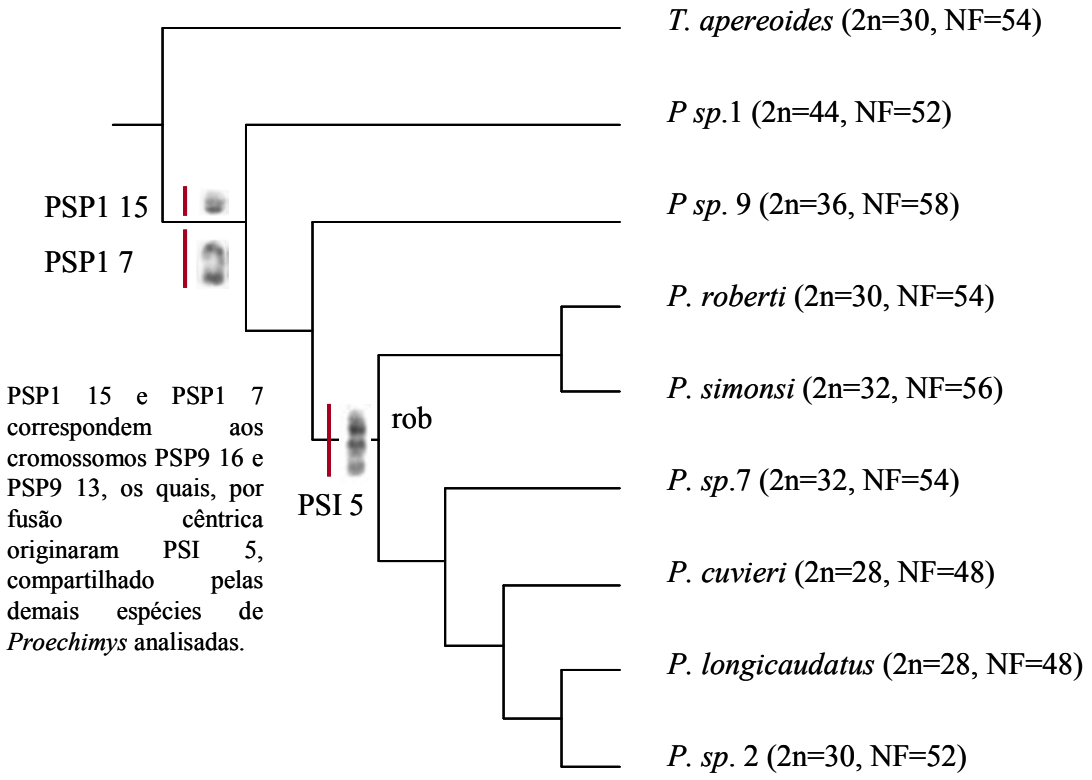


Figura 38 – Evolução cromossômica de PSP1 15 e PSP1 7.

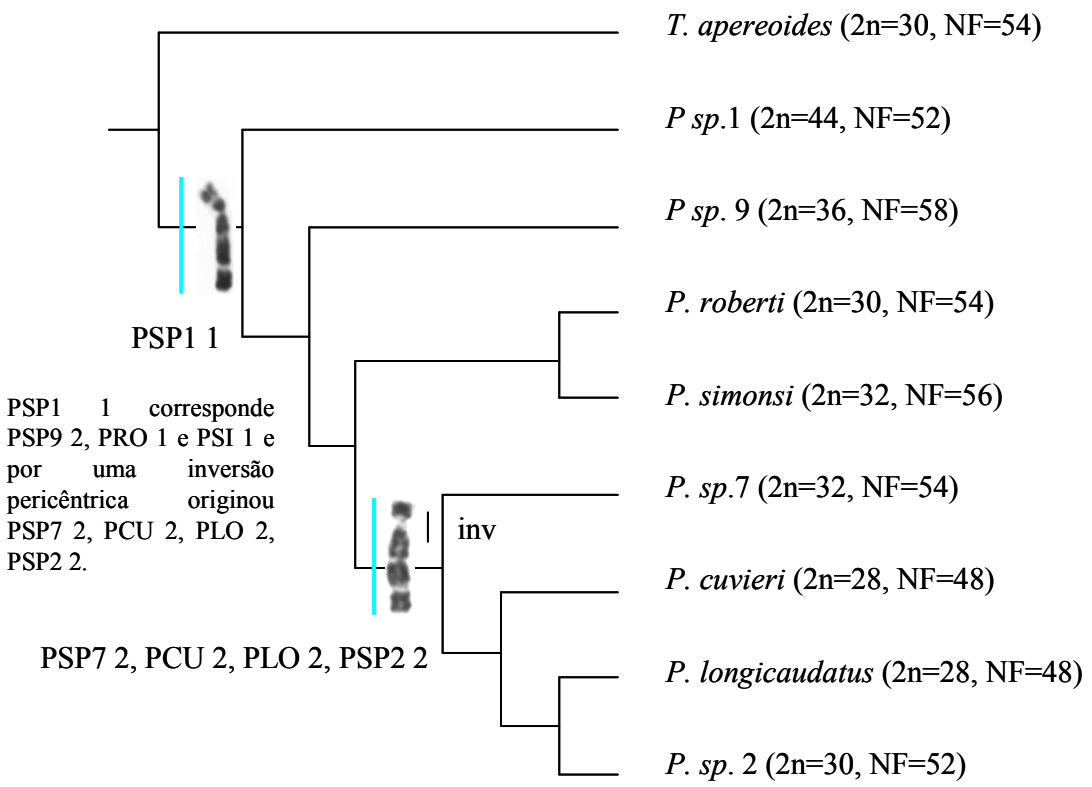


Figura 39 – Evolução cromossômica de PSP1 1.

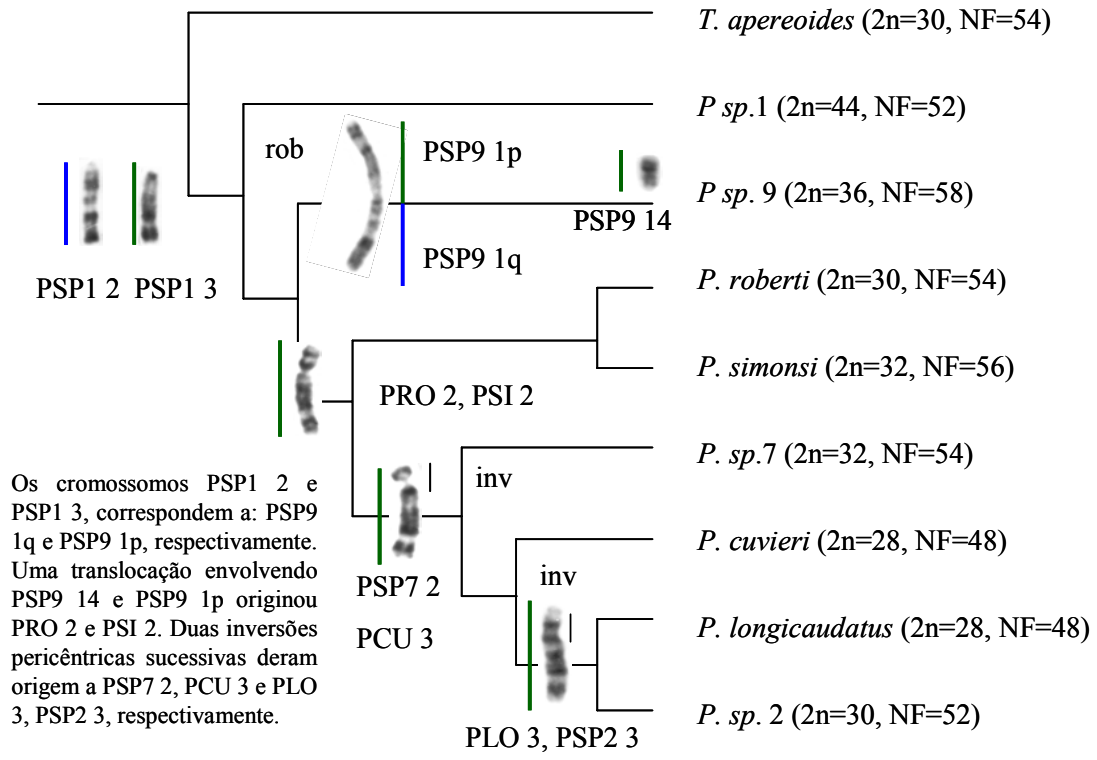


Figura 40 – Evolução cromossômica de PSP1 2 e PSP1 3.

5 DISCUSSÃO

As espécies do gênero *Proechimys* apresentam pouca diferenciação morfológica e gênica (BENADO et al. 1979), mas possuem grande variabilidade cariotípica, inter e intra-específica (MOOJEN, 1948; REIG et al.,1970; 1980; PATTON & GARDNER, 1972; REIG & USECHE 1976; GARDNER & EMMONS 1984; PATTON, 1987, AGUILERA & CORTI, 1994). Entretanto, poucos estudos citogenéticos foram realizados, sendo a maior parte dos dados cromossômicos no gênero, restritos à descrição de fórmulas cariotípicas obtidas por coloração convencional (PATTON & GARDNER, 1972; REIG et al., 1979; GARDNER e EMMONS, 1984; SVARTMAN, 1989; SILVA, 1995; PATTON et al., 2000). Dessa forma, fica claro a necessidade da utilização de dados citogenéticos na caracterização das espécies, assim como na apresentação de propostas filogenéticas baseadas nos mesmos.

5.1 ANÁLISES CROMOSSÔMICAS

Das cinco espécies de *Proechimys* estudadas neste trabalho, *P. sp.* 9 está sendo descrita pela primeira vez por todas as técnicas de citogenética clássica e as demais espécies para algumas das referidas técnicas.

As diferenciações cariotípicas observadas entre as espécies estudadas neste trabalho e nos já publicados, estão de acordo com as elevadas taxas de mudanças cariotípicas estimadas para os roedores, as quais estão entre as mais elevadas dentre os mamíferos (BENGTSSON, 1980; BUSH et al., 1977; MARUYAMA e IMAI, 1981), em especial os pertencentes ao gênero *Proechimys* (MOOJEN, 1948; REIG et al., 1970, 1980; PATTON e GARDNER, 1972; REIG e USECHE, 1976; GARDNER e EMMONS, 1984 e PATTON, 1987).

Os espécimes de *P. steerei* analisados neste trabalho, capturados próximos às margens do rio Pauiní, no Estado do Amazonas, possuem fórmula cariotípica (2n= 24 e NF= 42) semelhante à de exemplares capturados próximo às margens do rio Jaú, Estado do Amazonas (SILVA, 1995 e PATTON et al., 2002) e no Peru (PATTON & GERDNER, 1972 e GARDNER & EMMONS, 1984). Porém, difere de outros espécimes coletados também no Estado Amazonas (da SILVA, 1995 e PATTON et al. 2002) por inversões pericêntricas no par 3, o qual foi encontrado na forma de acrocêntrico e subtelocêntrico em homomorfismo e heteromorfismo, evidenciando assim a presença de híbridos para as duas formas.

Os espécimes de *P. cuvieri* estudados neste trabalho, capturados no município de Plácido de Castro, no estado do Acre, possuem fórmula cariotípica (2n= 28 e NF= 48) semelhante à de exemplares capturados ao longo do Rio Xingu, Estado do Pará (PATTON et al., 2000). No entanto, difere dos espécimes capturados no rio Jaú, Estado do Amazonas, por inversões pericêntricas no par 3, sendo encontrados na forma

de cromossomos acrocêntricos e subtelocêntricos (PATTON et al., 2000); difere também dos espécimes capturados no rio Juruá, Estado do Acre, por inversões pericêntricas no par 13, sendo encontrado na forma de cromossomos acrocêntricos e metacêntricos (PATTON et al., 2000).

Os espécimes de *P. roberti* analisados no presente trabalho, capturados no município de Abaetetuba (PA) e os cedidos pelo biotério do IEC, possuem fórmula cariotípica (2n= 30 e NF= 54) semelhante às de exemplares capturados na região da rodovia transamazônica (BARROS, 1978) e Distrito Federal (SVARTMAN, 1989). No entanto, diferem de exemplares capturados no Estado do Piauí, por inversões pericêntricas nos pares 13 apresentando cromossomos subtelocêntricos, 14 apresentando cromossomos metacêntricos e cromossomo X por inversão pericêntrica apresentando-o na forma acrocêntrica (MACHADO et al., 2005); diferem de exemplares capturados em uma localidade no estado de Mato Grosso, por inversões pericêntricas nos pares 13 e 14 apresentando ambos os cromossomos subtelocêntricos; diferem de exemplares capturados em outra localidade no estado de Mato Grosso, por inversões pericêntricas nos pares 13, apresentando cromossomos metacêntricos e 14, apresentando cromossomos subtelocêntricos.

O cariótipo C-bandeado de *P. roberti*, analisado neste trabalho, difere dos exemplares capturados no Estado do Piauí (MACHADO et al., 2005), pela presença de banda C extra distal no braço curto dos pares 6 e 10, e ausência no braço curto do cromossomo X, caracterizando assim, diferentes populações por bandeamento C, como sugerido por John & Miklos (1979).

Os exemplares de *P. simonsi* analisados neste trabalho, capturados nos municípios de Plácido de Castro, Estado do Acre e Pauiní, Estado do Amazonas, possuem fórmula cariotípica (2n= 32 e NF= 58) semelhante à de exemplares capturados

em localidades do Equador, Peru (GARDNER & EMMONS, 1984; PATTON & GARDNER, 1972), e próximo aos rios Urucu e Juruá, Estado do Amazonas (PATTON et al., 2000). No entanto, difere pelo número de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos de tamanho médio (10 pares em exemplares deste trabalho e 8 pares nos demais) e subtelocêntricos (1 par neste trabalho e 3 nos demais), sugerindo que inversões pericêntricas estão envolvidas neste processo de diferenciação.

Foi observado, neste trabalho, um caso de variação cromossômica interespecífica, por adição de heterocromatina constitutiva no braço curto do cromossomo 15 de *P. simonsi*, um subtelocêntrico pequeno. Segundo Patton & Sherwood (1983), variação de heterocromatina constitutiva é um fato freqüente em alguns gêneros de roedores. Esta variação foi identificada a partir da homeologia do braço longo com cromossomos das espécies *P. cuvieri* (par 12), *P. longicaudatus* (par 11), *P. sp*.2 (par 12), e *P. sp*. 9 (par 15). Como esta característica ocorre somente em *P. simonsi*, pode ser considerada uma autapomorfia desta espécie.

O único exemplar de *Proechimys sp*. 9, capturado no município de Plácido de Castro, Estado do Acre, possui fórmula cariotípica (2n= 36 e NF= 58) sem correspondência com outras espécies de *Proechimys* com cariótipos previamente publicados. Dessa forma, trata-se de um novo cariótipo. De acordo com os números diplóide, fundamental e local de coleta, o cariótipo desta espécie poderia pertencer ao mesmo grupo das quatro novas espécies descritas por da Silva (1998): *P. echinothrix* (2n= 32, NF= 60); *P. kulinae* (2n= 34, NF= 52); *P. pattoni* (2n= 40, NF= 56) e *P. gardneri* (2n= 40, NF= 56). Todas as 5 espécies foram capturadas na região sudoeste da Amazônia brasileira, em áreas de dois afluentes (margem direita) do rio Amazonas, rios Purus e Juruá. Neste caso, o cariótipo de *P. sp*. 9, seria mais semelhante ao de *P. kulinae* (formado por 1 par de cromossomo submetacêntrico grande, 1 par subtelocêntrico

grande e 1 médio, 8 pares de metacêntricos-submetacêntricos com tamanho variando de médio a pequeno, 5 pares de acrocêntricos, e o cromossomo X um acrocêntrico médio).

Apesar da grande variabilidade cariotípica observada em *Proechimys*, nota-se que ao menos uma característica vem mantendo-se estável: a presença de apenas um cromossomo portador da NOR, característica da família Echimyidae, já observada por Yonenaga-Yassuda (1985). Este cromossomo apresenta tamanho e morfologia semelhantes nas espécies *P. sp*. 1 (par 5), *P. sp*. 9 (par 7), *P. simonsi* (par 8), *P. roberti* (par 9), *P. sp.* 2 (par 9), *P. longicaudatus* (par 8) e *P. cuvieri* (par 8).

A associação de dados citogenéticos e morfológicos é importante para a identificação de espécies animais, especialmente em roedores, podendo tais dados serem utilizados para a identificação de espécies estudadas no passado, quando as dificuldades classificatórias eram maiores. Assim, quando da realização do trabalho de Barros (1978), as espécies de *Proechimys* estudadas, não foram identificadas taxonomicamente. No entanto, constata-se no presente, baseado em dados apresentados por Weksler et al. (2001) e Machado et al. (2005), que os cariótipos de *sp*1 (2n= 30, NF= 54), *sp*2 (cariótipo 1 com 2n= 26; NF=44, cariótipo 2 com 2n=27; NF=45 e o cariótipo 3, um mosaico com 2n=26/27; NF=44/45) e *sp*3 (cariótipo 1, com 2n=16; NF=16; o cariótipo 2, com 2n=15; NF=16 e o cariótipo 3, com 2n= 14; NF=16), pertencem às espécies *P. roberti*, *P. amphichoricus* e *P*. gr. *goeldi*, respectivamente.

Os rearranjos cromossômicos entre as espécies analisadas neste trabalho, identificados por comparação dos padrões de bandeamento G, indicam a ocorrência de 6 inversões pericêntricas, 1 fissão cêntrica, 1 translocação recíproca, 2 fusões *in tandem*, e 4 rearranjos Robertsonianos. Estes resultados estão de acordo com a proposta de Patton & Sherwood (1983) de que os rearranjos mais freqüentes em roedores são os

Robertsonianos e inversões pericêntricas, sendo menos comuns, as fusões *in tandem*, translocações recíprocas e inversões paracêntricas.

5.2 FILOGENIA DAS ESPÉCIES DE *Proechimys*

As poucas propostas classificatórias e evolutivas para *Proechimys* são baseadas em dados morfológicos e gênicos. A análise filogenética apresentada neste trabalho é a primeira para espécies de *Proechimys*, baseada em dados citogenéticos. Para esta abordagem foram analisadas espécies representativas de 5 dos nove grupos taxonômicos, propostos por Patton (1987): *P. roberti* (grupo *guyannensis*), *P. steerei* (grupo *goeldii*), *P. longicaudatus* (grupo *longicaudatus*), *P. simonsi* (grupo *simonsi*), *P. cuvieri* (grupo monotípico *cuvieri*), mais quatro espécies, ainda sem classificação, *Proechimys* sp. 1, *Proechimys* sp. 2, *Proechimys* sp. 7, e *Proechimys* sp. 9 (todas encontradas na Amazônia Ocidental, exceto *P. roberti* – Amazônia Oriental e Brasil central). Com base nesses dados propõem-se fazer uma inferência de evolução cariotípica para o gênero.

A análise filogenética das espécies de *Proechimys* deste trabalho, indicou a presença de três grupos, o primeiro mais basal formado pelas espécies *P. sp*. 1 e *P. sp*. 9 com poucos compartilhamentos cromosômicos entre si, o segundo formado pelas espécies *P. simonsi* e *P. roberti*, com homeologias identificadas para todos os cromossomos e o terceiro, com cromossomos rearranjados compartilhados.

A filogenia obtida para as espécies analisadas neste trabalho, resolve questões evolutivas para duas de quatro espécies, envolvidas numa politomia observada no cladograma proposto por Patton et al. (2000), baseado em dados moleculares. Assim, a espécie *P. simonsi* ocupa uma posição mais basal que *P. cuvieri*.

Os resultados desta análise sugerem uma tendência à redução do número diplóide das espécies de *Proechimys* analisadas, diferindo da hipótese apresentada por Aguilera & Corti (1994), que sugere um aumento do número diplóide ao longo da evolução de *Proechimys*. A divergência entre as duas hipóteses pode ter duas explicações: (1) As espécies de *Proechimys* analisadas por Aguilera & Corti (1994) podem apresentar processos de evolução cariotípica diferentes das espécies deste trabalho, ou (2) a plotagem de dados citogenéticos em um cladograma baseado em dados morfológicos, como feito por esses autores, não reflete a realidade das mudanças cariotípicas, visto que os dados morfológicos não têm apresentado correlação aparente com citogenéticos em *Proechimys*. (THOMAS, 1928; MOOJEN, 1948; HERSHKOVITZ, 1948; PATTON & GARDNER, 1972).

Caso a redução de número diplóide seja aceita para *Proechimys* e esta redução possa ser projetada para as espécies dos grupos taxonômicos propostos por Patton (1987), as do grupo *trinitatis* seriam as mais primitivas, e as do grupo *goeldi* as mais derivadas, por apresentarem os maiores e menores números diplóides, respectivamente. Além disso, a área de distribuição geográfica das espécies do grupo *trinitatis,* noroeste da América do Sul, coincide com a da espécie *Hoplomys gymnurus* (EMMONS e FEER, 1997), grupo irmão de *Proechimys*, segundo Lara et al. (1996) e Leite & Patton (2002). Adicionalmente Gardner & Emmons (1984) consideram as espécies do grupo *semispinosus* o mais primitivo dentre os quatro analisados, coincidindo este também com a distribuição de *Hoplomys gymnurus*.

É importante observar que as espécies do grupo *trinitatis*, em especial *P. trinitatis*, apresentam maior número diplóide e *P. guairae*, a maior variabilidade cariotípica do gênero, sendo classificada em uma superespécie com três subespécies e quatro raças cariotípicas, apresentando números diplóides variando de 42 a 62 de acordo

com Reig et al. (1980). Estes autores também concluíram por (1) uma especiação dos grupos marginais, isolados, apresentando rápida origem de homozigotos para inversões pericêntricas e rearranjos Robertsonianos e (2) pela dispersão de populações marginais modificadas, sob condições climáticas favoráveis invadindo novos territórios.

Os estudos citogenéticos no gênero *Proechimys*, realizados neste e em outros trabalhos (MOOJEN, 1948; REIG et al.,1970; 1980; PATTON & GARDNER, 1972; REIG & USECHE 1976; GARDNER & EMMONS 1984; PATTON, 1987, AGUILERA & CORTI, 1994; REIG & USECH 1976), confirmam a elevada variabilidade cariotípica inter e intra-específica do gênero, estando de acordo com a proposta de Lara et al. (1996) e corroborada por Leite & Patton (2002) de que as espécies de Echimyidae, entre elas as do gênero *Proechimys*, passam por um intenso e recente processo de especiação. Este fato pode ser confirmado pelas poucas homeologias observadas entre o grupo externo, *T. apereoides*, e as espécies de *Proechimys*, resultando na polarização com apenas cinco cromossomos, quatro compartilhados de forma rearranjada (pares 1, 3, 5 e X) e um (par 4), compartilhado pela maioria (excetuando-se *P. sp*. 1) de forma não rearranjada.

O elevado índice de homoplasia observado no estudo (0,735) é resultado das duas homoplasias identificadas envolvendo PSP1 4 e PRO 4 e envolvendo PRO X e PLO X, PSP2 X. Portanto, envolvendo duas homeologias das cinco identificados entre *T. apereoides* e as espécies de *Proechimys* analisadas.

O compartilhamento do cromossomo 5 de P. sp1 (PSP1 5) por todas as espécies de *Proechimys* analisadas, correspondendo também a parte terminal do braço curto do cromossomo TAP 1, foi identificado principalmente pela marcação de Região Organizadora de Nucléolo (NOR), a qual, em toda a família Echimyidae está presente em apenas um par de cromossomos segundo Yonenaga-Yassuda (1985). A diferença

morfológica observada para os cromossomos portadores de NORs entre *T. apereoides* (um submetacêntrico grande) e as espécies de *Proechimys* analisadas (um submetacêntrico pequeno), sugere uma fusão *in tandem* ocorrida em *T. apereoides* envolvendo o cromossomo portador de RON, semelhante ao encontrado em *Proechimys*, com outro cromossomo, não identificado em *Proechimys*, provavelmente, devido a vários rearranjos, e que tal fusão teria ocorrido depois da separação dos dois gêneros, visto que, em outros gêneros de Echimyidae, as RONS estão presentes em cromossomos semelhantes aos de *Proechimys* (YONENAGA-YASSUDA, 1985), sendo portanto, uma autapomorfia de *T. apereoides*.

A realização de estudos citogenéticos futuros com a inclusão de novos dados de outras espécies de *Proechymis* e de *Hoplomys gymnurus*, deste último, usados para a polarização de dados, visto que *Hoplomys gymnurus* é grupo irmão de *Proechimys*; podem tornar muito mais claros os mecanismos de rearranjos cromossômicos relacionados com a evolução de *Proechimys*.

6 CONCLUSÃO

1) Os resultados sugerem que a evolução cromossômica das espécies *P. sp*. 1, P. sp. 9, *P. simonsi*, *P. roberti*, P. sp2, *P. longicaudatus*, P. sp. 7 e *P. cuvieri*, ocorreu no sentido de redução do número diplóide de 2n= 44 em *P. sp*. 1 a 2n= 28 em *P. cuvieri* e *P. longicaudatus*.

2) As espécies *P. sp*. 7, *P. cuvieri*, *P. longicaudatus* e *P. sp*. 2, são fortemente apoiadas como grupo monofilético.

3) As espécies *P. sp*. 1 e *P. sp*. 9, diferem significativamente das demais pela ausência de homeologias visíveis por bandeamento G.

4) As diferenças cariotípicas entre *T. apereoides* e as espécies *P. sp*. 1, *P. sp*. 9, *P. simonsi*, *P. roberti*, *P. sp*. 7, *P. cuvieri*, *P. longicaudatus* e P. sp. 2 são resultado de um grande número de rearranjos envolvidos na diferenciação.

5) Os rearranjos Robertsonianos e as inversões pericêntricas são os principais mecanismos de evolução cromossômica envolvidos na diferenciação cariotípica de *P. sp*. 1, P. sp. 9, *P. simonsi*, *P. roberti*, *P. sp*. 7, *P. cuvieri*, *P. longicaudatus* e P. sp. 2.

REFERÊNCIAS

AGUILERA & CORTI. Craniometric differentiation and chromosomal speciation of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae). **Z. Säugetierkunde, 59:** 366- 377, 1994.

AMADON, D. The superspecies concept. **Systematic Zoology, 15:** 245-249, 1966.

ANDERSON, S. Introduction to the rodents. In: **Recent mammals of the world**. A synopse of families. Anderson, S. & Jones, J.K Jr. New York, The NORald Press Company, 1967. p. 206-209.

ANDERSON, S & JONES, J.K. Jr. Introdution. In: **Recent mammals of the world**. A synopse of families. Anderson, S. & Jones, J.K. Jr. New York, The NORald Press Company, 1967. p. 3-11.

BABU, A. & VERMA, R.S. Expression of heterocromatin by restriction endonuclease treatment and dystamicin A/DAPI staining of Indian mutjak (Muntiacus muntjak) chromosomes. **Cytogenet. Cell Genet, 41:** 96-100, 1986b.

BARROS, R.M.S. **Variabilidade Cromossômica em *Proechimys* e *Oryzomys* (Rodentia) da Amazônia**. Tese (Doutorado) − São Paulo, Universidade de São Paulo, 1978. 184 p.

BAVERSTOCK, P.R., WATTS, C.H.S., HOGARTH, J.T. Heterochromatin variation in the Australian rodent *Uromys caudimaculatus*. **Chromosoma**, **57:** 397-403, 1976.

BAVERSTOCK, P.R., WATTS, C.H.S., HOGARTH, J.T. Chromosome evolution in Australian rodents. I. The Pseudomyinae, the Hydromyinae, and the Uromys/Melomys group. **Chromosoma**, **61:** 95-125, 1977a.

BAVERSTOCK, P.R., WATTS, CH.S., HOGARTH, J.T. Polymorphism of the X-chromosome, Y-chromosome and autosomes in the Australian hopping mice, *Notomys alexis*, *N. cervinus* and *N. fuscus* (Rodentia, Muridae). **Chromosoma**, **61:** 243-256, 1977b.

BAKER, R.J., BARNETT, R.K. Karyotypic orthoselection for additions of heterochromatin short arms in grass-hopper mice (*Onychomys*: *Cricetidae*). **Southwest. Nat., 26:** 125-131, 1981.

BENADO, M., AGUILERA, M., REIG, O.A., AYALA, F.J. Biochemical Genetics of Chromosome forms of Venezuelan Spiny Rats of the *Proechimys guairae* and *Proechimys trinitatis* Superespecies. **Genetica**, **50:** 89-97, 1979.

BENAZZI, M. Cytotaxonomy and evolution: general remarks. In: **Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution**. 1 st ed. Vol. 1. Chiarelli, A.B. & Capana, E. (eds.). Londres, Academic Press, 1973. p. 3-14.

BENGTSSON, B.O. Rates of karyotype evolution in placental mammals. **Hereditas**, **92:** 37-47, 1980.

BIANCHI, N.O. & MERANI, S. Chromosome 1 polymorphism and viability in Akodon (Rodentia, Cricetidae). In: **Ecologia y Genética de la Especiación Animal**. Reig, O.A. (ed). Caracas, Equinoccio, 1981. p. 211-253.

BICKHAM, J.W., BAKER, R.J. Canalization model of chromosome evolution. **Bulletin Carnagie of Museum Natural History, 13:** 70-84, 1979.

BICKHAM, J. W. & ROGERS, D. S. Structure and vartiation of the nucleolus organizer regions in the turtles. **Genetica. 67:** 171-184, 1985.

BUENO, M.L., GOMEZ-LAVERDE, M. Variacion Heterocromática em Proechimys semispinosus (Rodentia: Echimyidae) de la Region Pacifica Colombiana. **Caldasia**, **17:** 333-340, 1993.

BUENO, M.L., GOMEZ-LAVERDE, M., MORALES, A. Caracterización cariológica de Proechimys sp (Rodentia: Echimyidae) de una colônia experimental. **Biomédica**, **9:** 13-22, 1989.

BUSH, G.L., CASE, S.M., WILSON, A.C., PATTON, J.L. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:** 3642-3646, 1977.

CABRERA, A. Catalogo f South American mammals. II. Rodentia. **Rev. Mus. Argent. Cient. Nat**., **4:** 309-732, 1961.

CHALINE, J., MEIN, P., PETTER, F. Les grandes lignes d´une classification évolutive des Muroidea. **Mammalia**, **41:** 245-252, 1977.

COLBERT, E.H. Rodents and Rabbits. In: **Evolution of vertebrates: a history of the backboned animals through time**. 2. ed. New York, John Wiley and Sons, 1969. p. 321-334.

COMINGS, E.E., AVELINO, E.. DNA loss during Robertsonian fusion in studies of the tabaco mouse. **Nature New Biology, 237:** 199, 1972.

SILVA, M.N.F. Four new species of spiny rats of the genus Proechimys (Rodentia: Echimyidae) from the western Amazon of Brasil. **Procedings of the Biological Society of Washington**, **111:** 436- 471, 1998.

DEV, V.G., MILLER, D.A., TANTRAVANI, R.R., SCHRECK, R.R., RODERICK, T.H., ERLANGER, B.F., MILLER, O.J. Chromosome markers in *Mus musculus*: differences in C-banding between the subspecies *M. m. musculus* and *M. m. molossinus*. **Chromosoma, 53:** 335-344, 1975.

DOBZHANSKY, T. **Genetics of the Evolutionary Process**. New York, Columbia University Press, 1970. 505 p.

DUFFEY, P.A. Chromosome variation in *Peromyscus*: a new mechanism. **Science, 176:** 1333-1334, 1972.

EISENBERG, J.F. The grandorder Archonta. In: **The Mammalian Radiations an Analysis of Trends in Evolution, Adaptation, and Behavior**. London, The Athlone Press, 1983. p. 144-170.

EISENBERG, J.F., REDFORD, K.H. Mammals of the Neotropics. In: **The Central Neotropics**. Chicago, University of Chicago Press, 1999.

ELDER, F.F.B., PATHAK, S. Light microscopic observations on the behavior of silver-stained trivalents in pachytene cells of *Sigmodon fulviventer* (Rodentia, Muridae) heterozigous for centric fusion. **Cytogenetics and Cell Genetics, 27:** 31-38, 1980.

ELLERMAN, J.R. **The families and genera of living rodents**. London, British Museum Natural History, 1940. Vol. 1, 689 p.

EMMONS, L.H. & FEER, F. **Neotropical rainforest mammals: a field guide**. 2. ed. Chicago, University of Chicago, 1997. 307 p.

FORD, C.F. & EVANS, E.P. Robertsonian translocations in mice: segregational irregularities in males heterozigotes and zygotic unbalance. In: **Chromosomes today**. Wahrman, N. & Lewis, K.R. (eds.). New York, Israel University Press, 1973. vol. 4. p. 287-397.

FORD, C.E. & HAMERTON, J.L. A colchicine, hypotonic – citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. **Staining Technology, 31:** 247-251, 1956.

FREITAS, T. R. O. & LESSA, E. P. Cytogenetics and morphology of Ctenomys torquatus (Rodentia – Octodontidae). **J. Mamm, 65:** 637-642, 1984.

FUTUYMA, D.J., MAYER, G.C. Non-allopatric speciation in animals. **Systematic Zoology, 29:** 254-271, 1980.

GARDNER, A.L.; EMMONS, L.H. Species groups in *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae) as indicated by kariology and bullar morfology. **Journal of Mammalogy**, **65:** 10-25, 1984.

GOODPASTURE, C. & BLOOM, S.E. Visualization of nucleolus organizer regions in mammalian chromosome using silver stain. **Chromosoma, 53:** 37-50, 1975.

GREENBAUM, I.F., BAKER, R.J., BOWERS, J.H. Chromosomal homology and divergence between sibling species of deer mice: *Peromyscus maniculatus* and *Peromyscus melanotis* (Rodentia, Cricetidae). **Evolution, 32:** 334-341, 1978.

GROOP, A., WINKING, H. Robertsonian translocations, cytology, meiosis, segregation patterns and biological consequences of heterozygosity. **Symp**. **Zool**. **Soc**, 47**:** 141-181, 1981.

GUERRA, M.S. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro, Guanabara, 1988. 142 p.

HARTENBERG, J.L. **The Order Rodentia: Major Questions on Their Evolutionary Origin, Relationships and Suprafamilial Systematics**. Montpellier, Institutt des Sciences de l`Evolution, 1981. p. 33.

HERSHKOVITZ, P. Mammals of norther Colombia. Preliminary report nº 2: Spiny Rats (Echimyidae), with suplemental notes on related forms. **Proceedings of the United States National Museum**, **97:** 125-140, 1948.

HONACK, J.H., KINEMAN, K.E.; KOEPEL, J.W. **Mammals Species of the world**. Lawrence, Allen Press Inc. and the Association of Systematics Collections. Kansas, 1982. 320 p.

HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. A Rapid Technique for Producing Silver-Stained Nucleolus Organizer Regions and Trypsin-Giemsa Bands on Human Chromosomes. **Human Genetics, 43:** 53-56, 1978.

HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. Controlled silver- staining of nucleolar organizer regions whith protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia, 36:** 1014-1015, 1980.

HSU, T.C. A possible function of constitutive heterochromatin: The bodyguard hypothesis. **Genetica, 79:** 137-150, 1975.

HSU, T.C., ARRIGHI, F.E. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). I. Evolutionary trends in twenty species. **Cytogenetics, 7:** 417-446, 1968.

HSU, T.C., SPIRITO, S.E. & PARDUE, M.L. Distribution of 18S + 28S ribosomal genes in mammalian genomes. **Chromosoma, 53:** 25-36, 1975.

JOHN, B. & MIKLOS, G.L.G. Functional aspects of satellite DNA and heterochromatin. **Int**. **Ver**. **Cytol, 58:** 1-114, 1979.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO. J. O Nucléolo da célula. In: **Biologia Celular e Molecular**. 7. ed. Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000. 339 p.

KASAHARA, S., YONENAGA-YASSUDA, Y., RODRIGUES, M.T. Karyotype and evolution of the *Tropidurus nanuzae* species group (Sauria, Iguanidae). **Rev. Brasil. Genet., 10**: 185-197, 1987a.

KOROBITSYNA, K.V., KORABLEV, V. P. The intraspecific autosome Polymorphism of *Meriones tristrami* (Gerbillinae, Cricetidae, Rodentia). **Genetica, 52/53:** 209-221, 1980.

LARA, M.C. **Systematics and Phylogeography of the Rat gênero *Thrynomys*** (**Rodentia: Echimyidae**). PhD Thesis. University of California at Berkeley, USA. 1994.

LARA, M.C., PATTON, J.L., SILVA, M.N.F. The simultaneous Diversification of South American Echimyid Rodents (Hystricognathi) Basead on Complete Cytochrome b Sequences. **Molecular Philogenetics and Evolution, 5:** 403-413, 1996.

LEAL-MESQUITA, E.R., FAGUNDES, V., YONENAGA-YASSUDA, Y., ROCHA, P.L.B. Comparative Cytogenetic Studies of Two Karyomorphs of *Trichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae). **Rev. Brasil. Genet., 16:** 639-651, 1993.

LEAL-MESQUITA, E.R.R.B.P. **Estudos Citogenéticos em dez espécies de roedores brasileiros da família Echimyidae**. PhD thesis. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 1991.

LEITE, Y.L.R. & PATTON, J.L. Evolution of South American spiny rats (Rodentia, Echimyidae): the star-phylogeny hypothesis revisited. **Molecular Phylogenetics and Evolution**., 25: 455-464, 2002.

MACHADO, T., SILVA, M.J., LEAL-MESQUITA, E. R., CARMIGNOTTO, A. P.,YONENAGA-YASSUDA, Y. Nine karyomorphs for spiny rats os the genus Proechimys (Echimyidae, Rodentia) from North and Central Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, **28:** 682-692, 2005.

MAIA, V. & LANGGUTH, A. Constitutive heterochromatin polymorphism and NORs in *Proechimys cuvieri* Petter, (Rodentia, Echimyidae). **Revista Brasileira de Genética, 16:** 145-154, 1993.

MARUYAMA, T., IMAI, H.T. Evolutionary rate of the mammaliam karyotype. **Biol.**, **90:** 11-21, 1981.

MASCARELLO, J.T. & HSU, T.C. Chromosome evolution in woodrats, gênero *Neotoma* (Rodentia: Cricetidae). **Evolution, 30:** 152-169, 1976.

MASCARELLO, J.T., MAZRIMAS, J.A. Chromosomes of antelope squirrels (gênero *Ammospermophilus*): a systematic banding analysis of four species with unusual constitutive heterochromatin. **Chromosoma, 64:** 207-217, 1977.

MCKENNA, M.C. & BELL, S.K. **Classification of Mammals Above the Species Level**. New York, Columbia University Press. 1997. 252 p.

MOOJEN, J. Speciation in the Brazilian spiny rats (genus *Proechimys*, family Echimyidae). **Univ**. **Kans**. **Publs**. **Mus**. **Nat**. **Hist., 1:** 301-406, 1948.

NESBITT, M.N., FRANCKE, U. A system of nomenclature band patterns of mouse chromosomes. **Chromosoma, 41:** 145- 158, 1973.

NOWAK, R. M. **Walker's Mammals of the World**. Fifth Edition. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press, 1999. 642 p.

PACKARD, R.L. Octodontoid, Bathyergoid and Ctenodactyloid rodents. In: **Recent Mammals of the world - a sinopsis of families**. Anderson, S. & Jones, J.K. Jr. New York, The NORald Press Company, 1967. p. 273-290.

PARDUE, M.L. & HSU, T.C. Locations of 18S and 28S ribosomal genes in the chromosomes of the Indian muntjak. **J. Cell Biol., 64:** 251-254, 1975.

PATHAK, S., HSU, T.C., ARRIGHI, F.E. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). IV. The role of heterochromatin in karyotypic evolution. **Cytogenetis and Cell Genetics, 12:** 315- 326, 1973.

PATTERSON, B., WOOD, A.E. Rodents from the Deseadan Oligocene of Bolívia and the relationships of the Caviomorpha. **Bull. Mus. Zool. Comp. Harv, 149:** 371-543, 1982.

PATTON, J.L.. Patterns of geographic variation in karyotype in the pockt gopher, *Thomomys bottae* (Eydoux and Gervais). **Evolution, 26:** 574-586, 1972.

PATTON, J.L. B-chromosome systems in the pocket mouse, *Perognathus baileyi*: meiosis and C-band studies. **Chromosoma, 60:** 1-14, 1977.

PATTON, J.L. Chromosome Evolution and Speciation in Rodents. **Ann**. **Ver**. **Ecol**. **Syst., 14:** 139-158, 1983.

PATTON, J.L. Species groups of spiny rats, gênero *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae). **Fieldiana: Zoology, 39:** 305-345, 1987.

PATTON, J.L.; GARDNER, L.A. Notes on the systematics of *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae), with emphasis on Peruvian forms. **Museum of Zoology, Lousiana State University, 44:** 1-30, 1972. Occasional Papers.

PATTON, J.L.; REIG, O.A. Genetic diferentiation among echimyid rodents, with emphasis on the spiny rats, gênero *Proechimys* . In: **Advances in Neotropical Mammalogy**. Redford, K.H. and Eisemberg, J.F. (eds). Gainsville, Sandhill Crane Press, 1989. p. 75-96.

PATTON, J.L.; ROGERS, A. Systematic implications of non-geographic variation in the spiny rats genus *Proechimys* (Echimyidae). **Z. Säugetierkd., 48:** 363-370, 1983.

PATTON, J.L. & SHERWOOD, S.W. Genome evolution in pocket gophers (gênero *Thomomys*). I. Heterocromatin variation and speciation potential. **Chromosoma, 85:** 149-162, 1983.

PATTON, J.L., SILVA, M.N.F., MALCOLM, J.R.. Mammals of the rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of amazonia. **Bulletin of the Americam Museum of Natural History, 244:** 202-292, 2000.

POLANI, P.E. Centromere localization at meiosis and the position of chiasmata in the male and female mouse. **Chromosoma, 36:** 343-74, 1972.

POPESCU, N.C., DIPAOLO, J.A. Chromosomal interrelationships of hamster species of the gênero *Mesocricetus*. **Cytogenetics and Cell Genetics, 28:** 10-23, 1980.

POUGH, F.H., JANIS, C.M., HEISER, J.B., **Avida dos vertebrados**. 3. ed. São Paulo, Atheneu, 2003. 699 p.

REIG, O.A. **Teoria del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur**. Monograf. Nature Mus. Munic. Cienc. Nat. " Lorenzo Scaglia", 1981. 161 p.

REIG, O.A. KIBLISKY, P. & LÖBING, I. Isomorphic Sex chromosomes in two Venezuelan populations of the spiny rats, gênero *Proechimys* (Rodentia, Caviomorpha). **Experientia**, **26:** 201-202, 1970.

REIG, O.A., USECHE, M. Diversidad cariotípica y sistemática en poblaciones venezolanas de *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae), com datos adicionales sobre poblaciones de Peru y Colombia. **Acta Cient**. **Venz, 27:** 132-140, 1976.

REIG, O. A., M. TRAINER, AND M. A. BARROS. 1979.Sur l'ı´dentification chromosomique de *Proechimys guyannensis* (E. Geoffroy, 1803) et de *Proechimys cuvieri* Petter, 1978 (Rodentia, Echimyidae). **Mammalia, 43:** 501-505.

REIG, O.A., AGUILERA, M., BARROS, M.A., USECHE, M. Chromosomal speciation in a rassenkreis of venezuelan spiny rats (gênero *Proechimys* , Rodentia, Echimyidae). **Genetica, 52/53:** 291-312, 1980.

ROBBINS, L.W., BAKER, R.J. G- and C-band studies on the primitive karyotype for *Reithrodontomys*. **Journal of Mammalogy, 61:** 708-714, 1980.

ROBBINS, L.W. & BAKER, R.J. An assessment of the nature of chromosomal rearrangements in 18 species of *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). **Cytogenetics and Cell Genetics, 31:** 194-202, 1981.

RUIZ, I.R.G., ALMEIDA, T.M.B., BEÇAK, W. Active nucleolar-organizer regions in polyploid populations of *Odontophrynus americanus* (Amphibia, Anura) from South Brazil. **Genética, 63:** 31-37, 1984.

SBALQUEIRO, J.I. **Análises Cromossômicas e Filogenéticas em Algumas Espécies de Roedores da Região Sul do Brasil**. Tese (Doutorado). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1989. 297 p.

SEABRIGHT, M. "The use of proteolitic enzymes for the mapping of structural rearrangements of man". **Chromosoma, 36:** 204-210, 1971.

SILVA, M.N.F. & PATTON, J.L. Amazonian phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). **Molecular Phylogenetics and Evolution, 2:** 243-255, 1993.

SIMPSON, G.G. The principles of classification and a classification of mammmals. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 85:** 1-350, 1945.

SUMNER, A.T. A simple technique for demosntrating centromeric heterocromatin. **Experimental Cell Research, 75:** 304-306, 1972.

SUMNER, A.T. Genome organization in the light of chromosome banding. In: **Chromosome banding**. London, Unwin Hyman, 1990. p. 332-348.

SVARTMAN, M. **Levantamento Cariotípico de Roedores da Região do Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989. 217 p.

SWOFFORD, D.L. PAUP **Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and otherMethods)**. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2002.

THOMAS, O. The Godman-Thomas expedition to Peru. VII. The mammals of the Rio Ucayali. **Ann. Mag. Nat. Ist. Ser. 7:** 294-302, 1928.

TOLEDO, L.F.A. e FORESTI, F. As regiões organizadores de nucléolo em peixes. **Ciênc. Cult**. 37: 448-453. 1985.

VAUGHAN,T.A. **Mammalogy**. 2.ed. Philadelphia, Saunders Company, 1978. 522p.

WEKSLER, M., BONVICINO, C.R., OTAZU, I.B. & SILVA JUNIOR, J.S. Status of *Proechimys roberti* and *P. oris* (Rodentia: Echimyidae) from eastern Amazonia and Central Brazil. **Journal of Mammalogy, 82:** 109-122, 2001.

WHITE, M.J.D. **Animal Cytology and Evolution**. 2nd ed. London, Cambridge Univ. Press, 1954. 454 p.

WHITE, M.J.D. **Animal Cytology and Evolution**. 3rd. ed. London, Cambridge Univ. Press, 1973. 961 p.

WHITE, M.J.D. **Modes of Speciation**. San Francisco, Freeman, 1978. 455 p.

WILSON, D.E., REEDER, D.M. **Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference**. 2nd. ed. Washington, Smithsonian Inst. Press, 1993, 1114 p.

WOOD, A.E. A revised classification of the rodents. **Journal of Mammalogy, 36:** 165-187, 1955.

WOOD, A.E. Grades and clades among rodents. **Evolution, 19:** 115-30, 1965

WOODS, C.A. What is a hystricomorph – hystricognath rodent? AIBS 27 th. **Ann. Meeting, 20:** 63-84, 1976.

WOODS, C.A. Suborder Hystricognathi. In: **Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference**. Wilson, D.E.. and Reeder, D.M. (eds.). Washington D.C., Smithsonian Institute Press, p. 771-806. 1993.

YONENAGA-YASSUDA, Y.; ASSIS, M.F.L.; KASAHARA, S.; L´ABBATE, M. e SOUZA, M.J. Nucleolar organizer regions in *Akodon arviculoides* (Cricetidae, Rodentia): evidence for the activity of rDNA genes in both X chromosomes of females. **Cytogenet. Cell Genet, 35:** 143-147. 1983.

YONENAGA-YASSUDA, Y., SOUZA, M.J., KASAHARA, S., L´ ABBATE, CHU, H.T. Supernumerary system in *Proechimys iheringi* (Rodentia, Echimyidae), from the State of São Paulo, Brazil. **Caryologia, 38:** 179-194, 1985.

YOSIDA, T.H. Chromosome differenciation and species evolution in rodents. In: **Chromosomes in Evolution of Eukaryotic Groups Vol. 1**. Sharma A.K. & Sharma, A. (eds.). [S. l.: s. n.], 1983. p. 147 - 176..

YOSIDA, T.H., SAGAI, T. Variation of C-bands in the Chromosomes of several subspecies of *Rattus rattus*. **Chromosoma, 50:** 283-300, 1975.

APÊNDICE

Apêndice – Matriz Básica de Dados Utilizada no PAUP

Continua

Caráter\Táxon	PCU	PLO	PSP2	PRO	PSI	PSP7	PSP9	PSP1	TAP
Cromossomo 1 como em PCU (p+q)	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Cromossomo 1 dissociado	0	0	0	1	1	1	1	1	1
Cromossomo 1 q acrocêntrico	1	1	1	0	0	1	1	1	1
Cromossomo 1 q com inversão	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Cromossomo 1 p acrocêntrico	1	1	1	1	1	1	0	1	1
Cromossomo 1 p com inversão	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Cromossomo 1 p fusionado com o cromossomo 12	0	0	0	1	0	0	0	1	1
Cromossomo 2 como em PCU	1	1	1	0	0	1	0	0	9
Cromossomo 2 com inversão pericêntrica	0	0	0	1	1	0	1	1	9
Cromossomo 3 associado como em PCU (p+q) com inversão dando origem a um ST	1	0	0	0	0	1	0	0	9
Cromossomo 3 associado assim como em PCU, com inversão dando origem a um acrocêntrico.	0	1	1	0	0	0	0	0	9

Notas: valor convencional utilizado:

0= primitivo

1 = derivado

9 = ausência de homeologia identificáveis por bandeamento

Apêndice – Matriz Básica de Dados Utilizada no PAUP

Continua

Caráter\Táxon	PCU	PLO	PSP2	PRO	PSI	PSP7	PSP9	PSP1	TAP
Cromossomo 3 associado com inversão pericêntrica originando um submetacêntrico	0	0	0	1	1	0	0	0	9
Cromossomo 3 submetacêntrico dissociado	0	0	0	0	0	0	1	1	9
Cromossomo 3 q submetacêntrico com fusão cêntrica com 1 q	0	0	0	0	0	0	1	0	9
Cromossomo 4 p+q como em PCU	1	1	1	1	1	1	1	0	1
Cromossomo 4 dissociado	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Cromossomo 5 p+q como em PCU	1	1	1	1	1	1	0	0	9
Cromossomo 5 dissociado	0	0	0	0	0	0	1	1	9
Cromossomo 6 p+q como em PCU	1	0	0	0	0	0	0	9	9
Cromossomo 6 com dissociação q distal	0	1	1	1	1	1	1	9	9
Cromossomo 7 p+q como em PCU	1	1	1	1	1	1	1	9	9
Cromossomo 8 p+q como em PCU	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Cromossomo 10 como em PCU	1	1	1	1	1	1	1	9	9
Cromossomo 12 fusionado	0	0	0	1	0	0	0	9	9

Notas: valor convencional utilizado:

0= primitivo

1 = derivado

9 = ausência de homeologia identificáveis por bandeamento

Apêndice – Matriz Básica de Dados Utilizada no PAUP

Fim

Caráter\Táxon	**PCU**	**PLO**	**PSP2**	**PRO**	**PSI**	**PSP7**	**PSP9**	**PSP1**	**TAP**
Cromossomo 13 como em PCU	1	9	9	1	1	0	1	9	9
Cromossomo 13 com inversão pericêntrica	0	0	0	0	0	1	0	9	9
Cromossomo X acrocêntrico como em PCU	1	0	0	0	1	1	1	1	1
Cromossomo X com inversão originando um submetacêntrico	0	1	1	1	0	0	0	0	0

Notas: valor convencional utilizado (RENNER, 1971):

0= primitivo

1 = derivado

9 = ausência de homeologia identificáveis por bandeamento