

## CARACTERIZAÇÃO CROMOSSÔMICA DE ESPÉCIES DE *Micoureus* e *Marmosa* (Didelphimorphia: Didelphidae) DE QUATRO LOCAIS NA BACIA AMAZÔNICA

Érica Martinha Silva de SOUZA<sup>1</sup>; Carlos Eduardo Faresin e SILVA<sup>2</sup>; Eliana FELDBERG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PAIC/FAPEAM/INPA; <sup>2</sup>Coorientador; <sup>3</sup>Orientadora CBIO/INPA

### 1. Introdução

Os marsupiais amazônicos são alocados na família Didelphidae, ocupam nichos e habitats variados, além de possuírem uma ampla plasticidade alimentar (da Silva *et al.* 2001; Wilson e Reeder 2005). Na Amazônia são conhecidas 22 espécies, distribuídas em 12 gêneros (da Silva *et al.* 2001), dentre eles, os gêneros *Marmosa* (Gray 1821) e *Micoureus* (Thomas 1905). *Marmosa* é considerado de taxonomia problemática e *Micoureus demerarae* já foi anteriormente alocada neste táxon, que segundo Tate (1933) chegou a englobar o que é hoje reconhecido como cinco gêneros distintos. Entre espécies de *Marmosa* e *Micoureus* é observada uma grande semelhança tanto na morfologia externa, como na morfologia craniana (Creighton e Gardner 2007). Nesse âmbito, os marcadores cromossômicos podem ser utilizados como ferramenta para auxiliar no entendimento de aspectos evolutivos dos mais diversos grupos e para diferenciar espécies ou populações (Guerra 1988; Bonvicino *et al.* 2005; Silva 2008). Assim, a caracterização cromossômica poderá contribuir para o conhecimento da diversidade cariotípica destas espécies na Amazônia. Isso porque, os cromossomos constituem o próprio material genético e alterações cromossômicas representam importantes fatores evolutivos das espécies. Ainda, a comparação desses dados com espécies próximas, permitirá identificar características comuns e distintas entre elas e inferir se padrões de diferenciação cromossômica se associam com populações ou espécies.

### 2. Material e Métodos

Foram analisados 13 indivíduos de *Micoureus demerarae* de três localidades, sendo cinco do Rio Aripuanã, oito do Jari/Monte Dourado e um do Juruá; um indivíduo de *Marmosa cf. lepida* do Rio Madeira; e três indivíduos de *Marmosa murina* do Juruá. Os cromossomos mitóticos foram obtidos pelo método *in vivo* segundo Ford e Harmerton (1956) e classificados conforme Levan *et al.* (1964). As regiões organizadoras de nucléolos (RONs) foram detectadas por meio do tratamento com nitrato de Prata (Howell e Black 1980), o padrão da heterocromatina constitutiva (banda C) por meio da ação do hidróxido de bário (Sumner 1972) com alterações na concentração e no tempo de ação do hidróxido de Bário para 2,5% e seis a oito segundos. Para determinar o padrão de banda G, vários protocolos foram testados, sendo que aquele descrito por Gold *et al.* (1990) foi o que apresentou melhores resultados.

### 3. Resultados e Discussão

O número diplóide encontrado para as duas espécies de *Marmosa* e uma de *Micoureus* foi igual a 14 cromossomos. Em *Marmosa cf. lepida* a fórmula cariotípica foi igual a  $2m+6sm+4a+XX/NF=20$ , com o cromossomo X sendo um acrocêntrico (fig. 1a), a RON foi simples no braço curto do par 6 (fig. 1d), a heterocromatina constitutiva esteve presente em todos os autossomos e no sexual X, na região centromérica (fig. 1b) e o bandeamento G permitiu apenas emparelhar os cromossomos (fig. 1c). Em *Marmosa murina*, a fórmula cariotípica de  $2m+6sm+2st+2a+XY/NF=22$ , o par sexual consiste de um X acrocêntrico e de um Y puntiforme (fig. 1e), com RON múltipla nos braços longos do par 5 e nos braços curtos do par 6, sendo que um indivíduo apresentou marcação adicional em um dos homólogos do par 3, nos braços curtos (fig. 1g). Quanto à distribuição da heterocromatina em *M. murina*, todos os autossomos e o sexual X apresentaram uma tênue marcação no centrômero e o Y mostrou-se completamente heterocromático (fig. 1f). Segundo Hsu *et al.* (1975) a RON localizada em um único par cromossômico é um caráter ancestral em mamíferos. Assim, este marcador pode ser considerado como um caráter a mais na diferenciação das duas espécies de *Marmosa*, embora seus cariótipos sejam muito semelhantes, uma vez que *M. cf. lepida* tem um sistema de RON simples e *M. murina* um sistema múltiplo. Além disso, com base neste caráter pode-se sugerir que *M. murina* é derivada em relação a *M. cf. lepida*. Para *Micoureus demerarae* todos os indivíduos apresentaram a fórmula cariotípica igual a  $2m+6sm+4a+XX/XY$  e  $NF=20$ , com o X sendo um acrocêntrico grande e o Y um acrocêntrico pequeno (fig. 2a, e, h). A RON esteve nos braços longos do par 5 e nos braços curtos do par 6 (fig. 2 d, g, j). A análise da morfologia dos cromossomos para essa espécie corrobora com dados já conhecidos da literatura para indivíduos de Pernambuco (Souza *et al.* 1990); do nordeste do Brasil (Pagnozzi *et al.* 2000); centro-oeste e sul do Brasil (Carvalho *et al.* 2002); de São Paulo (Svartman e Vianna-Morgante 2003). No entanto, em relação às RONs, em indivíduos coletados no interior de São Paulo verificou-se marcação apenas nos braços curtos do par 6 (Pereira *et al.* 2008). A variação quanto ao número de marcações de RON se remete apenas à atividade dessas regiões. Todos os indivíduos apresentaram o mesmo padrão de banda C: blocos de heterocromatina na região centromérica, o cromossomo Y inteiramente heterocromático, enquanto o X esteve quase todo heterocromático, exceto por uma estreita

faixa eucromática proximal. O padrão da banda G permitiu apenas o correto emparelhamento dos cromossomos. Sabe-se que espécies destes gêneros se assemelham morfológicamente, no entanto quando analisamos seus cariótipos pode-se constatar que eles são facilmente diferenciados.

#### 4. Conclusão

1) As duas espécies de *Marmosa* podem ser diferenciadas facilmente pela fórmula cariotípica, pela morfologia do cromossomo X e pelo padrão da RON.

2) *Micoureus demerarae* não apresentou nenhuma diferença cromossômica entre as três localidades.

3) Embora espécies dos gêneros *Marmosa* e *Micoureus* sejam muito semelhantes morfológicamente, o cariótipo permite separá-las com segurança.

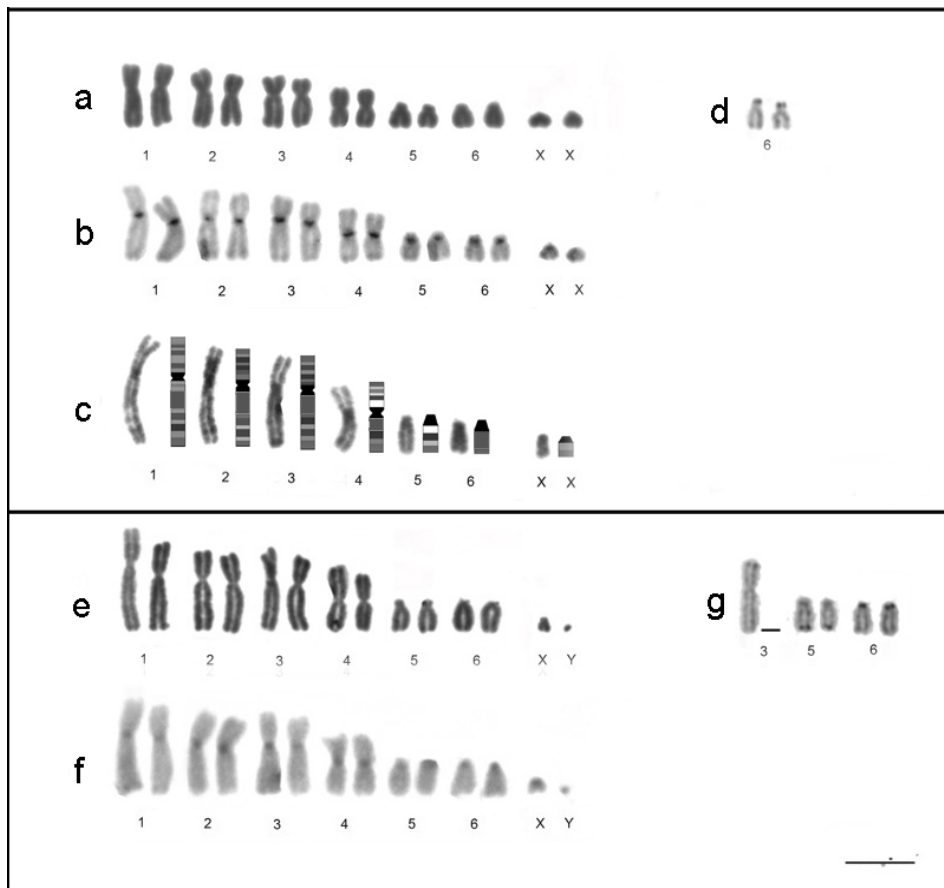


Figura 1. Cariótipos de *Marmosa* cf. *lepida* (MCA 12): a) em coloração convencional; b) após bandeamento C; c) após bandeamento G; d) regiões organizadoras de nucléolo, após impregnação por nitrato de prata. Cariótipos de *Marmosa murina* (RNL 67): e) em coloração convencional; f) após bandeamento C; g) regiões organizadoras de nucléolo, após impregnação por nitrato de prata. Barra igual a 10  $\mu$ m.

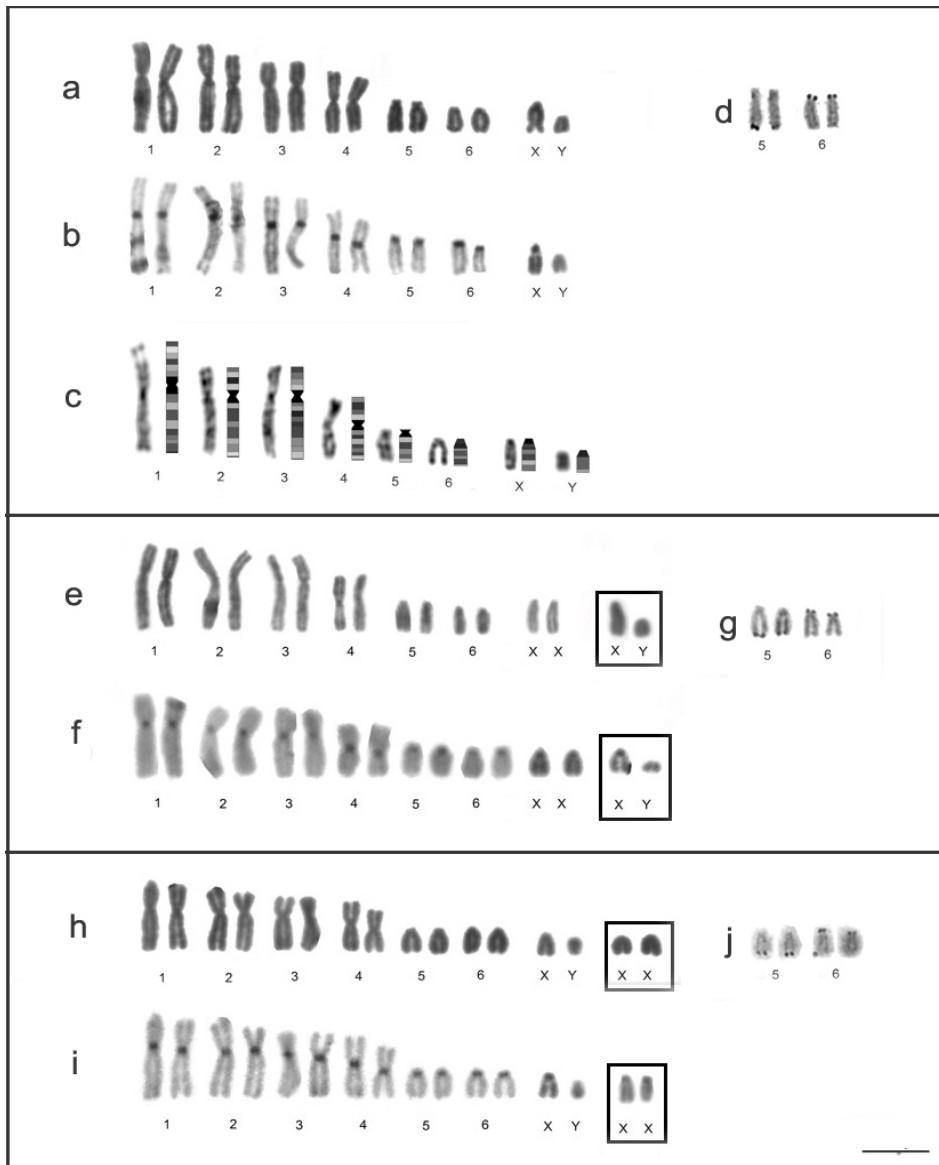


Figura 2. Cariótipos de *Micoureus demerarae* do Juruá (EE115): a) em coloração convencional; b) após bandeamento C; c) após bandeamento G; d) regiões organizadoras de nucléolo, após impregnação por nitrato de prata. Do Aripuanã (MCA27; MCA48): e) Giemsa, f) banda C e g) RON. Do Jari (RNL 46; RNL 31): h) Giemsa, i) banda C e j) RON. Barra igual a 10  $\mu$ m.

### 5.Referências Bibliográficas

- Bonvicino, C.R.; Otazú, I.B.; Vilela, J.F. 2005. Karyologic and molecular analysis of *Proechimys* Allen, 1899 (Rodentia, Echimyidae) from the Amazonian region. *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, 63 (1): 191-200.
- Carvalho, B.A.; Oliveira, L.F.; Nunes, A.P.; Mattevi, M.S. 2002. Karyotypes of nineteen marsupial species from Brazil. *Journal of Mammalogy*, 83(1): 58-70.
- Creighton, G.K.; Gardner, A.L. 2007. Genus *Marmosa* Gray, 1821. In: *Mammals of South América*, Vol. 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats. Ed. A. L. Gardner. The University of Chicago Press.
- da Silva, M.N.F.; Rylands, A.B.; Patton, J.L. 2001. Biogeografia e conservação da mastofauna na floresta Amazônica Brasileira. In: Capobianco, J.P.R.; Veríssimo, A.; Moreira, A.; Sawyer, D.; Santos, I.; Pinto, L.P. (Eds). *Biodiversidade na Amazônia Brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios*. Instituto Socioambiental. São Paulo. 540pp.
- Ford, C.; Hamerton, J. 1956. A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31: 247-251.
- Gold, J.R.; Li, Y.C.; Shipley, N.S.; Powers, P.K. 1990. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *Journal of Fish Biology*. 37: 563-575.

- Guerra, M.S. 1988. *Introdução à citogenética geral*. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 142 pp.
- Howell, W.M.; Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer region with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- Hsu, T.C.; Spirito, S.E.; Pardue, M.L. 1975. Distribution of 18S+28S Ribosomal Genes in Mammalian Genomes. *Chromosoma*, 53: 25-36.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Pagnozzi, J.M.; Silva, M.J.J.; Yonenaga-Yassuda, Y. 2000. Intraspecific variation in the distribution of the interstitial telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences in *Micoureus demerarae* (Marsupialia: Didelphidae). *Chromosome Research*, 8: 585–591.
- Pereira, N.P.; Ventura, V.; Silva, M.C.J.; Silva, D.M.; Yonega-Yassuda, Y.; Pellegrino, C.M. 2008. Karyotype characterization and nucleolar organizer regions of marsupial species (Didelphidae) from areas of Cerrado and Atlantic Forest in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*. 31(4): 887-892.
- Silva, C.E.F. 2008. *Citogenética de cinco espécies de pequenos mamíferos não voadores de três localidades*. Dissertação de Mestrado. INPA/GCBEV, Manaus, 61p.
- Souza, M J., Maia, V.; Santos, J.F. 1990. Nucleolar organizer regions, G- and C-band in some Brazilian species of Didelphidae. *Revista Brasileira de Genética* 13:767–775.
- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.
- Svartman, M.; Vianna-Morgante, A.M. 2003. Conservation of nucleolus organizer in American marsupials (Didelphidae). *Genetica*, 118: 11-16.
- Tate, G.H.H. 1933. A systematic revision of the marsupial genus *Marmosa*, with a discussion of the adaptive radiation of the murine opossums (*Marmosa*). *Bulletin of American Museum of Natural History*, 66: 1–250.
- Wilson, D.E.; Reeder, D.M. 2005. *Mammal Species of the World*. Johns Hopkins University Press. 2142 pp.