### INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA EVOLUTIVA

# Citogenética de marsupiais dos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis* (Didelphidae) de cinco localidades na Amazônia

Rodrigo Amaral de Andrade

MANAUS-AM 2009

#### **RODRIGO AMARAL DE ANDRADE**

# Citogenética de marsupiais dos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis* (Didelphidae) de cinco localidades na Amazônia

ORIENTADORA: Eliana Feldberg, Dra.

CO-ORIENTADORA: Maria Nazareth Ferreira da Silva, PhD.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

MANAUS-AM 2009

#### FICHA CATALOGRÁFICA

A553 Andrade, Rodrigo Amaral de

Citogenética de marsupiais dos gêneros Marmosops e

Monodelphis

(Didelphidae) de cinco localidades na Amazônia / Rodrigo Amaral

de

Andrade.--- Manaus : [s.n.], 2009.

xi, 66 f. : il.

Dissertação (mestrado)-- INPA/UFAM, Manaus, 2009

Orientador: Eliana Feldberg

Co-orientador : Maria Nazareth Ferreira da Silva

Área de concentração : Genética, Conservação e Biologia

Evolutiva

1. Cuíca. 2. Didelphimorphia. 3. Citotaxonomia. 4. Rato-cachorro.

5. Cuíca. I. Título.

#### Sinopse:

Com o intuito de avaliar a diversidade cariotípica de espécies de marsupiais pertencentes aos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis*, espécimes foram coletados em cinco localidades amazônicas. A análise dos cariótipos e aplicação da técnica de bandeamento –C e Ag-RON revelaram-se eficazes na separação de citótipos de *Marmosops*, no qual dois foram evidenciados. Em *Monodelphis* foi confirmada a alta variabilidade cariotípica. A comparação destes dados com os da literatura permitiu uma discussão acerca da evolução cariotípica do grupo.

#### Palavras-chave:

Cuíca, Rato-cachorro, Citotaxonomia, Cariótipo, Rearranjos cromossômicos, Evolução cariotípica, Didelphimorphia, Banda C.

"Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, pois cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra.

Cada um que passa em nossa vida passa sozinho, mas não vai só, nem nos deixa só, leva um pouco de nós, e deixa um pouco de si mesmo.

Esta é a maior responsabilidade de nossa vida, e a prova evidente de que duas almas não se encontram por acaso."

Antoine de Saint-Exupéry

#### APOIO:

Laboratório de Genética Animal, Coordenação de Pesquisas em Biologia Aquática, Coleção de Mamíferos e Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Projeto (PPI/INPA) – "Caracterização genética (cromossomos, proteínas e DNA) de peixes e pequenos mamíferos".

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – projeto "Sistemática, genética e ecologia de pequenos mamíferos do vale do rio Jari, Pará e Amapá". CNPq 480908/04 – 4.

CNPq, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) e Ministério do Meio Ambiente (MMA) - projeto "Inventário Faunístico do Médio rio Madeira" - CNPq-PROBIO, convênio 2515.00/02.

IBAMA e MMA – projeto "Plano de gestão da RESEX Baixo Juruá".

Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ) – projeto de elaboração do Plano de Gestão do Parque Estadual do Rio Negro Setor Sul (PAREST).

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – concessão da bolsa de mestrado

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que de alguma forma participaram do trabalho e da minha vida durante a execução deste.

A meus pais, Diva e José Carlos, pelo amor, apoio, pela compreensão da ausência, e pelos braços abertos toda vez que chego em casa.

À minha tia Dayse e minha avó Dulcy, pela preocupação e ajuda nos tempos difíceis, e pelas melhores refeições que se pode ter em família.

A meus irmãos, Ricardo, Mariana e Marcela, por toda admiração e por fazerem com que as temporadas em casa sejam sempre cheias de alegria e conforto.

Aos meus inestimáveis amigos, que conquistei ao longo dos anos e que sempre permanecem ao meu lado não importando onde estejam.

A Carlos Eduardo Faresin e Silva, Marco Antônio Alves Schetino, Rafaela Trindade Maia, Rafael Costa Angrizani, Renato Machado e Gabriela Müller, os Coiotes do Amazonas, por me acolherem, ensinarem e apoiarem, por sua amizade tão importante e atemporal.

A meus colegas de laboratório, Eduardo Eler, Carlos Henrique Schneider, Leila Braga Ribeiro, Maria Leandra Terêncio e Maria Cláudia Gross. O conhecimento que me passaram não tem preço, e sua dedicação é um exemplo em minha vida e profissão.

À Érica M. Silva de Souza. O maior desejo de todo professor é aprender com seu aluno. Obrigado por me ensinar.

À minha co-orientadora, Dra. Maria Nazareth Ferreira da Silva, pelas correções importantes para meu trabalho.

À Dra. Eliana Feldberg, pela orientação e pelo exemplo, por me receber e acolher como um filho, por acreditar em mim e sempre me botar para frente, mesmo quando hesitava ou fraquejava.

#### **RESUMO**

Marsupiais ocupam os mais diversos nichos e tem uma ampla distribuição e por isso desempenham um papel importante nos ecossistemas. Ainda assim, grande parte da diversidade do grupo é desconhecida, especialmente na região neotropical, área de ocorrência dos marsupiais didelfídeos. Análises moleculares e estudos cromossômicos são importantes ferramentas para analisar a diversidade biológica, frequentemente representando métodos simples e indispensáveis na identificação de vários táxons e na elucidação dos processos evolutivos. Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade cariotípica de espécies dos gêneros Marmosops e Monodelphis, comparando estes dados com os da literatura para outras regiões do país. Para isso foram analisados 16 indivíduos de *Marmosops* spp. e nove de Monodelphis spp. de cinco localidades na Amazônia brasileira. Em Marmosops spp., o número diplóide igual a 14 cromossomos foi confirmado e também as regiões organizadoras do nucléolo (RONs) simples que é comum a todas as espécies com 2n=14. No entanto dois padrões de banda C foram evidenciados. Uma análise morfológica superficial incluiu estes indivíduos em Marmosops parvidens, espécie já conhecida pelo grande problema taxonômico. Nesse caso, os representantes aqui analisados apresentam mais dois citótipos para espécie. Já em Monodelphis, somente o número diplóide foi constante (2n=18). Com as três descrições cariotípicas encontradas, os indivíduos foram classificados como Monodelphis sp., Monodelphis cf. emiliae e Monodelphis brevicaudata, sendo que este último apresentou um novo citótipo, inclusive na posição das RONs, que foram evidenciadas nos cromossomos X e Y. A partir dos dados obtidos no presente trabalho e comparações com dados da literatura foi possível apoiar a hipótese de evolução cariotípica dos didelfídeos onde 2n=14 cromossomos seria o cariótipo ancestral.

#### **ABSTRACT**

Marsupials occupy many different niches and have a large distribution, hence possessing an important role in ecosystems. Still, most of this group's species diversity is unknown, especially in the neotropics, area of occurrence of didelphid marsupials. Genetic analyses and chromosomal studies are important tools to analyze the biologic diversity, frequently presenting simple and invaluable method for identifying taxa and elucidating evolutionary processes. As such, the present work had the main goal to evaluate the karyotypic diversity in species of genus Marmosops and Monodelphis, comparing present data with past works in other regions of the country. For this, 16 individuals of *Marmosops* spp. and nine of *Monodelphis* spp. from five localities in the Brazilian Amazon were analyzed. In Marmosops spp., diploid number of 14 chromosomes was confirmed and also the single nucleolar organizing region (NOR) site, which is common for all species that possess 2n=14. However two different patterns of C-bands were found. A superficial morphologic analysis identified these individuals as Marmosops parvidens, a species well-known for their great taxonomic problem. In this case, representants here described account two new citotypes for this species. As for *Monodelphis* spp., only the diploid number (2n=18) was constant. With three different karyotypic descriptions, individuals here analyzed were identified as Monodelphis sp., Monodelphis cf. emiliae, and Monodelphis brevicaudata, this last presenting a new citotype, even in position of NORs, which were present in sexual chromosomes X and Y. With obtained data in the present work and comparisons with data from literature, it was possible to support the didelphid karyotypic evolution hypothesis were 2n=14 would be the ancestral karyotype.

## Sumário

| 1.         | Introdução  | 1                    |
|------------|---|----------------------|
| 1.1        | Citogenética em pequenos mamíferos  | 4                    |
| 1.2        | Objetivos   | 14                   |
| 2.         | Material e Métodos  | 15                   |
| 2.1        | Localidades amostradas  | 15                   |
| 2.2        | Coleta de Material  | 17                   |
| 2.3        | Caracterização morfológica  | 20                   |
| 2.4        | Métodos   | 23<br>24<br>24<br>25 |
| 3.         | Resultados  | 27                   |
| 3.1        | Marmosops sp. 3.1.1 Marmosops sp. (padrão I de banda C) 3.1.2 Marmosops sp. (padrão II de banda C) Monodelphis sp. 3.1.1 Monodelphis sp. 3.1.2 Monodelphis brevicaudata 3.1.3 Monodelphis cf. emiliae | 27<br>28<br>31<br>31 |
| 4.         | Discussão   | 35                   |
| 4.1<br>4.2 | Citotaxonomia Evolução Cariotípica  |                      |
| 5.         | Conclusões  | 44                   |
| 6.         | Referências Bibliográficas  | . 45                 |
| APÉ        | NDICE I   | 56                   |
| Α.         | Morfologia externa e craniana dos exemplares de Marmosops sp  | 56                   |
| В.         | Morfologia externa e craniana dos exemplares de Monodelphis spp   | . 65                 |

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

# Figuras

| Figura 1. Mapa da região amazônica com as localidades de coleta                                  | 16 |
|--|----|
| Figura 2. Coloração ventral dos exemplares de <i>Marmosops</i> sp                                | 21 |
| Figura 3. Detalhe da região orbital de <i>Marmosops</i> spp                                      | 21 |
| Figura 4. Coloração dorsal e ventral nos exemplares de <i>Monodelphis</i> spp                    | 22 |
| Figura 5. Distribuição da pelagem na cauda de <i>Monodelphis</i> spp                             | 22 |
| Figura 6. Cariótipos de <i>Marmosops</i> sp. padrão I e II                                       | 29 |
| Figura 7. Cariótipos de Monodelphis spp.   | 33 |
| Figura 8. Morfologia dos pares cromossômicos 5 e 6 e sexuais descritos para <i>Marmosops</i> spp |    |
| Figura 9. Distribuição dos padrões de banda C encontrados para<br>Marmosops sp. analisados       |    |
| Figura 10. Tempo de divergência de marsupiais  | 42 |

# Tabelas e quadros

| Tabela 1. | Formas cromossômicas descritas para espécies da família            |    |
|-----------|--|----|
|           | Didelphidae  | 6  |
| Tabela 2. | Lista dos indivíduos analisados.                                   | 19 |
| Tabela 3. | Totais de células analisadas, fórmula cariotípica, NF, posição das |    |
|           | RON, morfologia dos sexuais e padrão de banda C para               |    |
|           | Marmosops sp   | 30 |
| Tabela 4. | Totais de células analisadas, fórmula cariotípica, NF, posição das |    |
|           | RON, morfologia dos sexuais e padrão de banda C para               |    |
|           | Monodelphis spp  | 34 |

#### 1. Introdução

A classe Mammalia apresenta uma enorme diversidade de formas. Os menores mamíferos viventes estão entre os musaranhos (gênero *Sorex*) e o morcego *Craseonycteris thonglongyai*, que pesam até três gramas, enquanto o maior, a baleia azul (*Balaenoptera musculus*), pesa cerca de 160 toneladas. Os mamíferos apresentam também os mais diversos estilos de vida, desde hábitos natatórios ou voadores, até hábitos cursoriais (corredores), escansoriais (escaladores) e fossoriais (escavadores), que os permitem explorar os mais diversos nichos, distribuídos por todos os continentes e oceanos do mundo (Wund & Myers, 2005).

Dentro da classe Mammalia, subclasse Theria, estão os pequenos mamíferos não voadores, compostos em sua maioria de marsupiais e roedores. Os marsupiais compõem a Infraclasse Metatheria, que contém sete ordens: Didelphimorphia, Microbiotheria, Paucituberculata, Dasyuromorphia, Diprotodontia, Peramelemorphia e Notoryctemorphia (Gardner, 2005). No continente sul-americano, esta infraclasse está representada por três ordens: família e seis Paucituberculata com uma espécies, Microbiotheria. representada por uma única espécie, e a ordem Didelphimorphia, com o maior número de espécies entre os marsupiais americanos (Groves, 1993; Gardner, 2005). A ordem Didelphimorphia é conhecida na América do Sul desde o Cretáceo Superior (Marshall et al., 1990; McKenna & Bell, 1997 apud Gardner, 2007). Os didelfimorfos incluem uma única família, Didelphidae, composta por 19 gêneros e cerca de 89 espécies, das quais somente três não ocorrem na América do Sul (Gardner, 2007). Segundo Albuja & Patterson (1996), da Silva et al. (2001) e Gardner (2005), pelo menos 12 desses gêneros são encontrados na Amazônia.

Os marsupiais ocupam todas as comunidades de florestas neotropicais, incluindo habitats mais abertos, o que pode refletir de forma marcante nas características morfológicas das espécies (Voss & Emmons, 1996). Nos gêneros de marsupiais didelfídeos *Caluromys*, *Micoureus* e *Gracilinanus* são evidentes adaptações nas patas e caudas para o modo de vida arborícola, enquanto o gênero *Chironectes* possui membranas interdigitais incompletas,

próprias para o hábito semi-aquático.

A dieta dos marsupiais também apresenta grande amplitude. De modo geral, marsupiais apresentam dieta onívora, mas algumas espécies são mais especializadas em dietas frugívoras ou insetívoras (Silva, 2005). No entanto, Santori & Astúa de Moraes (2006) argumentam que o uso de categorias tróficas muito gerais (e.g. insetívoro/onívoro, frugívoro/onívoro) é inadeguado. pois oculta informações importantes para estudos ecológicos e estrutura trófica das comunidades. Astúa de Moraes et al. (2003) realizaram um estudo amplo sobre a dieta dos didelfídeos, envolvendo 12 espécies da família, e concluíram que existe um gradiente de utilização de nutrientes entre as espécies. Esses autores ainda concluem que as classificações mais usuais para hábitos alimentares deveriam ser usadas de modo relativo quando se trata dos didelfídeos, pois podem ocorrer subestimativas do uso de nutrientes, ao contrário do que sugerem os estudos de campo. Além de serem elemento ativo do ecossistema e parte da dieta de outros animais (aves, mamíferos e répteis), os marsupiais, especialmente espécies com preferência pela frugivoria, podem atuar como dispersores ou predadores de sementes, selecionando, desse modo, as plantas participantes das sucessões ecológicas (Malcolm, 1991b; Emmons, 1984; Cáceres, 2006).

Na área da saúde, os marsupiais possuem um papel preponderante como reservatórios de diversas zoonoses, como leishmaniose (Camargo & Langoni, 2006), giardíase (Bettiol *et al.*, 1997), arboviroses, toxoplasmose e tripanossomíase (Thatcher, 2006).

Associado à grande variedade de ecossistemas encontrados na Amazônia existe também uma grande diversidade de espécies nessa região. Dentre os mamíferos, na Amazônia brasileira já foram registradas 311 espécies, correspondendo a aproximadamente 7% de toda diversidade de mamíferos do mundo (Nowak, 1991; Eisenberg & Redford, 1999; Patterson, 2000; da Silva *et al.*, 2001; Gardner, 2005). Porém, poucos locais de floresta neotropical foram devidamente inventariados e estudados (Voss & Emmons, 1996). Este fato é reforçado pela estimativa de que um novo gênero e oito novas espécies de mamíferos neotropicais são descritos por ano, sendo que 7% destes são didelfídeos (Patterson, 2000). Essas lacunas de conhecimento dificultam iniciativas de conservação e manejo da fauna em geral, assim como

análises regionais, fundamentadas em dados diretos sobre a biodiversidade (Fearnside & Ferraz, 1995; Brito, 2004).

Nos últimos anos, diversos projetos envolvendo inventários faunísticos vêm sendo realizados em regiões como o vale do rio Madeira, a região do Vale do Jarí e o rio Juruá. O presente estudo é um dos resultados oriundo desses esforços, e visa contribuir para o preenchimento de lacunas sobre a taxonomia e a diversidade de espécies de marsupiais habitantes dessas áreas, enfocando especialmente a citogenética de exemplares dos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis*. Desse modo, vem também contribuir para o conhecimento da biodiversidade amazônica.

Indivíduos do gênero Marmosops são de tamanho pequeno a muito pequeno (24-85 gramas), apresentam pelagem curta e lisa, variando do castanho-alaranjado ao marrom escuro e na Amazônia são encontrados em áreas tanto de terra firme como de várzea (Nowak, 1991; Emmons & Feer, 1997; Malcolm et al., 2005). Pouco se conhece sobre os hábitos alimentares desses animais, sendo que diversas espécies do gênero têm sua dieta meramente deduzida pela semelhança com outras espécies do gênero Marmosa e Marmosops "sensu lato", pois não existem descrições sobre sua dieta natural (Santori & Astúa de Moraes, 2006). Quanto à taxonomia, atualmente são reconhecidas 15 espécies (Gardner & Creighton, 2007). Entretanto, assim como para diversos outros gêneros de marsupiais didelfídeos, e especialmente entre os denominados "marmosíneos", a taxonomia do gênero Marmosops no nível de espécie ainda é bastante instável e necessita de revisão taxonômica abrangente (Voss et al., 2004). Na Amazônia, até muito recentemente, apenas três espécies eram reconhecidas (Gardner, 2005). Mustrangi & Patton (1997), na revisão dos membros de Marmosops da Mata Atlântica, empregando marcadores moleculares mitocondriais. evidenciaram а alta divergência entre representantes geográficos de diferentes subespécies de M. parvidens, a ponto de sugerirem a elevação taxonômica das mesmas em nível de espécie. Patton et al. (2000), em seu estudo sobre a fauna de pequenos mamíferos ao longo do rio Juruá, reconheceram quatro espécies de Marmosops presentes nessa drenagem, elevaram M. neblina em nível de espécie e evidenciaram clados regionais altamente diferenciados, reiterando a complexidade de *M. parvidens* (sensu Pine, 1981).

Animais do gênero Monodelphis, comumente chamados de "catita-derabo-curto" ou "rato-cachorro", são marsupiais terrestres de tamanho relativamente pequeno (24-150 gramas), de coloração extremamente variável, e por este motivo muitas vezes são erroneamente confundidos com roedores. Este gênero tem sido considerado como o mais diverso da família Didelphidae, com 18 espécies, 13 destas ocorrendo no Brasil (Gardner, 2007). Habitam uma grande variedade de habitats e sua distribuição vai desde o Panamá até a Argentina. Sua dieta é basicamente composta de insetos, mas somente Monodelphis dimidiata, Monodelphis domestica e Monodelphis brevicaudata possuem estudos sobre seus respectivos hábitos alimentares em laboratório. Dados sobre a dieta das demais espécies são praticamente inexistentes, sendo citado apenas que dois indivíduos de Monodelphis sorex foram capturados em Mata de Araucária utilizando tomate e banana como isca (Santori & Astúa de Moraes, 2006). Constitui um paradoxo como este gênero tão diverso é ainda assim um dos menos conhecidos entre os marsupiais, inclusive em relação à sua sistemática e áreas de ocorrência (Nowak, 1991; Costa & Patton, 2006).

#### 1.1 Citogenética em pequenos mamíferos

De modo geral, acredita-se que uma grande variabilidade de ambientes pode gerar uma grande biodiversidade oculta, que pode ser revelada com análises genéticas. Segundo Mayr (1977) e Futuyma (1992), populações de uma mesma espécie podem apresentar características genéticas distintas, apesar das similaridades morfológicas externas, constituindo as denominadas espécies crípticas. Investigações cromossômicas em espécies de pequenos mamíferos têm contribuído para o entendimento de sua sistemática, principalmente quando combinadas com análises morfológicas e moleculares, e este tipo de análise já possibilitou a identificação de um grande número de citótipos, que podem estar associados à existência de espécies até então desconhecidas, como no caso de várias espécies de roedores (Bonvicino & Weksler, 1998; da Silva, 1998; Musser et al., 1998; Weksler et al., 2001; Oliveira & Bonvicino, 2002; Bonvicino et al., 2003a; b; Ventura et al., 2004).

Entre os marsupiais, o número diplóide varia de 10 a 32 cromossomos (Hayman, 1990), porém entre os sul-americanos, a família Didelphidae, que possui aproximadamente 40 espécies analisadas citogeneticamente, apresenta apenas três números diplóides: 2n=14, 18 e 22 cromossomos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Formas cromossômicas descritas para espécies da família Didelphidae, compiladas da literatura (atualizado de Carvalho *et al.*, 2002) (2n=número diplóide; NF=número de braços autossômicos; RON=região organizadora do nucléolo; p=braço curto; q=braço longo; XY=cromossomos sexuais; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; a=acrocêntrico; P=puntiforme). (\*)Informações não determinadas nos trabalhos.

| Espécie                  | NF | RON         | X  | Y  | Local de Coleta   | Referência                    |
|--------------------------|----|-------------|----|----|---|-------------------------------|
| Caluromys lanatus        | 24 | 5p          | sm | Р  | Rio Aripuanã (AM)   | Souza <i>et al.</i> (2009)    |
| Caluromys philander      | 24 | 5р          | sm | Р  | Manaus (AM)   | Souza <i>et al.</i> (2009)    |
| Caluromys lanatus        | 24 | 6р          | sm | Р  | Luziânia (GO)   | Pereira et al. (2008)         |
| Caluromys philander      | 24 | 6р          | a  | Р  | Biritiba-Mirim (SP)   | Pereira et al. (2008)         |
| Gracilinanus emiliae     | 24 | 6р          | sm | a  | Luziânia (GO)   | Pereira et al. (2008)         |
| Gracilinanus emiliae     | 24 | 6р          | m  | a  | Serra da Mesa (GO); Ipameri (GO)                              | Carvalho et al. (2002)        |
| Gracilinanus emiliae     | 24 | 6р          | a  | a  | Serra da Mesa (GO)  | Carvalho et al. (2002)        |
| Gracilinanus microtarsus | 24 | 6р          | sm | a  | Tainhas (RS); Charqueadas (RS); Mostardas (RS)                | Carvalho et al. (2002)        |
| Gracilinanus microtarsus | 24 | *           | m  | -  | Biritiba-Mirim (SP)   | Pereira et al. (2008)         |
| Gracilinanus agilis      | 24 | 6р          | m  | a  | Mambaí (GO); Lagoa Santa (MG)                                 | Carvalho et al. (2002)        |
| Gracilinanus agilis      | 24 | 6р          | sm | sm | La Paz, Bolívia   | Carvalho et al. (2002)        |
| Marmosa murina           | 24 | 6р          | m  | a  | Serra da Mesa (GO)  | Palma & Yates (1996)          |
| Marmosa murina           | 24 | *           | a  | а  | Tartarugalzinho (AP); Porto Nacional (TO); Serra da Mesa (GO) | Carvalho et al. (2002)        |
| Marmosa murina           | 22 | 5p e 6q     | sm | Р  | UHE Balbina (AM)  | Faresin-Silva (2008)          |
| Marmosa murina           | 20 | 3p, 5p e 6q | a  | Р  | Pernambuco  | Souza <i>et al.</i> (1990)    |
| Marmosa murina           | 20 | 6р          | sm | a  | Luziânia (GO)   | Pereira et al. (2008)         |
| Marmosa murina           | 20 | *           | sm | a  | UHE Peixe Angical (TO)  | Pereira et al. (2008)         |
| Marmosa murina           | *  | *           | *  | *  | Pacoti (CE)   | Pagnozzi et al. (2002)        |
| Marmosa murina           | *  | *           | *  | *  | Vila Rica (MT)  | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002) |
| Marmosops impavidus      | 24 | *           | m  | a  | Igarapé Porongaba (AM)  | Patton <i>et al.</i> (2000)   |
| Marmosops incanus        | 24 | 6р          | m  | a  | Pau-Brasil (BA); Sta. Bárbara (MG)                            | Carvalho et al. (2002)        |

Tabela 1. Continuação.

| Espécie                 | NF | RON      | X  | Y | Local de Coleta           | Referência                        |
|-------------------------|----|----------|----|---|---------------------------|-----------------------------------|
| Marmosops incanus       | *  | *        | *  | * | Una (BA)                  | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Marmosops incanus       | *  | *        | *  | * | Pilar do Sul (SP)         | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Marmosops incanus       | 20 | *        | а  | - | *                         | Svartman & Vianna-Morgante (1999) |
| Marmosops neblina       | 24 | *        | m  | а | Barro Vermelho (AM)       | Patton <i>et al.</i> (2000)       |
| Marmosops noctivagus    | 24 | *        | m  | m | Condor (AM)               | Patton <i>et al.</i> (2000)       |
| Marmosops paulensis     | 24 | 6р       | m  | а | Biritiba-Mirim (SP)       | Pereira et al. (2008)             |
| Marmosops parvidens     | 24 | 6р       | sm | а | Serra da Mesa (GO)        | Carvalho et al. (2002)            |
| Marmosops parvidens     | 24 | *        | sm | - | La Paz, Bolívia           | Palma & Yates (1996)              |
| Marmosops parvidens     | *  | *        | *  | * | Apiacás (MT)              | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Marmosops parvidens     | *  | *        | *  | * | Aripuanã (MT)             | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Metachirus nudicaudatus | *  | *        | *  | * | Apiacás (MT)              | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Metachirus nudicaudatus | *  | *        | *  | * | Cláudia (MT)              | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Metachirus nudicaudatus | 20 | 6р       | а  | - | PESM (Caraguatatuba, SP)  | Pereira <i>et al.</i> (2008)      |
| Micoureus demerarae     | 20 | 6р       | а  | - | Biritiba-Mirim (SP)       | Pereira <i>et al.</i> (2008)      |
| Micoureus demerarae     | 24 | 5pq e 6p | а  | а | Maquiné (RS); Osório (RS) | Carvalho et al. (2002)            |
| Micoureus demerarae     | 24 | 5q e 6p  | а  | а | Serra da Mesa (GO)        | Carvalho et al. (2002)            |
| Micoureus demerarae     | 20 | *        | а  | - | La Paz, Bolívia           | Palma & Yates (1996)              |
| Micoureus demerarae     | 20 | 5p e 6q  | а  | a | Pernambuco                | Souza et al. (1990)               |
| Micoureus demerarae     | 20 | *        | а  | - | *                         | Svartman & Vianna-Morgante (1999) |
| Micoureus demerarae     | 20 | 5q e 6p  | а  | a | Amazônia                  | Casartelli et al. (1986)          |

Tabela 1. Continuação.

|   | Espécie                | NF | RON      | x  | Y | Local de Coleta                      | Referência                    |
|---|------------------------|----|----------|----|---|--------------------------------------|-------------------------------|
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Aripuanã (MT)                        | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | a  | а | Cláudia (MT)                         | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Graúcha do Norte (MT)                | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
| 4 | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Pacoti (CE)                          | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | São Domingos (GO)                    | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
| 7 | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Vila Rica (MT)                       | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Una (BA)                             | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | *  | *        | а  | а | Santa Rita do Passa Quatro (SP)      | Pagnozzi <i>et al.</i> (2000) |
|   | Micoureus demerarae    | 20 | 5q e 6p  | а  | а | Rio Cuieiras (AM); REMAN-Manaus (AM) | Faresin-Silva (2008)          |
|   | Micoureus paraguayanus | 20 | 5pq e 6p | а  | - | PESM (Caraguatatuba, SP)             | Pereira et al. (2008)         |
|   | Thylamys velutinus     | 24 | *        | sm | а | Serra da Mesa (GO)                   | Carvalho <i>et al.</i> (2002) |

Tabela 1. Continuação

| Espécie                  | FN | NOR          | x | Y | Local de Coleta  | Referência                       |
|--------------------------|----|--------------|---|---|--|----------------------------------|
| Chironectes minimus      | 20 | 5p           | а | - | lpameri (GO)   | Carvalho <i>et al</i> . (2002)   |
| Chironectes minimus      | 20 | *            | а | - | La Paz, Bolívia  | Palma & Yates (1996)             |
| Lutreolina crassicaudata | *  | *            | * | * | Parque Nacional das Emas (GO)                          | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)    |
| Lutreolina crassicaudata | 20 | 5p e 7q      | m | а | Guaíba (RS)  | Carvalho et al. (2002)           |
| Lutreolina crassicaudata | 20 | *            | m | а | La Paz, Bolívia  | Palma & Yates (1996)             |
| Lutreolina crassicaudata | 20 | 5p e 7q      | m | а | Uruguai  | Seluja <i>et al</i> (1984)       |
| Lutreolina crassicaudata | 20 | *            | m | a | São Paulo  | Yonenaga-Yassuda et al. (1982)   |
| Didelphis albiventris    | 20 | 4q e 5q      | а | а | Porto Nacional (TO); Serra da Mesa (GO); Ipameri (GO)  | Carvalho et al. (2002)           |
| Didelphis albiventris    | 20 | *            | а | a | Tarija, Bolívia  | Palma & Yates (1996)             |
| Didelphis albiventris    | 20 | 4q, 5q e 6q  | а | а | Uruguai  | Seluja <i>et al.</i> (1984)      |
| Didelphis albiventris    | 20 | *            | а | а | São Paulo  | Yonenaga-Yassuda et al. (1982)   |
| Didelphis aurita         | 20 | *            | а | а | Pau-Brasil (BA)  | Carvalho et al. (2002)           |
| Didelphis aurita         | 20 | *            | а | а | ?  | Perondini & Perondini (1965)     |
| Didelphis marsupialis    | 20 | *            | а | а | Rio Juruá (AM)   | Patton et al. (2000)             |
| Didelphis marsupialis    | 20 | *            | а | - | UHE Peixe Angical (TO)                                 | Pereira et al. (2008)            |
| Didelphis marsupialis    | *  | *            | * | * | Apiacás (MT)   | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)    |
| Didelphis marsupialis    | 20 | *            | а | а | Surumú (RR); Tartarugalzinho (AP)                      | Carvalho et al. (2002)           |
| Didelphis marsupialis    | 20 | 5q, 7pq e 8q | а | а | São Paulo  | Yonenaga-Yassuda et al. (1982)   |
| Didelphis marsupialis    | 20 | *            | а | а | São Paulo; Amazônia                                    | Casartelli <i>et al</i> . (1986) |
| Didelphis marsupialis    | 20 | 5q, 7pq e 8q | а | a | UHE Balbina (AM); Rio Cuieiras (AM); REMAN-Manaus (AM) | Faresin-Silva (2008)             |

Tabela 1. Continuação

| Espécie              | FN | NOR     | x | Y | Local de Coleta                                  | Referência                        |
|----------------------|----|---------|---|---|--|-----------------------------------|
| Philander opossum    | 20 | 5p e 7q | а | а | Serra da Mesa (GO)                               | Carvalho et al. (2002)            |
| Philander opossum    | 20 |         | а | а | Bolívia  | Palma & Yates (1996)              |
| Philander opossum    | 20 | 5p e 7q | a | а | São Paulo  | Yonenaga-Yassuda et al. (1982)    |
| Philander opossum    | 20 |         | а | а | Nicarágua  | Biggers et al. (1965)             |
| Philander opossum    | 20 | 5p e 7q | а | а | PEAMP (GO)                                       | Pereira et al. (2008)             |
| Philander opossum    | 20 |         | а | - | ?  | Svartman & Vianna-Morgante (1999) |
| Philander opossum    | 20 |         | а | а | Altamira (AM)                                    | Patton et al. (2000)              |
| Philander mcilhennyi | 20 |         | а | а | Rio Juruá (AM)                                   | Patton et al. (2000)              |
| Philander frenata    | 20 | 5p e 7q | а | а | Serra da Cantareira (SP)                         | Pereira et al. (2008)             |
| Philander frenata    | 20 | 5p e 7q | а | а | Doutor Pedrinho (SC); Aratinga (RS); Osório (RS) | Carvalho et al. (2002)            |
| Philander frenata    | 20 | 5p e 7q | а | m | Sapiranga (RS)                                   | Carvalho et al. (2002)            |
| Philander sp.        | 20 | 5p e 7q | а | а | Boracéia (SP)                                    | Pereira et al. (2008)             |

Tabela 1. Continuação

| Espécie                  | NF | RON        | х  | Y  | Local de Coleta                       | Referência                        |
|--------------------------|----|------------|----|----|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Monodelphis americana    | 32 | *          | а  | -  | Biritiba-Mirim (SP)                   | Pereira <i>et al.</i> (2008)      |
| Monodelphis americana    | *  | *          | *  | *  | Pacoti (CE)                           | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Monodelphis brevicaudata | 22 | *          | а  | Р  | Panda, Bolívia                        | Palma & Yates (1996)              |
| Monodelphis dimidiata    | 32 | 5р         | sm | Р  | Terra da Areia (RS); Charqueadas (RS) | Carvalho <i>et al.</i> (2002)     |
| Monodelphis dimidiata    | 30 | *          | а  | а  | Buenos Aires, Argentina               | Reig <i>et al</i> . (1977)        |
| Monodelphis domestica    | 28 | Хр         | а  | Р  | Serra da Mesa (GO); Ipameri (GO)      | Carvalho et al. (2002)            |
| Monodelphis domestica    | 24 | *          | а  | а  | Santa Cruz, Bolívia                   | Palma & Yates (1996)              |
| Monodelphis domestica    | 30 | 5p e Xp/Xp | а  | m  | Brasil                                | Merry <i>et al.</i> (1983)        |
| Monodelphis domestica    | 30 | 5p e Xp    | а  | а  | Brasil                                | Pathak <i>et al.</i> (1993)       |
| Monodelphis domestica    | 20 | *          | а  | -  | *                                     | Svartman & Vianna-Morgante (1999) |
| Monodelphis domestica    | 20 | 5p e Xp    | а  | Р  | *                                     | Svartman & Vianna-Morgante (2003) |
| Monodelphis domestica    | *  | *          | *  | *  | Pacoti (CE)                           | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Monodelphis domestica    | *  | *          | *  | *  | Parque Nacional das Emas (GO)         | Pagnozzi <i>et al.</i> (2002)     |
| Monodelphis domestica    | 20 | *          | а  | a  | Luziânia (GO)                         | Pereira <i>et al.</i> (2008)      |
| Monodelphis domestica    | 20 | *          | а  | -  | UHE Peixe Angical (TO)                | Pereira <i>et al.</i> (2008)      |
| Monodelphis emiliae      | 30 | *          | sm | a  | Amazônia, Brasil                      | Patton <i>et al.</i> (2000)       |
| Monodelphis rubida       | 32 | 5p         | а  | а  | Biritiba-Mirim (SP)                   | Pereira et al. (2008)             |
| Monodelphis kunsi        | 30 | 5р         | sm | а  | Serra da Mesa (GO)                    | Carvalho et al. (2002)            |
| Monodelphis kunsi        | 30 | *          | sm | sm | Tarija, Bolívia                       | Palma & Yates (1996)              |

Embora, do ponto de vista citogenético os marsupiais sejam considerados um grupo conservado com número diplóide estável, à medida que novas populações de marsupiais neotropicais são analisadas, uma grande variabilidade de fórmulas cromossômicas, padrões de bandeamento e morfologia dos cromossomos sexuais é detectada. Por exemplo, no que se refere às espécies de marsupiais com 2n=14, que incluem o gênero *Metachirus* e várias cuícas pequenas ou catitas, Carvalho *et al.* (2002) detectaram diferentes citótipos para as espécies *Gracilinanus agilis* e *Gracilinanus emiliae* capturados em diferentes localidades no Brasil e na Bolívia. Estes variaram entre si quanto à morfologia dos cromossomos sexuais.

Diferentes citótipos, que variaram entre si em relação ao número fundamental (NF), posição das regiões organizadoras do nucléolo (RON) e morfologia dos cromossomos sexuais foram verificados para *Marmosa murina*, (coletados nos estados do Amapá, Goiás e Tocantins) e para *Marmosops incanus* e *Micoureus demerarae* de várias localidades do Brasil (Rio Grande do Sul, Goiás, Pernambuco e Amazonas) e da Bolívia (Casartelli *et al.*, 1986; Souza *et al.*, 1990; Palma & Yates, 1996; Svartman & Vianna-Morgante, 1999; Carvalho *et al.*, 2002). Recentemente, Faresin-Silva (2008) observou a ocorrência de uma inversão pericêntrica no 6º par cromossômico de indivíduos de *Marmosa murina* da UHE de Balbina, Amazonas por meio de bandeamento C e Ag-RON (Tabela 1).

Para espécies com 2n=18 cromossomos, pertencentes ao gênero *Monodelphis*, as variações são ainda maiores. Reig *et al.* (1977) e Carvalho *et al.* (2002) descreveram dois citótipos, diferentes em relação ao número fundamental e à morfologia dos cromossomos sexuais para a espécie *Monodelphis dimidiata* da Argentina e do Rio Grande do Sul. Merry *et al.* (1983), Pathak *et al.* (1993), Palma & Yates (1996), Carvalho *et al.* (2002), Svartman & Vianna-Morgante (1999) e (2003) somam cinco diferentes citótipos para *Monodelphis domestica*, com números fundamentais variando entre 20 e 30 e diferentes morfologias dos cromossomos sexuais (Tabela 1). Entretanto, grande parte desta variabilidade pode estar relacionada à maneira como diferentes autores optaram por contar os braços cromossômicos e mesmo classificar os cromossomos. As RONs também foram variáveis, mas segundo Yonenaga-Yassuda *et al.* (1982) e Svartman & Vianna-Morgante (2003) a

evidência dessas regiões pela impregnação com nitrato de prata pode variar devido ao tecido de origem, idade do animal ou mesmo por nível de atividade em diferentes células do mesmo indivíduo, e não necessariamente devido a diferenças interespecíficas.

Para as espécies com 2n=22 cromossomos, não foi encontrada variabilidade intra-específica quanto à morfologia cromossômica nas espécies: Lutreolina crassicaudata, Chironectes minimus, Didelphis aurita, Didelphis albiventris, Didelphis marsupialis, Philander opossum e Philander frenata. Isto pode sugerir uma maior estabilidade macrocromossômica. Entretanto, os cariótipos diferem em relação à quantidade de heterocromatina constitutiva pericentromérica e no número e distribuição das regiões organizadora do nucléolo (Biggers et al., 1965; Perondini & Perondini, 1965; Yonenaga-Yassuda et al., 1982; Seluja et al., 1984; Casartelli et al., 1986; Palma & Yates, 1996; Carvalho et al., 2002). Segundo Svartman & Vianna-Morgante (1999), Philander opossum possui heterocromatina pericentromérica em todos os autossomos, enquanto em Didelphis marsupialis os blocos heterocromáticos são difusos na porção distal dos braços longos de alguns cromossomos. Quanto à região organizadora de nucléolo, a variação foi de uma a nove marcações em D. marsupialis (Yonenaga-Yassuda et al., 1982). Com a aplicação dos bandeamentos cromossômicos, a variabilidade cromossômica fica mais evidente nos marsupiais, tanto em relação à localização/posição da RON como em relação ao padrão da heterocromatina constitutiva e isto é válido para espécies dos três grupos cromossômicos (2n=14, 2n=18 e 2n=22) encontrados em Didelphidae.

Tal fato reforça a importância dos estudos de caracterização cromossômica dos marsupiais amazônicos, para os quais poucas espécies foram cariotipadas e praticamente não existem estudos de variação geográfica intra-específica. Ainda, os limites taxonômicos entre espécies congenéricas são pobremente definidos, com vários "complexos de espécies" reconhecidos (Mustrangi & Patton 1997; Patton *et al.*, 2000; Voss *et al.*, 2004).

Segundo Zima (2000), estudos cromossômicos são importantes ferramentas para registrar e descrever a diversidade biológica e, frequentemente, representam um método simples e indispensável na identificação de vários táxons. Portanto, este trabalho teve como proposta

avaliar a diversidade cariotípica de espécies de marsupiais pertencentes aos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis*, em cinco localidades amazônicas.

#### 1.2 Objetivos

#### 1.2.1 Objetivo Geral

Caracterizar, cromossomicamente, espécies de dois gêneros de marsupiais: *Marmosops* e *Monodelphis*, coletadas em cinco locais da Amazônia brasileira: médio rio Madeira, médio rio Aripuanã, Monte Dourado – rio Jari, arredores da comunidade Botafogo – rio Juruá e Parque Estadual do Rio Negro Setor Sul (PAREST) – rio Cuieiras.

#### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Apresentar o cariótipo de espécies de marsupiais dos gêneros Marmosops e Monodelphis, coletadas em cinco localidades da Amazônia brasileira.
- Estabelecer os padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva (banda C), das regiões organizadoras do nucléolo (RONs) e de regiões de replicação tardia/precoce (banda G) em cromossomos mitóticos dos indivíduos coletados, para a detecção de possíveis polimorfismos e/ou variabilidade cromossômica.
- Comparar os resultados encontrados com dados citogenéticos existentes para esses táxons, provenientes de outras áreas.

#### 2. Material e Métodos

#### 2.1 Localidades amostradas

O mapa com as regiões amostradas pode ser visto na Figura 1.

O vale do rio Madeira engloba aproximadamente 1,4 milhões de quilômetros quadrados, cobrindo cerca de 20% da bacia amazônica. O rio Madeira nasce na Bolívia cerca de 3.300 quilômetros da sua desembocadura no rio Amazonas, e o rio Aripuanã é o seu último grande afluente, que desemboca em sua porção médio-inferior, a aproximadamente 400 quilômetros de sua foz (Rapp-Py-Daniel *et al.*, 2007). Na maior parte da bacia em solo brasileiro, trecho médio e inferior, este rio corre em um vale aluvial, sujeito a inundações temporárias. A flutuação do nível das águas nesta parte do rio Madeira pode chegar a pouco mais de 10 metros e boa parte dela é causada pelo barramento do rio Amazonas, concorrendo para uma marcada sazonalidade neste trecho. Este rio tem sido apontado como importante divisor faunístico das regiões oeste e leste da Amazônia, desde os estudos de Wallace (1852) com primatas.

A região do Vale do Jarí ocupa uma área de 17 mil quilômetros quadrados, pertencentes à segunda maior empresa de silvicultura do país, a Jarí Celulose S.A. Esta região, localizada a nordeste da bacia amazônica, abrange os estados do Pará (55%) e do Amapá (45%), sendo cortada pelo rio Jarí. A extensão e o acesso às áreas da empresa oferecem um mosaico de ambientes naturais e antropogênicos, o que permite avaliar os efeitos desse cenário sobre a biodiversidade da região (Leite, 2006).

O rio Juruá estende-se cerca de 1.000 km desde sua cabeceira no Peru até sua foz no rio Solimões-Amazonas, no território brasileiro. Sua bacia, identificada como zona de contato da avifauna (Haffer, 1974) e zona presuntiva de rápida transição ambiental (Brown, 1982; Endler, 1982), pode representar uma barreira para a distribuição de aves (Haffer, 1974; 1978; Cracraft, 1985), de lagartos (Ávila-Pires, 1995) e de algumas espécies de primatas (Hershkovitz, 1977), desempenhando um importante papel na diversificação biológica da região. Patton *et al.* (2000) compararam a comunidade de pequenos mamíferos do rio Juruá com outros 14 sítios e estabeleceram dois grupos geográficos delimitados por um eixo norte-sul que está representado

pelos rios Madeira ao sul do eixo Solimões-Amazonas e o rio Negro ao norte, conforme sugerido por Wallace (1852) ao observar as comunidades de primatas na Amazônia.

O Parque Estadual do Rio Negro Setor Sul foi formado a partir do Decreto Estadual 16.497/1995, gerido pelo IPAAM (Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas), e ocupa uma área de 257.422 hectares na margem esquerda do baixo rio Negro, nos municípios de Manaus e Novo Airão (02°47' S, 60°27' W). É uma região de relevo acidentado, possuindo uma grande quantidade de árvores derrubadas, vegetação com árvores de grande porte e aglomeração de palmeiras.

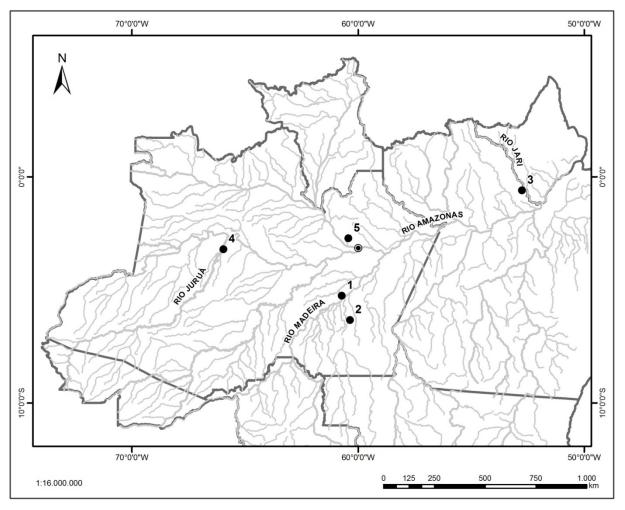


Figura 1. Mapa da região amazônica com as localidades de coleta: (1) Rio Madeira; (2) Rio Aripuanã; (3) Vale do Rio Jari; (4) Vale do Rio Juruá; (5) Rio Cuieiras; (⊙)Manaus.

#### 2.2 Coleta de Material

O procedimento para a coleta dos marsupiais consistiu em abrir transectos nas áreas amostrais, instalando duas armadilhas "live trap" por estação, uma da marca Tomahawk (14x14x40cm) e outra da marca Sherman (8x8x23cm) a cada 20 metros, de modo que cada estação continha instalada uma armadilha no sub-bosque em cipó ou outro substrato que mantenha conexão com o dossel, e uma no chão, freqüentemente ao longo de tronco caído de uma árvore. Cada transecto foi composto de aproximadamente 2 km de extensão e 80 armadilhas distribuídas em 40 estações, dependendo da extensão da área amostrada. As armadilhas permaneceram ativas por um período de 10 noites e vistoriadas a cada dia, no período matutino. As iscas, compostas por fatias de banana e pasta de amendoim torrado e moído, foram substituídas a cada dois dias ou de acordo com a necessidade.

Os espécimes analisados no presente estudo, 16 exemplares de Marmosops sp. e nove exemplares de Monodelphis spp. (Tabela 2), foram coletados (IBAMA Licença no. 10985-1) no âmbito de colaborações estabelecidas com os seguintes projetos: "Inventário Faunístico do Médio rio Madeira" - CNPg-PROBIO, convênio 2515.00/02, para as localidades dos rios Madeira (05° 14′ 46′′ S, 60° 42′ 50′′ W) e Aripuanã (06° 19′ 33′′ S, 60° 20′ 47" W), sul do estado do Amazonas; "Sistemática, genética e ecologia de pequenos mamíferos do Vale do rio Jari, Pará e Amapá" CNPq 480908/04 – 4, para a localidade do Vale do rio Jari (00° 35′ 27.94′′ S, 52° 44′ 9.248′′ W), norte da calha do rio Amazonas, na área de fronteira com o estado do Amapá; "Plano de gestão da RESEX Baixo Juruá" (IBAMA/MMA), para os pontos de coleta localizados no Vale do rio Juruá (03º 11' 33" S, 65º 57' 03" W); e o projeto de elaboração do plano de manejo no Parque Estadual do Rio Negro Região Sul, às margens do rio Cuieiras (02º 42' 31" S, 60º 25' 11" W), um afluente do rio Negro, aproximadamente 70 km a norte do município de Manaus, financiado pelo Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ) (Figura 1). Estas coletas ocorreram nos anos de 2005 e 2007.

Os indivíduos foram sacrificados de modo a permitir a coleta de material celular para estudos cromossômicos, de tecidos para futuras análises moleculares e procedimentos de preparação dos exemplares para coleção zoológica (taxidermia ou fixação da carcaça em formol 10% e preservação em

álcool 70%). Cada espécime teve seus dados de idade, sexo, condição reprodutiva, peso, medidas externas (comprimento do corpo, comprimento da cauda, comprimento da pata traseira e comprimento da orelha), localidade, ambiente e condições climáticas anotados em fichas de campo padronizadas pela Curadoria da Coleção de Mamíferos do INPA. Números de série "EE" são as iniciais de campo de Eduardo Eler (coletor). As fichas de campo e todos os espécimes analisados no âmbito do presente estudo estão tombados na Coleção de Mamíferos do INPA, exceto exemplares da série EE, que ainda serão tombados nessa mesma Coleção.

**Tabela 2.** Lista dos indivíduos analisados no presente trabalho, com seu respectivo número de registro, sexo, locais e data de coleta. (\*) Indica indivíduos que não apresentaram resultados cromossômicos satisfatórios.

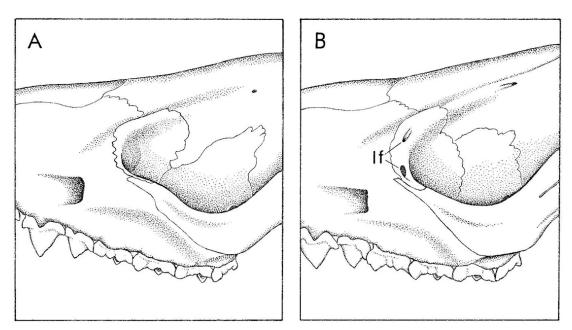
| Espécie          | Registro  | Sexo  | Local de Coleta                 | Data de Coleta | Coordenadas                          |
|------------------|-----------|-------|---------------------------------|----------------|--------------------------------------|
| Marmosops sp.    | INPA 5377 | fêmea | Margem esquerda do rio Madeira  | 20/04/2005     | 05º 14′ 46′′ S, 60º 42′ 50′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5378 | macho | Margem esquerda do rio Madeira  | 20/04/2005     | 05º 14´ 46´´ S, 60º 42´ 50´´ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5380 | Fêmea | Margem esquerda do rio Madeira  | 21/04/2005     | 05º 14′ 46′′ S, 60º 42′ 50′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5381 | Fêmea | Margem esquerda do rio Madeira  | 21/04/2005     | 05º 14´ 46´´ S, 60º 42´ 50´´ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5389 | Macho | Margem esquerda do rio Madeira  | 22/04/2005     | 05º 14′ 46′′ S, 60º 42′ 50′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5399 | Fêmea | Margem direita do rio Aripuanã  | 27/04/2005     | 06º 19′ 33′′ S, 60º 20′ 47′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5408 | Fêmea | Margem direita do rio Aripuanã  | 27/04/2005     | 06º 19′ 33′′ S, 60º 20′ 47′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5411 | Macho | Margem direita do rio Aripuanã  | 28/04/2005     | 06º 19′ 33′′ S, 60º 20′ 47′′ W       |
| Marmosops sp.    | INPA 5235 | Fêmea | Jari / Monte Dourado            | 21/06/2005     | 00º 35´ 27.94´´ S, 52º 44´ 9.248´´ W |
| Marmosops sp.    | INPA 5086 | Fêmea | Jari / Monte Dourado            | 05/07/2005     | 00º 42´ 42.65´´ S, 52º 40´ 0.861´´ W |
| Marmosops sp.    | EE 107    | Macho | Comunidade Botafogo / Juruá     | 22/11/2005     | 03º 11′ 33′′ S, 65º 57′ 03′′ W       |
| Marmosops sp.    | EE 192    | Macho | Cuieiras                        | 04/02/2007     | 02º 42′ 31′′ S, 60º 25′ 11′′ W       |
| Marmosops sp.    | EE 198    | Fêmea | Cuieiras                        | 07/02/2007     | 02º 42′ 31′′ S, 60º 25′ 11′′ W       |
| Marmosops sp.    | EE 201    | Macho | Cuieiras                        | 07/02/2007     | 02º 42′ 31′′ S, 60º 25′ 11′′ W       |
| Marmosops sp.    | EE 211    | Fêmea | Cuieiras                        | 08/02/2007     | 02º 43′ 27′′ S, 60º 24′ 22′′ W       |
| Marmosops sp.    | EE 216    | Macho | Cuieiras                        | 11/02/2007     | 02º 43´ 27´´ S, 60º 24´ 22´´ W       |
| Monodelphis sp.  | INPA 5388 | Macho | Margem esquerda do rio Madeira  | 22/04/2005     | 05º 14′ 46′′ S, 60º 42′ 50′′ W       |
| Monodelphis sp.  | INPA 5404 | Fêmea | Margem direita do rio Aripuanã  | 27/04/2005     | 06º 19′ 33′′ S, 60º 20′ 47′′ W       |
| Monodelphis sp.  | INPA 5215 | Fêmea | Margem esquerda do rio Aripuanã | 20/05/2005     | 06º 17′ 44′′ S, 60º 23′ 33′′ W       |
| Monodelphis sp.  | INPA 5213 | Macho | Jari / Monte Dourado            | 20/05/2005     | 00º 41´ 25.94´´ S, 52º 49´ 9.216´´ W |
| Monodelphis sp.  | INPA 5216 | Macho | Jari / Monte Dourado            | 23/05/2005     | 00º 41′ 45.29′′ S, 52º 48′ 32.29′′ W |
| Monodelphis sp.  | INPA 5084 | Macho | Jari / Monte Dourado            | 05/07/2005     | 00º 41′ 45.29′′ S, 52º 48′ 32.29′′ W |
| Monodelphis sp.* | EE 117    | Macho | Comunidade Botafogo / Juruá     | 24/11/2005     | 03º 11′ 33′′ S, 65º 57′ 03′′ W       |
| Monodelphis sp.* | EE 122    | Macho | Comunidade Botafogo / Juruá     | 26/11/2005     | 03º 11´ 33´´ S, 65º 57´ 03´´ W       |
| Monodelphis sp.* | EE 123    | Macho | Comunidade Botafogo / Juruá     | 26/11/2005     | 03º 11′ 33′′ S, 65º 57′ 03′′ W       |

#### 2.3 Caracterização morfológica

Α caracterização morfológica dos exemplares analisados citogeneticamente foi realizada a partir de comparação dos exemplares disponíveis para estudo com as descrições de Pine (1981), Pine & Handley (1984), Emmons & Feer (1997), Mustrangi & Patton (1997), Voss et al. (2001), Voss et al. (2004), da Silva et al. (2007) e Gardner & Creighton (2007). Para separação das espécies do gênero Marmosops os principais caracteres utilizados foram: tamanho do animal, tipo de pelagem (longa ou curta, lisa ou lanosa), coloração dorsal, coloração ventral, coloração da cauda, presença e extensão das faixas cinzentas laterais na região ventral (Figura 2), presença ou ausência das cúspides acessórias nos caninos superiores, e presença ou ausência de aberturas laterais dos forâmens lacrimais em vista lateral do crânio (Figura 3). Para separação das espécies de Monodelphis sp., os principais caracteres foram: coloração dorsal, coloração ventral, tamanho do animal, presença ou ausência de faixas dorsais de coloração escura (Figura 4), presença ou ausência de faixas laterais de coloração intermediária, coloração das patas, presença ou ausência e extensão da área coberta por pelos nas patas, presença ou ausência e extensão da área coberta por pelos na cauda (Figura 5) e perfil lateral do crânio inclinado ou não anteriormente para baixo.



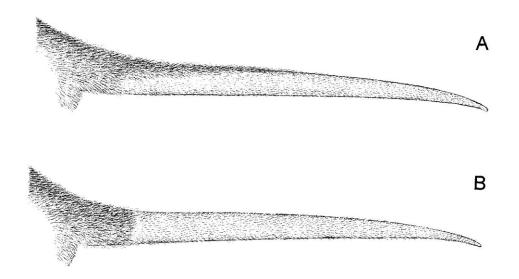
**Figura 2.** Coloração ventral dos exemplares de *Marmosops* sp. analisados no presente trabalho.



**Figura 3.** Detalhe da região orbital de *Marmosops parvidens* (A) e *Marmosops pinheiroi* (B), demonstrando as aberturas laterais no forâmen lacrimal, expostas lateralmente em *M. pinheiroi* (Retirado de Voss *et al.*, 2001).



**Figura 4.** Coloração dorsal (esquerda) e ventral (direita) nos exemplares de *Monodelphis* spp. analisados.



**Figura 5.** Distribuição da pelagem na cauda de *Monodelphis brevicaudata* (A) e *Monodelphis palliolata* (B). Em *M. brevicaudata* os pêlos se estendem até um terço do dorso da cauda e somente na base ventralmente. Em *M. palliolata* a pelagem se distribui igualmente no ventre e dorso, mas apenas na base da cauda (Retirado de Voss *et al.*, 2001).

#### 2.4 Métodos

#### 2.4.1 Obtenção dos cromossomos mitóticos

Os cromossomos mitóticos foram obtidos pelo método in vivo modificado de Ford & Hamerton (1956), utilizando-se colchicina diluída a uma concentração de 0,025% na proporção de 1 mL para cada 100 gramas de peso animal. Esta solução foi injetada intraperitonealmente no animal vivo, que foi colocado em descanso, por um período de quarenta a cinqüenta minutos. Após esse tempo, o animal foi anestesiado e morto por inalação de éter etílico. Em seguida os fêmures foram retirados e suas epífises foram cortadas para a extração da medula óssea. A medula foi lavada do interior da diáfise femoral, com o auxílio de uma seringa de 10 mL contendo solução hipotônica de cloreto de potássio (KCI) 0,075 M, para uma placa de Petri até a remoção total desse material, que foi então homogeneizado e colocado em banho-maria ou estufa a 37 °C por 20 minutos, para a hipotonização das células. A solução foi transferida para um tubo Falcon de 15 mL, adicionando 8 a 10 gotas de fixador Carnoy (metanol 3:1 ácido acético), sendo novamente homogeneizada. Esta solução foi centrifugada e o sobrenadante desprezado. Acrescentou-se 10 mL de fixador e a suspensão foi novamente ressuspendida e centrifugada por 10 minutos a 900 rpm. Esses passos foram repetidos mais duas vezes. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi descartado e fixador foi adicionado na proporção de 2:1 em relação à quantidade de sedimento. O material foi transferido para um tubo tipo Eppendorf devidamente identificado com o número do espécime e foi guardado em freezer (-10 °C) até a preparação das lâminas.

No laboratório, o material foi preparado pingando-se duas a três gotas da suspensão celular em uma lâmina de vidro limpa (aquecida em água destilada a 60 °C), a uma altura de 30-40 cm e deixada secar em temperatura ambiente. As lâminas foram coradas com solução de Giemsa, diluída a 5% em tampão fosfato pH 6,8, por 10 minutos, e posteriormente lavadas e deixadas secar novamente ao ar.

#### 2.4.2 Detecção da heterocromatina constitutiva - Banda C

Para as análises de bandeamento C foi utilizada a técnica descrita por Sumner (1972) com as seguintes adaptações: as lâminas foram tratadas com HCI 0,2N a 45 °C por 2 minutos, lavadas com água destilada e deixadas secar ao ar. Em seguida as lâminas foram incubadas em solução de hidróxido de bário octahidratado (Ba(OH)<sub>2</sub>.8H<sub>2</sub>O) a 5%, recém preparada e filtrada, por um período que variou de cinco segundos a um minuto em uma temperatura de 42 °C. ,. Após esse tratamento, as lâminas foram lavadas rapidamente em solução de HCI 0,2 N em temperatura ambiente e em água destilada, e novamente deixadas secar ao ar. Em seguida foram incubadas em solução 2XSSC (cloreto de sódio 0,3M e citrato trissódico 0,06M em pH 6,8) a 60 °C, por 15 minutos, lavadas e deixadas secar ao ar. Por fim foram coradas em Giemsa diluído a 2% em tampão fosfato pH 6,8, durante 20-30 minutos ou com Giemsa 5% por 5 a 10 minutos.

#### 2.4.3 Regiões Organizadoras de Nucléolo

Para evidenciar as Regiões Organizadoras de Nucléolo (RON) foi utilizada a técnica de impregnação por cristais de Prata (Ag-RON), descrita por Howell & Black (1980), com adaptações que consistiram em: pingar sobre a lâmina uma gota de solução aquosa de gelatina a 2% acrescida de ácido fórmico na proporção de 1mL/100mL de solução; adicionar sobre a gota de gelatina, duas gotas de solução aquosa de Nitrato de Prata (AgNO<sub>3</sub>) a 50%, agitando levemente a lâmina e cobrindo com lamínula; colocar a lâmina em câmara úmida e levar ao banho-maria ou estufa a 60 °C, por um período de dois a quatro minutos, ou até a lâmina apresentar uma coloração marromdourada; lavar as lâminas em água destilada, permitindo que a lamínula e o excesso de soluções sejam removidos e deixar secar ao ar. Para melhor visualização dos resultados, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa diluído a 2% em tampão fosfato pH 6,8, por 20-30 segundos, lavadas e deixadas secar ao ar.

#### 2.4.4 Banda G (GTG)

As regiões cromossômicas condensadas precocemente ou tardiamente durante a prófase foram evidenciadas pela técnica de bandeamento G segundo Gold *et al.* (1990) com modificações: as lâminas foram inicialmente pingadas e deixadas envelhecer em estufa a 37 °C por 24 horas, lavadas rapidamente em solução de ácido clorídrico 0,2 N e em seguida com água destilada. As lâminas foram então imersas em solução 2xSSC por 1 hora a 60 °C; em seguida, foram tratadas por 20 minutos numa solução de tripsina+Giemsa, numa concentração final de 0,03%. (0,025g de tripsina diluída em 1mL de água destilada; dessa solução foi aliquotado 1mL e diluído novamente em 2,5mL de água destilada, e da solução resultante foram aliquotados 2mL, diluídos em 0,7mL de Giemsa e 45 mL de tampão fosfato pH 6,8)Após esse procedimento, as lâminas foram lavadas e secas ao ar.

#### 2.4.5 Montagem dos Cariótipos

Para a determinação do número diplóide e a montagem dos cariótipos, as lâminas coradas com Giemsa foram analisadas em microscópio de luz na objetiva de imersão (aumento de 100x). As melhores metáfases foram fotografadas com câmera digital, e os cromossomos foram emparelhados e separados em quatro grupos: metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a), utilizando software de edição de imagens.

De cada cromossomo foram medidas ambas as cromátides, utilizando o programa Image J (http://rsb.info.nih.gov/ij), determinando-se o comprimento do braço maior (BM), do braço menor (Bm) e o comprimento médio total de cada cromossomo. A relação de braços (RB) foi determinada segundo a fórmula BM/Bm. Os cromossomos foram identificados segundo a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964) em: metacêntricos (m) (RB de 1,0 a 1,7); submetacêntricos (sm) (RB de 1,71 a 3,0); subtelocêntricos (st) (RB de 3,01 a 7,0); e acrocêntricos (a) (RB>7,0). Em mamíferos, a contagem dos braços cromossômicos é feita apenas dos autossomos e para isso, foram considerados os cromossomos dos grupos 'm-sm-st' como tendo dois braços, e os do grupo 'a' como tendo somente um braço. Embora na literatura os

cariótipos de mamíferos geralmente sejam montados em ordem decrescente de tamanho, para a montagem dos cariótipos no presente trabalho optou-se por separar os cromossomos em grupos, o que permite uma melhor identificação dos rearranjos ocorridos.

#### 3. Resultados

# 3.1 *Marmosops* sp.

Todos os indivíduos de *Marmosops* sp. analisados apresentaram número diplóide 2n=14 cromossomos e número fundamental NF=24. Dentre os autossomos, os três pares submetacêntricos foram os maiores do complemento, com um decréscimo gradual de tamanho. Entre os três pares de metacêntricos, um deles foi de tamanho médio, e os outros dois foram considerados pequenos, e de tamanho muito próximo. Os cromossomos sexuais são menores que todos os autossomos, sendo o X do tipo metacêntrico e o Y do tipo acrocêntrico (Figura 6a, d) (fórmula cariotípica: 6m+6sm+XX/XY).

A região organizadora de nucléolo foi detectada em posição terminal nos braços curtos dos cromossomos do terceiro par (par 6, em ordem decrescente de tamanho) para todos os indivíduos analisados (Figura 6b, e), mas quanto à distribuição da heterocromatina constitutiva, dois padrões foram encontrados (Figura 6c, f).

A obtenção de banda G só foi bem sucedida para um indivíduo e apenas possibilitou um correto pareamento dos homólogos (Figura 6g).

A Tabela 3 mostra o número de células analisadas para determinação do número diplóide, fórmula cariotípica, NF, posição das RONs, morfologia dos sexuais e o padrão de banda C de todos os indivíduos, separados por local de coleta.

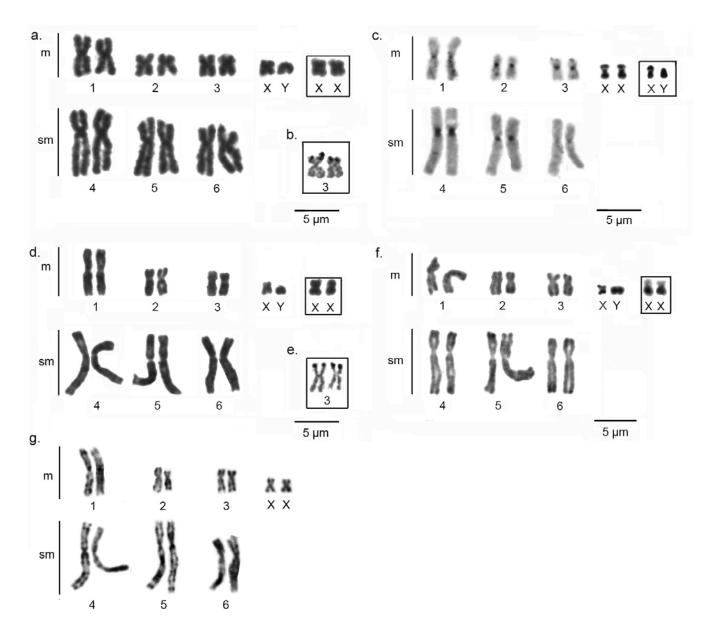
## 3.1.1 Marmosops sp. (padrão I de banda C)

O padrão I de distribuição de banda C consistiu em fortes marcações centroméricas nos pares autossômicos 1, 2, 3, 4 e 5 e marcação tênue nos centrômeros do par 6. As RONs, nesse caso, foram positivas para banda C, apesar da marcação não ter sido muito evidente em todas as preparações. O cromossomo X possui forte marcação em toda sua extensão, com exceção de uma faixa proximal no braço curto e o cromossomo Y mostrou-se inteiramente heterocromático (Figura 6c).

## 3.1.2 Marmosops sp. (padrão II de banda C)

O padrão II consistiu de marcações fracas nos telômeros de todos os autossomos. As RONs foram positivas para a banda C. O cromossomo X apresentou marcações fortes apenas nos braços longos e o cromossomo Y se apresentou totalmente heterocromático (Figura 6f). Embora a estrutura cromossômica, em coloração com Giemsa, tenha sido a mesma para todos os indivíduos, naqueles que apresentaram este padrão de banda C pode-se notar que os cromossomos sexuais se mostraram ligeiramente menores quando comparados aos cromossomos sexuais dos indivíduos que apresentaram padrão I.

Não foram observadas diferenças nos padrões de bandas G entre indivíduos de *Marmosops* (padrão I) e *Marmosops* (padrão II).



**Figura 6.** Cariótipo de *Marmosops* sp. (2n=14, NF=24) padrão I e II: (a,d) coloração convencional, (b, e) regiões organizadoras de nucléolo impregnadas por AgNO<sub>3</sub>, (c, f) padrões de heterocromatina constitutiva, (g) banda G. Em destaque os cromossomos sexuais do sexo oposto. a, b = INPA 5389; c = INPA 5408; d, e, f = EE 107; g = INPA 5380.

**Tabela 3.** Total de células analisadas por indivíduo, fórmula cariotípica, número fundamental, posição das regiões organizadoras de nucléolo, morfologia dos sexuais e padrão de banda C para cada indivíduo de *Marmosops* sp.

|                 | •             | Ŭ    |                    | •                     | •  |    |                 |    |    |         |                       |     |     |   |   |              |
|-----------------|---------------|------|--------------------|-----------------------|----|----|-----------------|----|----|---------|-----------------------|-----|-----|---|---|--------------|
| Local de coleta | Espécie       | Sexo | Número de<br>campo | de Número de Registro |    | 13 | <b>2n</b><br>14 | 15 | 16 | Total   | Fórmula cariotípica   | NF  | RON | х | Υ | Padrão<br>BC |
|                 | Marmosops sp. | 2    | MCA 03             | INPA 5377             | 3  | 3  | 30              | 0  | 0  | 36      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | I            |
| Madeira         | Marmosops sp. | 3    | MCA 04             | INPA 5378             | 3  | 5  | 25              | 0  | 0  | 33      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | II           |
| Mad             | Marmosops sp. | \$   | MCA 07             | INPA 5380             | 0  | 4  | 27              | 0  | 0  | 31      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | 1            |
| Rio I           | Marmosops sp. | \$   | MCA 08             | INPA 5381             | 4  | 2  | 26              | 0  | 0  | 32      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | П            |
| _               | Marmosops sp. | 3    | MCA 16             | INPA 5389             | 0  | 2  | 30              | 1  | 0  | 33      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | 1            |
|                 |               |      |                    |                       |    |    | 2n              |    |    | - Total | Fórmula cariotípica   | NF  | RON | Х | Υ | Padrão       |
|                 |               |      |                    |                       | 12 | 13 | 14              | 15 | 16 | iotai   | Torritula cariotipica | 141 | KON | ^ |   | ВС           |
| Rio<br>Aripuanã | Marmosops sp. | 2    | MCA 26             | INPA 5399             | 1  | 0  | 31              | 0  | 0  | 32      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | I            |
|                 | Marmosops sp. | 2    | MCA 35             | INPA 5408             | 1  | 0  | 31              | 0  | 0  | 32      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | I            |
|                 | Marmosops sp. | ₫    | MCA 38             | INPA 5411             | 1  | 3  | 26              | 0  | 0  | 30      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | 1            |
|                 |               |      |                    |                       |    |    | 2n              |    |    | - Total | Fórmula cariotípica   | NF  | RON | Х | Υ | Padrão       |
|                 |               |      |                    |                       | 12 | 13 | 14              | 15 | 16 |         |                       |     |     |   |   | ВС           |
| Jari            | Marmosops sp. | 2    | TAG 3459           | INPA 5235             | 0  | 6  | 25              | 0  | 0  | 31      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | II           |
| Rio             | Marmosops sp. | 2    | RNL 070            | INPA 5086             | 1  | 3  | 26              | 0  | 0  | 30      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | Ш            |
|                 |               |      |                    |                       |    |    | 2n              |    |    | - Total | Fórmula cariotípica   | NF  | RON | х | Υ | Padrão       |
|                 |               |      |                    |                       | 12 | 13 | 14              | 15 | 16 | TOLAI   | Formula cariotipica   |     | KON |   |   | ВС           |
| Rio<br>Juruá    | Marmosops sp. | 3    | EE 107             | -                     | 3  | 5  | 26              | 0  | 0  | 34      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | II           |
|                 |               |      |                    |                       |    |    | 2n              |    |    | - Total | Fórmula cariotípica   | NF  | RON | х | Υ | Padrão       |
|                 |               |      |                    |                       | 12 | 13 | 14              | 15 | 16 | iotai   | Formula cariotipica   |     | KON |   |   | ВС           |
| Rio Cuieiras    | Marmosops sp. | 8    | EE 192             | -                     | 2  | 3  | 24              | 1  | 0  | 30      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | 1            |
|                 | Marmosops sp. | \$   | EE 198             | -                     | 2  | 0  | 28              | 0  | 2  | 32      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | II           |
|                 | Marmosops sp. | 3    | EE 201             | -                     | 2  | 2  | 28              | 0  | 0  | 32      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | I            |
|                 | Marmosops sp. | \$   | EE 211             | -                     | 2  | 6  | 23              | 0  | 0  | 31      | 6sm+6m+XX             | 24  | 3р  | m | - | Ш            |
| <u> </u>        |               |      |                    |                       |    |    |                 |    |    |         |                       |     |     |   |   |              |
| Œ               | Marmosops sp. | 3    | EE 216             | -                     | 2  | 3  | 25              | 0  | 0  | 30      | 6sm+6m+XY             | 24  | 3р  | m | а | I            |

## 3.1 Monodelphis spp.

Todos os indivíduos de *Monodelphis* spp. apresentaram número diplóide igual a 18 cromossomos. Entretanto, três estruturas cariotípicas foram evidenciadas, o que caracterizou três espécies. A Tabela 4 mostra o número de células analisadas para determinação do número diplóide, fórmula cariotípica, NF, posição das RONs, morfologia dos sexuais.

## 3.1.1 Monodelphis sp.

Indivíduos de número INPA 5388 (margem esquerda do rio Madeira) e INPA 5215 (margem esquerda do rio Aripuanã) apresentaram 4m+2sm+10st+XX/XY e número fundamental NF=32; o cromossomo sexual X foi acrocêntrico pequeno e o Y puntiforme (Figura 7a). A RON localizou-se em posição terminal nos braços curtos do par autossômico nº 3 (Figura 7b). A heterocromatina constitutiva foi evidenciada nos centrômeros de todos os autossomos e nos braços curtos do par 6. Os cromossomos sexuais apresentaram-se totalmente heterocromáticos, com exceção de uma faixa estreita nos braços longos do cromossomo X, e a RON foi negativa (não coincidente) para banda C (Figura 7c).

### 3.1.2 Monodelphis brevicaudata

Os indivíduos de número INPA 5213, INPA 5216 e INPA 5084 (vale do Jari) apresentaram fórmula cariotípica 4m+2sm+8st+2a+XX/XY, e número fundamental NF=30; o cromossomo sexual X foi do tipo subtelocêntrico e o Y, um acrocêntrico pequeno (Figura 7d). A RON localizou-se nos braços curtos do cromossomo X e nos braços longos do cromossomo Y (Figura 7e). A heterocromatina constitutiva foi evidenciada nos centrômeros de todos os pares autossômicos, exceto o par 7. No cromossomo X a heterocromatina foi evidenciada no centrômero e nos braços curtos coincidentes com a RON, e o cromossomo Y foi totalmente heterocromático (Figura 7f).

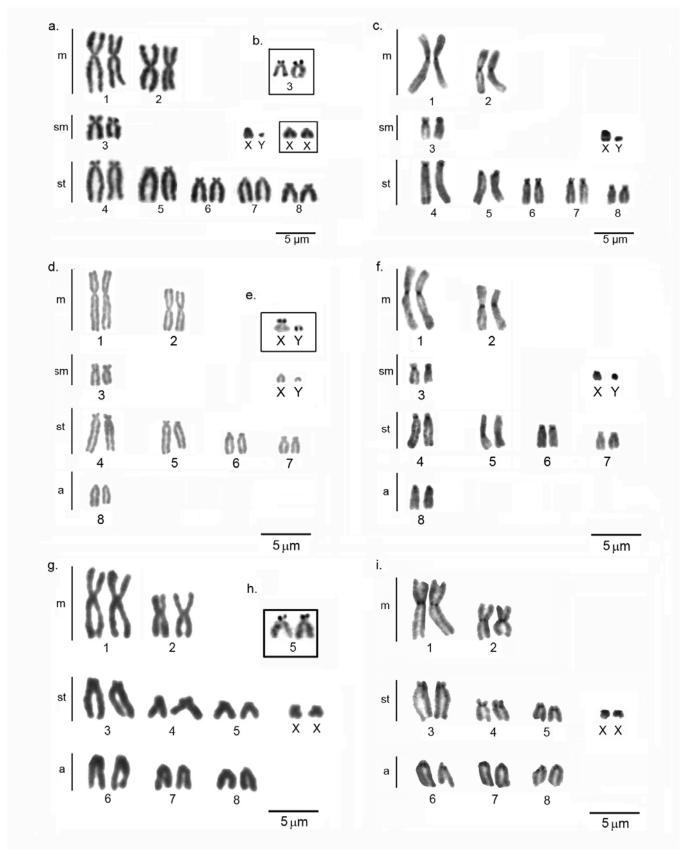
## 3.1.3 Monodelphis cf. emiliae

Somente um indivíduo, de número INPA 5404 (margem direita do rio Aripuanã), apresentou fórmula cariotípica 4m+6st+6a+XX, número fundamental NF=26, e o cromossomo sexual X do tipo submetacêntrico (Figura 7g). A RON

localizou-se nos braços curtos do par autossômico 5 (Figura 7h) e a heterocromatina constitutiva foi visualizada nos centrômeros de todos os pares autossômicos e nos braços curtos e centrômero do cromossomo X. A RON, nesse caso, foi negativa (não coincidente) para banda C (Figura 7i).

Quanto aos indivíduos de número EE 117, EE 122 e EE 123, todos da região do rio Juruá, só foi possível confirmar o número diplóide de 2n=18. A fórmula cariotípica, padrão de banda C e posição da RON não foram possíveis determinar devido à condição das suspensões celulares, provavelmente prejudicada pelo armazenamento e transporte em campo.

A técnica de bandeamento G não gerou resultado satisfatório em nenhum indivíduo de *Monodelphis* spp., provavelmente devido à condensação dos cromossomos das preparações.



**Figura 7.** Cariótipo de *Monodelphis* sp. (2n=18, NF=32) (INPA 5388), *Monodelphis brevicaudata* (2n=18, NF=30) (INPA 5213) e *Monodelphis* cf. *emiliae* (2n=18, NF=32) (INPA 5404), respectivamente: (a, d, g) coloração com Giemsa; (b, e, h) regiões organizadoras de nucléolo impregnadas por AgNO<sub>3</sub>; (c, f, i) padrão de heterocromatina constitutiva. Em destaque os cromossomos sexuais do sexo oposto.

**Tabela 4.** Total de células analisadas por indivíduo, fórmula cariotípica, número fundamental, posição das regiões organizadoras de nucléolo, morfologia dos sexuais e padrão de banda C para cada indivíduo de *Monodelphis* spp.

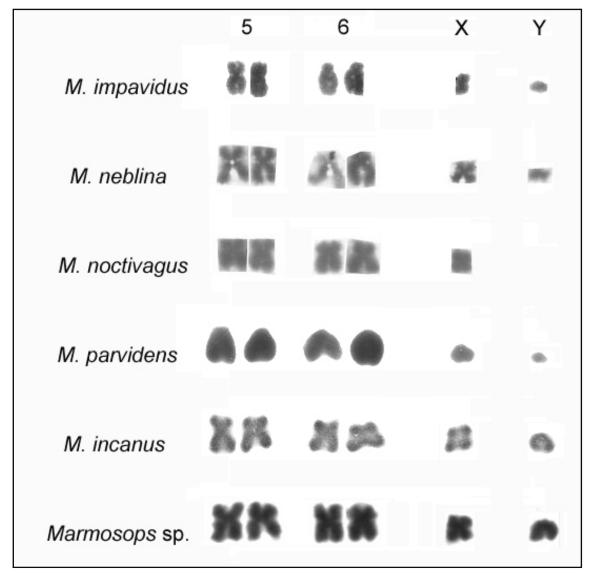
| Local de coleta | Espécie                  | Sexo | Número de<br>campo | Número de<br>Registro | 16 | 17 | <b>2n</b><br>18 | 19    | 20      | Total | Fórmula<br>cariotípica | NF  | RON  | X   | Y |
|-----------------|--------------------------|------|--------------------|-----------------------|----|----|-----------------|-------|---------|-------|------------------------|-----|------|-----|---|
| Rio<br>Madeira  | Monodelphis sp.          | 3    | MCA 15             | INPA 5388             | 2  | 6  | 24              | 0     | 0       | 32    | 4m+2sm+10st            | 32  | 3р   | a   | р |
|                 |                          |      |                    |                       |    |    | 2n              |       |         | T-4-1 | , Fórmula              |     | DON  | · · |   |
|                 |                          |      |                    |                       | 16 | 17 | 18              | 19    | 20      | Total | cariotípica            | NF  | RON  | Х   | Υ |
| Rio<br>Aripuanã | Monodelphis cf. emiliae  | \$   | MCA 31             | INPA 5404             | 2  | 4  | 31              | 0     | 0       | 37    | 4m+6st+6a              | 26  | 5р   | sm  | - |
| R<br>Arip       | Monodelphis sp.          | 3    | MCA 15             | INPA 5215             | 1  | 6  | 22              | 0     | 0       | 29    | 4m+2sm+10st            | 32  | 3р   | а   | - |
|                 |                          |      |                    |                       |    | 2n |                 | Total | Fórmula | NF    | DON                    | Х   | γ    |     |   |
|                 |                          |      |                    |                       | 16 | 17 | 18              | 19    | 20      | Total | cariotípica            | INF | RON  |     |   |
| ·E              | Monodelphis brevicaudata | 8    | TAG 2681           | INPA 5213             | 0  | 3  | 28              | 0     | 0       | 31    | 4m+2sm+8st+2a          | 30  | Xp/Y | st  | а |
| Rio Jari        | Monodelphis brevicaudata | 3    | TAG 2731           | INPA 5216             | 5  | 6  | 26              | 0     | 0       | 37    | 4m+2sm+8st+2a          | 30  | Xp/Y | st  | а |
| <u>.</u>        | Monodelphis brevicaudata | 8    | RNL 068            | INPA 5084             | 1  | 4  | 28              | 0     | 0       | 33    | 4m+2sm+8st+2a          | 30  | Xp/Y | st  | a |
| Totais Gerais   |                          |      |                    |                       | 11 | 29 | 159             | 0     | 0       | 199   |                        |     |      |     |   |

### 4. Discussão

#### 4.1 Citotaxonomia

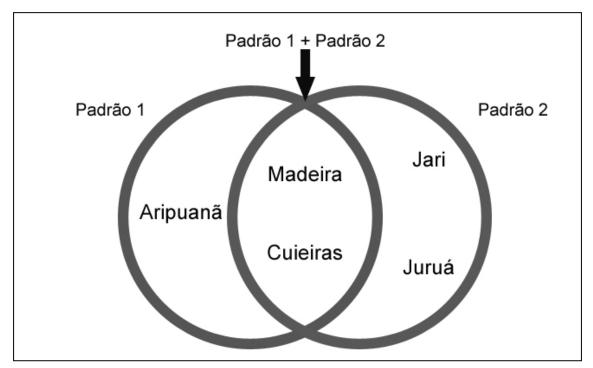
Na literatura existem descrições cariotípicas para quatro espécies de *Marmosops* que ocorrem na Amazônia. Segundo Patton *et al.* (2000) os cariótipos de *M. impavidus* e *M. neblina* tem morfologia idêntica, sendo compostos por quatro pares de grandes cromossomos do tipo metasubmetacêntricos (m-sm), um pequeno par metacêntrico e um pequeno par subtelocêntrico, o X do tipo metacêntrico e o Y acrocêntrico, menores que todos os autossomos. Já, o cariótipo de *M. noctivagus*, segundo esses mesmos autores (op. cit.), difere dos anteriores pelos dois últimos pares, que se apresentam como pequenos metacêntricos ao invés de um par metacêntrico e um subtelocêntrico e o cromossomo Y que é um metacêntrico.

O cariótipo encontrado para os indivíduos de *Marmosops* sp. do presente estudo se enquadra na morfologia cromossômica descrita para *M. noctivagus* (Patton *et al.*, 2000), porém difere quanto ao tipo do cromossomo Y que é um acrocêntrico. Também se enquadra na morfologia descrita para *M. incanus* por Carvalho *et al.* (2002) e Pagnozzi *et al.* (2002), inclusive em relação aos sexuais. Entretanto, *M. noctivagus* tem como característica marcante o seu grande tamanho corporal, o que não foi verificado em nenhum dos espécimes analisados, e *M. incanus* é restrito à região da Mata Atlântica. Por outro lado, os dados do presente estudo concordam com a descrição de Pagnozzi *et al.* (2002) para indivíduos de *M. parvidens* coletados no estado do Mato Grosso, mas não se enquadram na descrição cariotípica de *M. parvidens*, coletados na Serra da Mesa (GO), que possuem os menores autossomos do tipo acrocêntricos, o X acrocêntrico e o Y puntiforme (Carvalho *et al.*, 2002) (Figura 8).



**Figura 8**. Morfologia dos pares cromossômicos 5 e 6 e sexuais descritos para *M. impavidus*, *M. neblina*, *M. noctivagus* (retirado de Patton *et al.*, 2000, Fig. 47), *M. parvidens* e *M. incanus* (retirado de Carvalho *et al.*, 2002, Fig. 2e, f) e *Marmosops* sp. (presente trabalho). Note que não foi apresentado o cromossomo Y de *M. noctivagus* pois a metáfase apresentada no trabalho original era de uma fêmea.

No presente estudo foram verificados dois padrões de banda C para *Marmosops* sp., que ocorreram em simpatria em duas das regiões estudadas (Madeira e Cuieiras) e nas demais regiões apenas um padrão foi verificado (Figura 9). O padrão I foi similar a *M. incanus* descrito por Svartman & Vianna-Morgante (1999) e Pagnozzi *et al.* (2002), e a *M. parvidens* descrito por Pagnozzi *et al.* (2002), mas com uma diferença na marcação do cromossomo X, que para estas espécies foi restrita à região pericentromérica. Por outro lado, o padrão II não foi similar a nenhuma das descrições de banda C feita para espécies de *Marmosops*.



**Figura 9.** Distribuição dos padrões de banda C encontrados para *Marmosops* sp. analisados.

Segundo Kasahara (2009), espécies distintas, mas com cariótipos altamente similares em coloração convencional podem ser diferenciadas pela quantidade e distribuição dos blocos heterocromáticos. A ocorrência de polimorfismos de banda C em espécies de mamíferos foi evidenciada por trabalhos como o de Maia & Langguth (1993), que encontraram diferenças nos blocos heterocromáticos entre homólogos dos pares 4 e 11, em 14 espécimes de *Proechimys cuvieri* coletados na região do rio Uatumã, somando seis citótipos de banda C. Já, Eler (2007) encontrou dois padrões de banda C para *Proechimys* gr. *longicaudatus* e concluiu que a diferença na distribuição da

heterocromatina entre populações é uma característica que permite sugerir tratarem-se de unidades evolutivas diferentes. Assim, a diferença de banda C encontrada para *Marmosops* sp. tanto em simpatria quanto em alopatria não parece tratar-se de um polimorfismo para banda C, mas sim de duas unidades evolutivas.

O gênero *Marmosops* é um dos inúmeros gêneros de marsupiais didelfídeos nos quais problemas taxonômicos ainda persistem (Voss & Emmons, 1996; Voss *et al.*, 2001; Voss *et al.*, 2004; da Silva *et al.*, 2007).

Mustrangi & Patton (1997), com base em análises moleculares do gene mitocondrial citocromo b, concluem que *M. parvidens* (*sensu* Pine 1981) representa um complexo de espécies, considerando os altos níveis de divergência interpopulacional por eles registrados para esse grupo, níveis esses similares aos encontrados entre espécies congenéricas de *Didelphis*, *Philander*, *Micoureus* e *Monodelphis*. Voss *et al.* (2001) também consideram a existência de um complexo de espécies em *M. parvidens* (*sensu* Pine 1981), tendo por base análises morfológicas.

Análises moleculares em andamento (da Silva et al., dados não publicados), onde até o momento foi incluída apenas parte dos indivíduos de *Marmosops* analisados no presente estudo, além de representantes de diferentes localidades de *M. noctivagus*, *M. incanus*, *M. paulensis*, *M. neblina*, *M. parvidens* (sensu Patton et al. 2000) e *M. pinheiroi*, também indicam a associação desses exemplares a *M. parvidens sensu* Pine (1981), e a *M. parvidens* da região das Guianas sensu Voss et al. (2001). Ainda, a análise morfológica destes indivíduos sugere que aqueles coletados no vale do rio Jari (padrão II de banda C) (INPA 5235 e 5086) concordam com a descrição de *M. parvidens* (sensu Voss et al., 2001), particularmente em termos do padrão de pelagem que apresenta estreita faixa de pelos de base cinza e pontas brancas na região ventral, onde predominam pelos inteiramente brancos, presença das cúspides acessórias nos caninos superiores e abertura do forâmen lacrimal inteiramente escondida na órbita em vista lateral do crânio (INPA 5086).

No indivíduo do rio Juruá (EE 107 – padrão II de banda C) constatou-se a abertura do forâmen lacrimal escondida na órbita em vista lateral do crânio e a ausência de cúspide acessória anterior nos caninos superiores (posterior presente), caráter este também observado em *M. bishopi* do rio Juruá

(anteriormente nomeada *M. parvidens bishopi* por Pine, 1981), espécie a qual provisoriamente associamos este exemplar.

Deste modo, os indivíduos aqui analisados parecem pertencer ao complexo *M. parvidens*, entretanto observa-se a existência de mais dois citótipos, diferentes entre si e entre aqueles apresentados em trabalhos anteriores, em relação ao padrão de banda C.

Em relação ao gênero Monodelphis, embora apenas seis indivíduos tenham apresentado resultados satisfatórios. três cariótipos evidenciados, o que confirma a grande variabilidade cromossômica já sugerida para o gênero (Carvalho et al., 2002). Ao contrário de Marmosops spp., onde as diferenças citogenéticas ocorreram nos dois pares autossômicos menores, nos cromossomos sexuais e no padrão de banda C, em Monodelphis spp. somente o número diplóide de 18 cromossomos foi comum a todos os cariótipos. A enorme diferença nos caracteres cromossômicos (fórmula cariotípica, número fundamental, número e posição das RONs, tipo dos sexuais) demonstrada na Tabela 1 ilustra essa variabilidade. Para M. domestica, por exemplo, pelo menos seis fórmulas cariotípicas foram descritas, e são mostradas na Tabela 1.

Dois indivíduos analisados no presente trabalho (INPA 5215 e INPA 5388). dos rios Aripuanã e Madeira, respectivamente, provenientes apresentaram fórmula cariotípica 4m+2sm+10st+XX/XY e número fundamental NF=32, e a RON no par 3. Morfologicamente, o exemplar do rio Aripuanã foi identificado como M. brevicaudata e o do rio Madeira até o momento não foi identificado em nível de espécie. Entretanto, três outros exemplares (INPA 5084, INPA 5213 e INPA 5216) provenientes do rio Jari, também foram associados morfologicamente a M. brevicaudata, mas apresentaram fórmula cariotípica distinta, 4m+2sm+8st+2a+XX/XY, número fundamental NF=30 e RON nos cromossomos sexuais. Deste modo, uma vez que dados cromossômicos tem sido de grande utilidade na caracterização taxonômica de pequenos mamíferos em geral, fica evidente que os indivíduos do rio Aripuanã (INPA 5215) e do rio Madeira (INPA 5388) pertencem a um mesmo táxon, porém diferente daqueles do rio Jari.

Vale lembrar que vários autores (Emmons & Feer 1997; Voss *et al.*, 2001) ressaltaram que *M. brevicaudata* possui grande variação morfológica, e

constitui um complexo de espécies, que atualmente vem sendo revisado por Pavan & Rossi (com. pess.). *M. emiliae*, por exemplo, foi tida como subespécie de *M. brevicaudata*, sendo realocada diversas vezes como subespécie de diferentes espécies de *Monodelphis*, até sua elevação ao nível de espécie por Pine & Handley (1984), classificação aceita até hoje.

O cariótipo de *Monodelphis* cf. *emiliae*, um indivíduo (INPA 5404), coletado na margem direita do rio Aripuanã, foi muito similar à descrição cariotípica de Patton *et al.* (2000), que descreveram o cariótipo de *M. emiliae* da região do rio Juruá como composto de dois pares de grandes metacêntricos, cinco pares de subtelocêntricos de tamanho médio e um par de acrocêntricos médios, cromossomo X do tipo submetacêntrico pequeno e o Y como um pequeno acrocêntrico. Entretanto, o indivíduo do presente trabalho apresentou três pares acrocêntricos ao invés de um. Neste caso, essa discrepância poderia ser apenas uma diferença de nomenclatura cromossômica, uma vez que os autores apenas descreveram o cariótipo, sem mostrar sua imagem.

Deste modo o que se observa é que caracteres cromossômicos poderão ser de grande valia para o entendimento taxonômico e mesmo da sistemática dos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis*, se forem utilizados juntamente com dados morfológicos, ecológicos e moleculares, numa revisão deste grupo de marsupiais.

## 4.2 Evolução Cariotípica

Para os marsupiais da família Didelphidae são descritos três números diplóides e seus cariótipos são ditos conservados. Segundo Reig *et al.* (1977), este padrão de conservação cariotípica é consistente com a evolução lenta e gradual de caracteres morfológicos, em nível do organismo. Para Palma & Yates (1996), a irradiação dos marsupiais teria ocorrido dentro de uma estrutura cariotípica conservada tanto no táxon americano quanto no táxon australasiático. Como é sabido, um grande número de espécies de marsupiais, que datam do Plio-Pleistoceno se irradiou para diferentes habitats na América do Sul (Reig *et al.*, 1985).

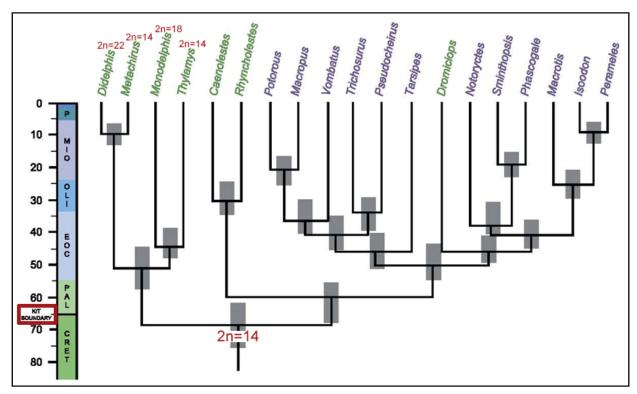
Os dados do presente estudo confirmam os números diplóides já descritos para didelfídeos, ou seja, todos os indivíduos de *Marmosops* sp.

apresentaram 2n=14 e todos os indivíduos de *Monodelphis* spp. apresentaram 2n=18 cromossomos.

Hipóteses sobre a evolução cromossômica e busca pelo cariótipo ancestral dos didelfídeos tem estado presente em diversos trabalhos. Reig et al. (1977) propuseram que a evolução cromossômica em Didelphidae poderia ter ocorrido de três formas: de um número diplóide maior para um menor; de um número diplóide menor para um maior; ou de um número diplóide intermediário, bidirecionalmente para maior e menor. Em 1990, Hayman, com base em padrões de banda G em diferentes espécies de marsupiais, propôs que 2n=14 seria o número diplóide ancestral para este grupo. Por outro lado, Svartman & Vianna-Morgante (1998) e Carvalho & Mattevi (2000), utilizando técnicas de citogenética molecular (hibridização in situ fluorescente - FISH), observaram a presença de sequências teloméricas intersticiais e propuseram uma evolução cariotípica para os didelfídeos a partir de um cariótipo ancestral com 2n=22 cromossomos em direção a um número diplóide igual a 14, por rearranjos robertsonianos do tipo fusão. Já, Pagnozzi et al. (2002) concluíram que a presença de sequências teloméricas intersticiais não caracterizam indícios de fusões robertsonianas e sim regiões de DNA satélite relacionadas à heterocromatina constitutiva.

Com base em análises moleculares e de datação de fósseis, Nilsson *et al.* (2004) sugeriram que poderia ter ocorrido duas diversificações a partir de 2n=14: um evento inicial do qual surgiu a linhagem 2n=18; e um outro evento posterior, do qual surgiram as linhagens mais recentes de 2n=14 e a de 2n=22 cromossomos (Figura 10), o que concorda com a hipótese de Voss & Jansa (2003), que propuseram uma filogenia para a família Didelphidae, tendo o grupo 2n=14 como ancestral em relação aos grupos 2n=18 e 2n=22.

Patton *et al.* (1996) já haviam proposto uma filogenia para marsupiais sugerindo que o clado *Didelphis+Philander* (2n=22) seria mais recente em comparação ao clado *Monodelphis+Micoureus* (2n=18 e 2n=14).



**Figura 10.** Tempo de divergência de marsupiais. Os números diplóides estão ressaltados nos didelfídeos. (Modificado de Nilsson *et al.*, 2004)

Se considerarmos o caráter RON simples ou múltipla, é possível perceber que existem dois grupos de espécies de didelfídeos no grupo 2n=14, um com RON simples e outro com RON múltipla (Tabela 1). Segundo Hsu *et al.* (1975) a RON num cístron único e longo seria um caráter ancestral, sendo que rearranjos subseqüentes responderiam pela ocorrência de RONs múltiplas em grupos mais derivados. Deste modo, o gênero *Marmosops* como um todo ocuparia uma posição basal, juntamente com *Caluromys* e *Gracilinanus*, já que as espécies destes gêneros possuem marcações de RON somente no par autossômico 6 (que no presente trabalho, devido à montagem do cariótipo por tipos cromossômicos, ficou como par 3). Por outro lado, o grupo que inclui *Marmosa* e *Micoureus*, nos quais os sítios de RON estão presentes nos pares 5 e 6, caracterizando RONs múltiplas (Tabela 1) ocupariam uma posição mais derivada.

Quando analisamos este caráter para *Monodelphis*, já foram relatados sítios de RON presentes apenas no par 5 e no cromossomo sexual X (Tabela 1). No presente trabalho foram encontradas RONs simples e presentes no par 5, RONs simples presentes no par 3, e marcações nos cromossomos X e Y,

sendo esta última uma novidade no gênero. Genes ribossomais em cromossomos sexuais de mamíferos já foram relatados para outras espécies, como o morcego *Carollia castanea* (Hsu *et al.* 1975), mas os mesmos autores ressaltam que RON no cromossomo X pode gerar problemas de compensação de dose em mamíferos. A localização de RON em cromossomos sexuais pode ser considerada um caráter derivado, uma vez que estaria presente originalmente em autossomos e por rearranjos, tipo translocação ou transposição, passaria a ocupar o cromossomo X. Este seria, então, mais um caráter apoiando uma posição mais derivada para o gênero *Monodelphis*. A marcação da RON no cromossomo Y, porém, poderia não necessariamente ser devida à presença de cístrons ribossomais, mas à presença de heterocromatina argentofílica. A confirmação da posição do sítio ribossomal no cromossomo Y poderá ser realizada numa análise posterior utilizando a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH).

#### 5. Conclusões

- Os dados obtidos neste trabalho confirmam os números diplóides de 14
   e 18 cromossomos, como conservados na família Didelphidae. Entretanto, também confirmam a presença de rearranjos não robertsonianos, que modificam a fórmula cariotípica e número fundamental, a localização e posição da região organizadora do nucléolo (RON) e os tipos cromossômicos dos cromossomos sexuais.
- As principais diferenças cromossômicas entre as espécies de Marmosops estão nos dois menores pares de autossomos, nos sexuais e no padrão de banda C, como já evidenciado nas demais espécies com o mesmo número diplóide.
- Para o gênero *Monodelphis* apenas o número diplóide igual a 18 cromossomos foi comum entre as espécies, pois se diferenciam em todos os outros caracteres cromossômicos, como: fórmula cariotípica e número fundamental, número de cromossomos por grupo (m, sm, st, a), cromossomos sexuais.
- É o primeiro caso em *Monodelphis* spp. que a RON foi detectada no cromossomo Y, entretanto isto também pode ser devido à presença de heterocromatina argentofílica. Isto poderá ser confirmado com uma análise posterior utilizando a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH).
- Problemas taxonômicos existem entre as espécies dos dois gêneros e os caracteres citogenéticos poderão ser de grande valia, quando de uma revisão sistemática.

# 6. Referências Bibliográficas

- Albuja, L.V.; Patterson, B.D. 1996. A new species of northern shrew-opossum (Paucituberculata: Caenolestidae) from the Cordillera del Condor, Ecuador. *Journal of Mammalogy*, 77: 41–56.
- Astúa c.a. Moraes, D.; Santori, R. T.; Finotti, R.; Cerqueira, R. 2003. Nutritional and fibre contents of laboratory-established diets of Neotropical opossums (Didelphidae). *In*: Jones, M. E.; Dickman, C. R.; Archer, M. (Ed.). *Predators with pouches: The Biology of Carnivorous Marsupials*. Callingwood, Australia: CSIRO Publishing, p. 221-237.
- Ávila-Pires, T.C.S. 1995. *Lizards of Brazilian Amazonia* (Reptilia: Squamata). *Zool. Verh. (Leiden)* 299: 637 pp.
- Bettiol, S.S.; Kettlewell, J.S.; Davies, N.J.; Goldsmid, J.M. 1997. Giardiasis in native marsupials of Tasmânia. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(2): 352-354.
- Biggers, J.D.; Fritz, W.C.; Hare, W.C.D.; McFeely, R.A. 1965. Chromosomes of American marsupials. *Science*, 148: 1602-1603.
- Bonvicino, C.R.; Weksler, M. 1998. A new species of *Oligoryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) from Northeastern and central Brazil. *International Journal of Mammalian Biology*, 63: 90-103.
- Bonvicino, C.R.; Menezes, A.R.E.A.N.; Oliveira, J.A. 2003a. Molecular and karyologic variation in the genus *Isothrix* (Rodentia, Echimyidae). *Hereditas*, 139: 206–211.
- Bonvicino, C.R.; Lima, J.F.S.; Almeida, F.C. 2003b. A new species of *Calomys* Waterhouse (Rodentia, Sigmodontinae) from the cerrado of the Central Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2): 301-307.

- Brito, D. 2004. Lack of adequate taxonomic knowledge may hinder endemic mammal conservation in the Brazilian Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation*, 13: 2135-2144.
- Brown Jr., K.S. 1982. Historical and ecological factors in the biogeography of aposematic Neotropical butterflies. *American Zoologist*, 22: 453-471.
- Cáceres, N.C. 2006. O papel dos marsupiais na dispersão de sementes. *In*: Cáceres, N.C.; Monteiro-Filho E.L.A. (Org.). *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução*. Campo Grande, MS, Editora UFMS. p. 255-270.
- Camargo, L.B.; Langoni, H. 2006. Impact of leishmaniasis on public health. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 12 (4): 527-548.
- Carvalho, B.A.; Mattevi, M.S. 2000. (T<sub>2</sub>AG<sub>3</sub>)<sub>n</sub> telomeric sequence hybridization suggestive of centric fusion in karyotype marsupials evolution. *Genetica*, 108: 205-210
- 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.
- Casartelli, C.; Rogatto, S.R.; Ferrari, I. 1986. Cytogenetic analysis of some Brazilian marsupials (Didelphidae: Marsupialia). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 28: 21-29.
- Costa, L.P.; Patton, J.L. 2006. Diversidade, limites geográficos e sistemáticos de marsupiais Brasileiros. *In*: Cáceres, N. C.; Monteiro-Filho E. L. A. (Org.). Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução. Campo Grande, MS, Editora UFMS. p. 321-341.

- Cracraft, J. 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American areas of endemism. *In*: P.A. Buckley *et al.* (eds.), *Neotropical ornithology*. Washington, D.C.: American Ornithologists Union. p. 49–84.
- da Silva, M.N.F. 1998. Four new species of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from the Western Amazon of Brazil. *Proceedings of Biology Society. Washington*, 111: 436-471.
- 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*. Estação Liberdade: Instituto Socioambiental. São Paulo. 540 pp.
- da Silva, M.N.F.; Arteaga, M.C.; Bantel, C.G.; Rossoni, D.M.; Leite, R.N.; Pinheiro, P.S.; Röhe, F.; Eler, E.S. 2007. Mamíferos de pequeno porte (Mammalia: Rodentia & Didelphimorphia). *In*: Rapp Py-Daniel, L.H.; Deus, C.P.; Henriques, A.L.; Pimpão, D.; Ribeiro, O.M. (Org.). *Biodiversidade do médio Madeira: bases científicas para propostas de conservação*. Manaus. INPA. 244 pp.
- Eisenberg, J.F.; Redford, K.H. 1999. *Mammals of the Neotropics*. The University of Chicago Press. 609 pp.
- Eler, E.S. 2007. Citotaxonomia de roedores do gênero **Proechimys** (Echimyidae) da região amazônica, Brasil. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 72 pp.
- Emmons, L.H. 1984. Geographic variation in densities and diversities of non-flying mammals in Amazonia. *Biotropica*, 16(3): 210-222.

- Emmons, L.H.; Feer, F. 1997. *Neotropical rainforest mammals: a field guide.* 2<sup>nd</sup> Edition. The University of Chicago Press. Chicago. 307 pp.
- Endler, J.A. 1982. Pleistocene forest refuges: fact or fancy? *In:* Prance, G.T. (ed.). *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press. 714 pp.
- Faresin-Silva, C.E. 2008. Citogenética de pequenos mamíferos não voadores de três localidades na Amazônia Central. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 67 pp.
- Fearnside, P.M.; Ferraz, J. 1995. A conservation gap analysis of Brazil's Amazonian vegetation. *Conservation Biology*, 9: 1134–1147.
- Ford, C.; Hamerton, J. 1956. A colchicines hypothonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31: 247-251.
- Futuyma, D.J. 1992. *Biologia evolutiva*. 2ª ed. Editora Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, Ribeirão Preto. 646 pp.
- Gardner, A.L. 2005. Order Didelphimorphia. *In*: Wilson, D.E.; Reeder, D.M. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. p 15-23.
- Gardner, A.L. 2007. Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. University Of Chicago Press, Chicago. 669 pp.
- Gardner, A.L.; Creighton, G.K. 2007. Genus *Marmosops. In*: Gardner, A.L. 2007. Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. University Of Chicago Press, Chicago. p. 61-74.

- 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.
- Groves, C.P. 1993. Order Dasyuromorphia, Peramelemorphia, Notoryctemorpha, Diprotodontia. *In*: Wilson, D.E.; Reeder, D.M. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. p. 29–62.
- Haffer, J. 1974. Avian speciation in tropical South America. *Publication Nuttall Ornithology Club* (14): 1-390.
- Haffer, J. 1978. Distribution of Amazon forest birds. *Bonn. Zool. Beitr.* 29: 38–78.
- Hayman, D.L., 1990. Marsupial cytogenetics. *Australian Journal of Zoology*, 37: 331-349.
- Hershkovitz, P. 1977. *Living New World monkeys (Platyrrhini) with an introduction to primates, vol. 1.* Univ. Chicago Press, Chicago. 1132 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 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma*, 53: 25-36.
- Kasahara, S. 2009. *Introdução à Pesquisa em Citogenética de Vertebrados*. Ed. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto. 160 pp.
- Leite, R.N. 2006. Comunidade de pequenos mamíferos em um mosaico de plantações de eucalipto, florestas primárias e secundárias na Amazônia Oriental. Dissertação de Mestrado, INPA/UFAM, Manaus, AM. 70 pp.

- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Maia, V.; Langguth, A. 1993. Constitutive heterochromatin polymorphism and NORs in *Proechimys cuvieri* Petter, 1978 (Rodentia, Echimyidae). *Revista Brasileira de Genética*, 16(1): 145-154.
- Malcolm, J.R. 1991a. Comparative abundances of Neotropical small mammals by trap height. *Journal of Mammalogy*, 72: 188–192.
- Malcolm, J.R. 1991b. *The small mammals of Amazonian forest fragments:* pattern and process. Dissertation presented for the degree of Doctor of Philosophy. University of Florida. 218 pp.
- Malcolm, J.R.; Patton, J.L.; da Silva, M.N.F. 2005. Small mammal communities in Upland and Floodplain forests along an Amazonian white water river. *In*: Lacey, E.I.; Myers, P. (Eds.). *Mammalian Diversification: from chromosomes to phylogeography* ( a celebration fo the career of James L. Patton). UC Publications in Zoology Paper. 133 pp.
- Marshall, L.G.; Case, J.A.; Woodburne, M.O. 1990. Phylogenetic relationships of the families of marsupials. *In*: Genoways, H. H. (Ed.). *Current Methodology*, Vol. 2. Plenum, New York. p. 433–505.
- Mayr, E. 1977. *Populações, espécies e evolução*. trad. Hans Reichardt. Ed. da Universidade de São Paulo, São Paulo. 485 pp.
- McKenna, M.C.; Bell, S.K. 1997. *Classification of Mammals above the Species Level*. Columbia University Press, New York. 640 pp. Citado em Gardner, A.L. 2007.

- Merry, D.E.; Pathak, S.; VandeBerg, J.L. 1983. Differential NOR activities in somatic and germ cells of *Monodelphis domestica* (Marsupialia, Mammalia). *Cytogenetics and Cell Genetics*, 35: 244-251.
- Musser, G.G.; Carleton, M.D.; Brothers, E.M.; Gardner, A.L. 1998. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): diagnoses and distributions of species assigned to *Oryzomys* "capito.". Bulletins of the American Museum of Natural History, 236: 1–376.
- Mustrangi, M.A.; Patton, J.L. 1997. *Phylogeography and systematic of the slender mouse opossum Marmosops (Marsupialia: Didelphidae)*. University of California Press. 94 pp.
- Nilsson, M.A.; Arnason, U.; Spencer, P.B.S.; Janke, A. 2004. Marsupial relationships and a timeline for marsupial radiation in South Gondwana. *Gene*, 340: 189–196.
- Nowak, R.M. 1991. *Walker's Mammals of the World*. The Johns Hopkins University Press 5<sup>a</sup> ed., 1629 pp.
- Oliveira, J.A.; Bonvicino, C.R. 2002. A new species of Sigmodontinae rodent from the Atlantic forest of Eastern Brazil. *Acta Theriologica*, 47(3): 307-322.
- Pagnozzi, J.M.; Ditchfield, A.D.; Yonenaga-Yassuda, Y. 2002. Mapping the distribution of the intersticial telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences in eight species of Brazilian marsupials (Didelphidae) by FISH and the correlation with constitutive heterochromatin. Do ITS represent evidence for fusion events in American marsupials? *Cytogenetic and Genome Research*, 98: 278-284.
- Pagnozzi, J.M.; Silva, M.J.J.; Yonenaga-Yassuda, Y. 2000. Intraspecific variation of the interstitial telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> sequence in *Micoureus demerarae* (Marsupialia: Didelphidae). *Chromosome Research*, 8: 585-591.

- Palma, R.E.; Yates, T.L. 1996. The chromosomes of Bolivian didelphid marsupials. *Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University*, 162: 1-20.
- Pathak, S.; Rønne, M.; Brown, N.M.; Furlong, C.L.; VandeBerg, J.L. 1993. A high resolution banding pattern ideogram of *Monodelphis domestica* chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 63: 181-184.
- Patterson, B.D. 2000. Patterns and trends in the discovery of New Neotropical Mammals. *Diversity and Distributions*, 6: 145-151.
- Patton, J.L.; Reis, S.F.; da Silva, M.N.F. 1996. Relationships among didelphid marsupials based on sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene. *Journal of Mammalian Evolution*, 3(1): 3-29.
- Patton, J.L.; da Silva, M.N.F.; Malcolm, J.R. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazônia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 244: 306pp.
- Pereira, N.P; Ventura, K.; Silva, M.C. Jr.; Silva, D.M.; Yonenaga-Yassuda, Y.; Pellegrino, K.C.M. 2008. Karyotype characterization and nucleolar organizing regions of marsupial species (Didelphidae) from areas of Cerrado and Atlantic Forest in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 31(4): 887-892.
- Perondini, A.L.; Perondini, D.R. 1965. Análise comparativa dos cromossomos somáticos de quatro espécies de marsupiais. *Revista Brasileira de Biologia*, 25: 377-386.
- Pine, R.H. 1981. Reviews of the mouse opossum *Marmosa parvidens* Tate and *Marmosa invicta* Goldman (Mammalia: Marsupialia: Didelphidae) with description of a new species. *Mammalia*, 45(1): 54-70.
- Pine, R.H.; Handley, C.O. 1984. A review of the Amazonian short-tailed opossum *Monodelphis emiliae* (Thomas). *Mammalia*, 48 (2): 239-245.

- Rapp Py-Daniel, L.H.; Deus, C.P.; Henriques, A.L.; Pimpão, D.; Ribeiro, O.M. (Org.). 2007. Biodiversidade do médio Madeira: bases científicas para propostas de conservação. Manaus. INPA. 244 pp.
- Reig, O.A.; Gardner, A.L.; Bianchi, N.O.; Patton, J.L. 1977. The chromosomes of the Didelphidae (Marsupialia) and their evolutionary significance. *Biological Journal of the Linnean Society*, 9: 191-216.
- Reig. O.A.; Kirsch, A.W.; Marshall, L.G. 1985. New conclusions on the relationships of the opossum-like marsupials with an annotated classification of the Didelphimorphia. *Ameghiniana*, 21: 335-343.
- Santori, R.T.; Astúa c.a. Moraes, D. 2006. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. *In*: Cáceres, N.C.; Monteiro-Filho E.L.A. (Org.). *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução*. Campo Grande, MS, Editora UFMS. p. 241-254.
- Seluja, G.A.; di-Tomaso, M.V.; Brum-Zorrilla, N.; Cardoso, H. 1984. Low karyotypic variation in two Didelphids (Marsupialia): karyogram and chromosome banding analysis. *Journal of Mammalogy*, 65: 702-707.
- Silva, S.I. 2005. Posiciones tróficas de pequeños mamíferos en Chile: una revisión. *Revista Chilena de Historia Natural*, 78: 589-599.
- 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.
- Souza, E. M. S.; Moraes, B. N. G; Andrade, R. A.; Gross, M. C.; Feldberg, E. 2009. Anfiplastia em *Caluromys philander* (Didelphimorphia, Didelphidae): é a explicação para diferenças no número fundamental? *Anais do III Encontro de Genética do Norte*.

- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.
- Svartman, M.; Vianna-Morgante, A. M. 1998. Karyotype evolution of marsupials: from higher to lower diploid numbers. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 82: 263–266.
- Svartman, M.; Vianna-Morgante, A.M. 1999. Comparative genome analysis in American marsupials: chromosome banding and in-situ hybridization. *Chromosome Research*, 7: 267-275
- Svartman, M.; Vianna-Morgante, A.M. 2003. Conservation of chromosomal location of nucleolus organizer in American marsupials (Didelphidae). *Genetica*, 118: 11–16.
- Thatcher, V.E. 2006. Os endoparasitos dos marsupiais brasileiros. *In*: Cáceres, N.C.; Monteiro-Filho E.L.A. (Org.). *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução*. Campo Grande, MS, Editora UFMS. p. 53-68.
- Ventura, K.; Silva, M.J.J.; Fagundes, V.; Pardini, R.; Yonenaga-Yassuda Y. 2004. An undescribed karyotype for *Thaptomys* (2n=50) and the mechanism of differentiation from *Thaptomys nigrita* (2n=52) evidenced by FISH and AgNORs. *Caryologia*, 57(1): 89-97.
- Voss, R.L; Emmons, L.H. 1996. Mammalian diversity in Neotropical lowland rainforests: a preliminary assessment. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 230: 1-115.
- Voss, R.L.; Lunde, D.P.; Simmons, N.B. 2001. The mammals of Paracou, French Guiana: a neotropical lowland rainforest fauna part 2. Nonvolant species. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 263. 236 pp.

- Voss, R.L.; Jansa, S.A. 2003. Phylogenetic studies on didelphid marsupials II. Non molecular data and new IRBP sequences: separate and combined analyses of didelphine relationships with denser taxon sampling. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 276: 1-82.
- Voss, R.L.; Tarifa, T.; Yensen, E. 2004. An introduction to *Marmosops* (Marsupialia: Didelphidae), with the description of a new species from Bolivia and notes on the taxonomy and distribution of other bolivian forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 3466. 40 pp.
- Wallace, A.R. 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of Zoological Society of London*, 20: 107-110.
- Weksler, M.; Bonvicino, C.R.; Otazu, I.B.; Junior, J.S.S. 2001. Status of *Proechimys roberti* and *P. oris* (Rodentia: Echimyidae) from Eastern Amazonia and Central Brasil. *Journal of Mammalogy*, 82(1): 109-122.
- Wund, M.; Myers, P. 2005. Mammalia. *In*: Animal Diversity Web (http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Mammalia. html). Acessado em 17 de junho de 2008.
- Yonenaga-Yassuda, Y.; Kasahara, S.; Souza, M.J.; L'Abbate, M. 1982. Constitutive heterochromatin, G-bands and nucleolus-organizer regions in four species of Didelphidae (Marsupialia). *Genetica*, 58: 71-77.
- Zima, J. 2000. Chromosomal evolution in small mammals (Insectivora, Chiroptera, Rodentia). *Hystrix*, 11(2): 5-15.

# **APÊNDICE I**

# A. Morfologia externa e craniana dos exemplares de Marmosops sp.

As descrições morfológicas em *Marmosops* foram amplamente embasadas nos trabalhos de Patton *et al.* (2000), Voss *et al.* (2001), Voss *et al.* (2004), e Gardner & Creighton (2007). Os espécimes estão apresentados por número de tombamento, de acordo com seu padrão de banda C, e por drenagem de ocorrência. Indivíduos considerados adultos são aqueles com dentição completa (P3 erupcionado e M4 já apresentando desgaste) e/ou com padrão de pelagem característico de indivíduos adultos, incluindo evidências de maturidade sexual (p. ex. fêmeas lactantes, com pelos castanho-alaranjados na região das mamas; machos com testículos desenvolvidos).

## Padrão I de banda C

Rio Madeira: INPA 5377 - 5380 - 5389

INPA 5377 — Fêmea adulta (232-129-16-20=18,5g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, mas observa-se a presença de pelos mais avermelhados especialmente na região dos ombros, embora estes estejam presentes desde o alto da cabeça na região entre as orelhas até a região posterior das costas; a coloração da região lateral do corpo apresenta-se um pouco mais pálida e acinzentada que a coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de uma linha mais escura tênue na região mediana do focinho e a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos, que contrasta com a coloração das bochechas e da coroa (alto da cabeça); a região ventral apresenta coloração geral esbranquiçada, queixo esbranquiçado com pelos completamente brancos, mas pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas; esse tipo de pelos também penetra pela região ventral, confinando os pelos brancos puros a uma estreita faixa na região central do peito, enquanto o abdômen e a região inguinal são recobertos principalmente por pelos marrom-avermelhados em torno das

mamas; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada tanto em sua face dorsal como ventral; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas dos olhos, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente, mas ausência de fenestrações palatinas; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 11,22 mm e apenas dos quatro molares 5,62 mm; o comprimento total do crânio não foi medido porque a região occipital encontra-se danificada.

INPA 5380 – Fêmea jovem (186-120-15-19=9,5g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, a coloração da região lateral do corpo apresenta-se um pouco mais pálida e acinzentada que a coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos, que se estende até o focinho em contraste com a coloração das bochechas e coroa; a região ventral apresenta coloração geral esbranquiçada, queixo esbranquiçado com pelos completamente brancos e pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas, exceto por uma estreita faixa central de pelos completamente brancos; aparentemente esse tipo de pelos estaria presente margeando a região ventral, mas a pele das regiões abdominal e inguinal encontram-se danificadas, não sendo possível afirmar o padrão de coloração ali encontrado; a cauda apresenta coloração acinzentada mais escura no dorso e mais clara em sua metade anterior na fase ventral; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: danificado.

**INPA 5389** – Macho adulto (242-145-19-23=23,7g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, mas observa-se a presença de pelos mais avermelhados especialmente na região dos ombros, embora estes estejam presentes desde o alto da cabeça na região entre as orelhas até a região posterior das costas; a coloração da região lateral do corpo apresenta-se um pouco mais pálida e marrom-acinzentada que a coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de uma linha mais

escura tênue na região mediana do focinho e a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos, que se estende até o focinho e que contrasta com a coloração das bochechas e da coroa; a região ventral apresenta coloração geral esbranquiçada, queixo esbranquiçado com pelos completamente brancos e pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas. Esse tipo de pelos também penetra pela região ventral, confinando os pelos brancos puros a uma estreita faixa na região central do peito, e recobrindo praticamente todo o abdômen. A cauda apresenta coloração uniforme acinzentada mas sua face ventral é um pouco mais clara; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas dos olhos, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente, mas ausência de fenestrações palatinas; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 11,65 mm e apenas dos quatro molares 5,69 mm; o comprimento total do crânio (CBL comprimento côndilo-basal) foi de 30.31mm.

## Rio Aripuanã: INPA 5399 - 5408 - 5411

INPA 5399 - Fêmea adulta (226-133-15-22=18,3g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, mas observa-se a presença de pelos mais avermelhados especialmente no alto da cabeça entre as orelhas e na face entre os olhos; a coloração da região lateral do corpo é marrom-acinzentada e um pouco mais pálida que a coloração dorsal; na cabeça, observa-se a presença de pelos com pontas amarronzadas mais escuras desde o nariz até a região dos olhos, mas sem a formação de uma listra demarcada na região mediana do focinho. Observa-se também a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos, que contrasta com a coloração das bochechas e do alto da cabeça; a região ventral apresenta coloração geral esbranquiçada, queixo esbranquiçado pelos com completamente brancos, mas pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas; pelos de base acinzentada e pontas brancas também penetram a região ventral, confinando os pelos brancos puros a uma estreita faixa na região central do peito (a pele na região do abdômen encontrase danificada); a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada, mas a face ventral é um pouco mais clara; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente, mas ausência de fenestrações palatinas; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 11,24 mm e apenas dos quatro molares 5,59 mm; o comprimento total do crânio (CBL – comprimento côndilobasal) foi de 28.35mm.

INPA 5408 – Fêmea jovem (206-126-14-23=15g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, que não contrasta com as laterais do corpo; na cabeça, observa-se a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos que se estende em direção ao focinho e que contrasta com a coloração das bochechas e do alto da cabeça; a região ventral possui aspecto geral esbranquiçado, queixo também esbranquiçado com pelos completamente brancos, mas pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas, exceto por uma estreita faixa central de pelos completamente brancos. Essa faixa central de pelos brancos se estende por toda a região ventral (largura aprox. 1cm), margeada em toda sua extensão por pelos de base acinzentada e pontas brancas que também penetram a região ventral; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada, mas a face ventral é um pouco mais clara; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente, mas ausência de fenestrações palatinas; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; medidas da carreira de dentes e do crânio não foram realizadas porque a região occipital encontra-se danificada e M4 está ausente.

**INPA 5411** – Macho adulto (255-160-15-21=21,5g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, mas observa-se a presença de pelos mais avermelhados desde o alto da cabeça na região entre as orelhas até a região posterior das costas; a coloração da região lateral do corpo apresenta-se um pouco mais pálida e marrom-acinzentada que a coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de pelos com pontas amarronzadas mais escuras desde o nariz até a região dos olhos, mas sem a formação de uma listra demarcada na região mediana do focinho. Observa-se também a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos, que se estende pelo focinho e contrasta com a coloração das bochechas e do alto da cabeça; a região ventral apresenta coloração geral esbranquiçada, queixo esbranquiçado com pelos completamente brancos, mas pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas brancas; pelos de base acinzentada e pontas brancas também penetram a região ventral, confinando os pelos brancos puros a uma estreita faixa (<1cm) na região central que se estende do peito até a região anal; escroto recoberto por pelos brancos e epitélio sem pigmentação; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada, mas a face ventral é um pouco mais clara; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente, mas ausência de fenestrações palatinas; cúspides acessória anterior ausente e posterior diminuta; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 11,50 mm e apenas dos quatro molares 5,66 mm; o comprimento total do crânio (CBL - comprimento côndilo-basal) foi de 30.11mm.

Rio Cuieiras: EE 192 - 201 -- 216

**EE 192** – Macho jovem. A pelagem dorsal apresenta coloração castanhoacinzentada relativamente uniforme; na cabeça, observa-se a presença de uma mascara marrom escura ao redor dos olhos, que se estende até o focinho em contraste com a coloração das bochechas e coroa (alto da cabeça); a região ventral apresenta coloração branca, com pelos inteiramente brancos desde o queixo até o início do abdomen, exceto pela presença de pelos de base cinza e pontas acastanhadas confinados às laterais na altura do pescoço; na região abdominal, a pele está completamente destruída, não sendo possível avaliar com segurança a presença ou não de uma faixa lateral de pelos de base cinza; escroto recoberto por pelos brancos e epitélio sem pigmentação; a cauda apresenta coloração uniformemente acinzentada tanto em sua face dorsal como ventral; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: esse espécime não tem crânio.

**EE 201** – Macho adulto (245-146-14-18=23g). A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme, mas observa-se a presença de pelos mais avermelhados no alto da cabeça e na região dos ombros; a coloração da região lateral do corpo não contrasta marcadamente com a coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de uma máscara marrom escura ao redor dos olhos, que se estende em direção ao focinho em contraste com a coloração das bochechas e coroa (alto da cabeça); coloração do focinho pouco mais pálida que a da coroa; a região ventral apresenta coloração branca, com pelos completamente brancos desde o queixo até a região anal, exceto pela presença de pelos de base cinza e pontas acastanhadas confinados às laterais na altura do pescoço e a uma estreita faixa de pelos (<5mm) na região abdominal; escroto recoberto por pelos brancos e epitélio sem pigmentação; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada tanto em sua face dorsal como ventral, embora esta seja um pouco mais clara; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas dos olhos, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 10,95 mm e apenas dos quatro molares 5,46 mm; o comprimento total do crânio não foi medido porque as extremidades anteriores dos nasais estão danificadas.

**EE 216** – Macho adulto (246-149-15-21,6=23g). Esse espécime não tem pele.

CRANIO: osso lacrimal contribui pouco para a formação da margem das órbitas

dos olhos, mas expõe lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de

fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam

cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes

pré-molares e molares superiores igual a 11,58 mm e dos quatro molares 5,76

mm; o comprimento total do crânio não foi medido porque o crânio está

danificado em sua região posterior.

Padrão II de banda C

Rio Madeira: INPA 5378 - 5381

INPA 5378 - Macho adulto (233-140-16-21=19,5g). Esse espécime não tem

pele. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas,

expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações

maxilopalatinas presente, enquanto não é possível afirmar se perfurações mais

posteriores no palato constituem fenestrações palatinas ou estragos no

assoalho do palato; caninos superiores apresenta cúspide acessória posterior

mas a anterior é diminuta; comprimento da carreira de dentes pré-molares e

molares superiores igual a 10,93 mm e apenas dos quatro molares 5,41 mm; o

comprimento total do crânio não foi medido porque região occipital encontra-se

danificada.

INPA 5381 – Fêmea jovem (174-96-14-21=9g). A pelagem dorsal apresenta

coloração castanho-acinzentada relativamente uniforme; a coloração da região

lateral do corpo apresenta-se um pouco mais pálida e acinzentada que a

coloração do dorso; na cabeça, observa-se a presença de uma máscara escura

ao redor dos olhos, que se estende pelo focinho e que contrasta com a

coloração das bochechas e da coroa; a região ventral apresenta coloração

geral esbranquiçada, queixo também esbranquiçado com pelos completamente

brancos, mas pescoço recoberto por pelos de base acinzentada e pontas

brancas; pelos de base acinzentada e pontas brancas também penetra pela

62

região ventral, confinando os pelos brancos puros a uma estreita faixa na região central do peito e aparentemente abdômen (pele na região abdominal um pouco danificada dificultando visualização; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada tanto em sua face dorsal como ventral; a coloração dos metacarpos e metatarsos não contrasta abruptamente com coloração dos dígitos. CRANIO: Esse espécime não tem crânio.

Rio Jarí: INPA 5235 - 5086

INPA 5235 – Fêmea jovem. A pelagem dorsal apresenta coloração castanho-avermelhada relativamente uniforme, e não contrasta com a lateral do corpo; na cabeça, observa-se a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos em contraste com a coloração das bochechas e do alto da cabeça; a pelagem ventral apresenta coloração geral branca, com pelos brancos desde puros desde o queixo até a região anal, mas é margeada por pelos de base acinzentada e pontas brancas em toda sua extensão; a cauda apresenta coloração uniforme acinzentada, mas é mais clara na face ventral; coloração dos metacarpos e metatarsos branco puro, similar a coloração dos dígitos. CRANIO: Esse espécime não tem crânio.

INPA 5086 – Fêmea adulta. A pelagem dorsal apresenta coloração castanhoavermelhada relativamente uniforme, e não contrasta com a lateral do corpo;
na cabeça, observa-se a presença de uma máscara escura ao redor dos olhos
em contraste com a coloração das bochechas e do alto da cabeça; a pelagem
ventral apresenta coloração geral branca, com pelos completamente brancos
recobrindo praticamente toda a região ventral, desde o queixo até a região
anal, mas margeada por pelos de base acinzentada e pontas brancas em toda
sua extensão; região das mamas apresenta coloração branco sujo; a cauda
apresenta coloração uniforme amarronzada mas mais clara na face ventral;
coloração dos metacarpos e metatarsos branco puro, similar a coloração dos
dígitos. CRANIO: osso lacrimal apresenta contribuição reduzida para a
formação da margem das órbitas, de tal modo que em vista lateral a abertura
do forâmen lacrimal encontra-se escondida dentro das órbitas; par de
fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam

cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 10,88 mm e dos quatro molares 5,40 mm; o comprimento total do crânio não foi medido porque o crânio está danificado em sua região posterior.

Rio Juruá: EE 107

**EE 107** – Macho adulto (230-132-17-18=20g). A pele deste exemplar não estava disponível quando o material foi examinado. CRANIO: osso lacrimal apresenta contribuição reduzida para a formação da margem das órbitas, de tal modo que em vista lateral a abertura do forâmen lacrimal encontra-se escondida dentro das órbitas; par de fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam cúspide acessória posterior, mas a anterior é ausente; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 10,60 mm e dos quatro molares 5,62 mm; o comprimento total do crânio não foi medido porque o crânio está danificado na região nasal.

**Rio Cuieiras: EE 198 – 211** 

**EE 198** – Fêmea adulta (211-120-15-24=15g). A pele deste exemplar não estava disponível quando o material foi examinado. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 10,94 mm e apenas dos quatro molares 5,45 mm; o comprimento total do crânio (CBL – comprimento côndilo-basal) foi de 25.85 mm.

**EE 211** – Fêmea adulta (240-135-13-20=18g). A pele deste exemplar não estava disponível quando o material foi examinado. CRANIO: osso lacrimal contribui para a formação da margem das órbitas, expondo lateralmente a abertura do forâmen lacrimal; par de fenestrações maxilopalatinas presente; caninos superiores apresentam cúspides acessórias anterior e posterior; comprimento da carreira de dentes pré-molares e molares superiores igual a 11,49 mm e apenas dos quatro molares 5,68 mm; o comprimento total do

crânio (CBL – comprimento côndilo-basal) foi de 28.08 mm.

B. Morfologia externa e craniana dos exemplares de *Monodelphis* spp.

As descrições morfológicas em Monodelphis foram embasadas nos trabalhos

de Pine & Handley (1984), Emmons & Feer (1997), Voss et al. (2001) e da

Silva et al. (2007). Os espécimes estão apresentados por número de

tombamento, de acordo com seu padrão cariotípico, e por drenagem de

ocorrência.

Padrão cariotípico: 4m+2sm+10st+XX/XY e número fundamental NF=32,

RON no par 5.

Rio Aripuanã e Rio Madeira: INPA 5215 e INPA 5388

INPA 5215 – Fêmea. Apresenta coloração dorsal composta de ampla faixa de

pelos de coloração cinza-escuro na base e pontas brancas, do focinho até

aproximadamente 3/4 do corpo, faixas laterais, flancos e patas com pelagem de

coloração vermelha-alaranjada. A pelagem ventral é de cor marrom-creme na

base e pontas marrons, com uma faixa central mais escura marrom-

acinzentada. Os pelos da cauda são vermelhos e presentes da base da cauda

até 1/3 na região dorsal e até ¼ na região ventral.

INPA 5388 - Macho (210-69-21-16=46,5g). Apresenta coloração dorsal

uniformemente marrom, ligeiramente acastanhada na região do focinho e

cauda praticamente desprovida de pêlos, mesmo na região basal. A coloração

ventral é marrom-acinzentado pálido, com faixa central amarelada na região do

peito e abdomen.

Padrão cariotípico: 4m+2sm+8st+2a+XX/XY, e número fundamental NF=30,

RON no X e no Y.

Rio Jari: INPA 5084, 5213, 5216. M. brevicaudata.

65

INPA 5084 – Macho. Apresenta coloração dorsal composta de ampla faixa de pelos de coloração cinza-escuro na base e pontas brancas, do focinho até aproximadamente ¾ do corpo, faixas laterais, flancos e patas com pelagem de coloração vermelha-alaranjada. A pelagem ventral é de cor marrom-creme na base e pontas marrons, com uma faixa central mais escura marromacinzentada. Os pelos da cauda são vermelhos e presentes da base da cauda

até 1/3 na região dorsal e até 1/4 na região ventral.

INPA 5213 – Macho (154-92-25-20=62g). Apresenta coloração dorsal composta de ampla faixa de pelos de coloração cinza-escuro na base e pontas brancas, do focinho até aproximadamente ¾ do corpo, faixas laterais, flancos e patas com pelagem de coloração vermelha-alaranjada. A pelagem ventral é de cor marrom-amarelada e uniforme. Os pelos da cauda são vermelhos e

presentes da base da cauda até 1/3 na região dorsal e até 1/4 na região ventral.

INPA 5216 – Macho (106-66-19-17=26g). Apresenta coloração dorsal composta de ampla faixa de pelos de coloração cinza-escuro na base e pontas claras, do focinho até aproximadamente ¾ do corpo, faixas laterais, flancos e patas com pelagem de coloração marrom-avermelhada. A pelagem ventral é de cor creme com pontas marrons, com uma faixa central mais escura marromacinzentada. Os pelos da cauda são marrom-avermelhados e presentes na base, adquirindo coloração marrom-acinzentada ao longo da cauda até 1/3 da região dorsal e até ¼ na região ventral.

Padrão cariotípico: 4m+6st+6a+XX, número fundamental NF=26, RON no par 3.

Rio Aripuanã: INPA 5404

INPA 5404 – Este exemplar apresenta padrão de pelagem de M. emiliae, com a região dorsal grisalha na altura das costas e castanho-avermelhada na região das ancas, pernas traseiras, e do focinho até o alto da cabeça. A região ventral é marrom acinzentada em toda sua extensão, manchada de pêlos rosados. Os pêlos da cauda estão presentes dorsal e ventralmente em toda a extensão da cauda, sendo mais abundantes na base e rareando gradualmente até a ponta.