



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
E BIOLOGIA CELULAR**

CELINA COELHO DA ROSA

**Caracterização cromossômica e mapeamento genômico comparativo de
Oecomys paricola e *Oecomys auyantepui* com sondas de *Hylaeamys
megacephalus* (Cricetidae – Sigmodontinae)**

BELÉM
2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
E BIOLOGIA CELULAR**

**Caracterização cromossômica e mapeamento genômico comparativo de
Oecomys paricola e *Oecomys auyantepui* com sondas de *Hylaeamys
megacephalus* (Cricetidae – Sigmodontinae)**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará (UFPA), como requisito para a obtenção do título de Doutor em Neurociências e Biologia Celular.

Área de concentração: Biologia Celular

Orientadora: Prof. Dra. Cleusa Yoshiko Nagamachi

Aos meus melhores amigos, Clélia e Perilo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado à vida e aos meus pais, Clélia e Perilo, pela compreensão, apoio, amizade, incentivo e por sempre fornecerem condições para realizar meus sonhos.

A minha orientadora, Professora Dr^a. Cleusa, pelo apoio, amizade, confiança, instrução e sugestões nestes vários anos de convivência diária. Esta tese de doutorado não se realizaria sem a sua importantíssima colaboração.

Ao Prof. Dr. Julio pelo exemplo diário.

Ao Dr. Rogério Rossi e Msc. Cleuton Miranda pela identificação dos roedores.

Agradeço desde já aos Membros da Banca da Defesa de Tese: Profa. Dra. Renata Coelho Rodrigues Noronha, Prof. Dr. Paulo José Siqueira do Amaral e ao Dr. Pablo Suárez pelas sugestões apresentadas.

As minhas amadas irmãs, Carolina e Carla, pelo companheirismo, exemplo de caráter, apoio e amor de sempre.

Ao meu sobrinho amado, Vinícius, por completar meu dia e me fazer mais feliz a cada sorriso e beijo.

A minha querida avó Celina, por todo amor e carinho que só a senhora sabe dar.

As minhas primas por toda uma vida cheia de amor e cumplicidade. Em especial a minha prima-irmã Bruna que esteve comigo em todos os momentos da minha vida.

As minhas amigas Bia e Maíra por apoio nas horas difíceis, me incentivando sempre, e compartilhando alegrias e tristezas.

As amigas Brenda, Daniela, Eryka, Luciana, Marcelle e Renata pela amizade e horas divertidas, cheias de amor, carinho e respeito.

Ao amigo Werlen pela dedicação, conselhos, conversas engraçadas e principalmente pela amizade incontestável de todos os momentos.

A amiga querida Natália, por todos os momentos bons e ruins que vivemos sempre juntas, pelos conselhos, brigas e conversas. Obrigada sempre!

Aos técnicos do laboratório: Conceição, pelo café de todos os dias e pela solidariedade sempre a disposição; ao Jorge pelas culturas e pelos puxões de orelha muitas vezes merecidos e necessários; a Shirley pela amizade, receitas, risadas, dicas e pelo carinho.

Aos colegas de Laboratório de Citogenética da UFPa e aos colegas do grupo de roedores Stella, Willan, Marlyson, e Vergiana por todo trabalho dividido e pelas inúmeras reuniões. Em especial a amiga Jamilly, por todo o carinho, amizade, pelas risadas e pela ajuda na edição das imagens.

Aos familiares, professores e meus inúmeros amigos que sempre me encorajaram e que de forma, direta ou indireta, contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível.

Quero me desculpar se deixei de agradecer alguém, mas se dediquei um minuto da minha vida a você, saiba que você é importante e tenha certeza que não te esqueci, apenas deixei de mencionar seu nome.

A UFPa, pelo apoio estrutural em todos esses anos.

A CAPES pelo apoio financeiro, através da bolsa de doutorado durante o desenvolvimento desta tese.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ORDEM RODENTIA.....	1
1.2 CLASSIFICAÇÃO DA ORDEM RODENTIA.....	3
1.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA CRICETIDAE E SUBFAMÍLIA SIGMODONTINAE.....	5
1.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A TRIBO ORYZOMYINI.....	6
1.5 GÊNERO <i>Oecomys</i>	10
1.5.1 HISTÓRIA TAXONÔMINA DO GÊNERO <i>Oecomys</i>	13
1.5.2 ESTUDOS FILEGENÉTICOS EM <i>Oecomys</i>	13
1.6 <i>Oecomys paricola</i>	15
1.7 DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA EM ROEDORES.....	15
1.7.1 DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA EM <i>Oecomys</i>	16
1.8 HIBRIDIZALÇÃO <i>In Situ</i> FLUORESCENTE (FISH).....	17
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 GERAL.....	21
2.2 ESPECÍFICOS.....	21
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
4 MANUSCRITO DO ARTIGO.....	29
5 CONCLUSÕES.....	45

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Representantes da diversidade de habitats em Roedores: Terrestre (<i>Bibimys labiosus</i>), semiaquático (<i>Nectomys squamipes</i>), arborícola (<i>Rhipidomys mastacalis</i>); semifossorial (<i>Blarinomys breviceps</i>), respectivamente. Fonte: Bonvicino et al. (2008).....	1
FIGURA 2	Dentição dos Roedores: Incisivos (setas vermelhas), molares e pré-molares (setas brancas), diastema (Reta amarela). Adaptado de Oliveira e Canola (2007).....	2
FIGURA 3	Distribuição geográfica da subfamília Sigmodontinae. Adaptada de < http://tolweb.org/images/Sigmodontinae/16548 >.....	5
FIGURA 4	Exemplar do gênero <i>Oecomys sp.</i> (Bonvincino et al., 2008).....	9
FIGURA 5	Distribuição das espécies de <i>Oecomys</i> no Brasil (Bonvincino et al., 2008).....	10
FIGURA 6	Relações filogenéticas propostas para o Gênero <i>Oecomys</i>	12
FIGURA 7	Cariótipo de <i>Hylaeamys megacephalus</i> G bandeado (Nagamachi et al., 2013).....	16
FIGURA 8	Cariograma de Fluxo de <i>Hylaeamys megacephalus</i> (Nagamachi et al., 2013).....	17

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Classificação mais atual segundo Musser e Carleton (2005).....	4
TABELA 2	Classificação tribal dos roedores sigmodontíneos.....	
		6
TABELA 3	Classificação atual da Tribo Oryzomyini. Baseado em Weksler e Percequillo (2011) e Pine, Timm e Weskler (2012)	7
TABELA 4	Diversidade cromossômica em <i>Oecomys</i> . Nota: 2n, número diplóide; NF, número fundamental; 1) Gardner & Patton (1976); 2) Patton et al. (2000); 3) Andrade & Bonvicino (2003); 4) Langguth et al. (2005) 5) Rosa et al., (2012) 6) De Lira (2012) 7) Asfora, et al. (2011).....	15

RESUMO

A Ordem Rodentia representa a mais numerosa ordem de mamíferos, com cerca de 42% das espécies conhecidas atualmente. Os roedores apresentam 2.227 espécies, 468 gêneros e 33 famílias recentes, sendo este último elevado para 50 se forem consideradas as famílias extintas. A enorme variação na morfologia, na diversidade de habitats e climas e na alimentação são as causas desta Ordem ser mais numerosa e melhor sucedida evolutivamente entre as ordens de mamíferos. O gênero *Oecomys* pertence à subfamília Sigmodontinae (Cricetidae, Rodentia) com aproximadamente 16 espécies descritas, distribuídas em floresta tropical e subtropical do Centro e do Sul da América. Estudos citogenéticos prévios sugerem que o gênero *Oecomys* apresenta uma grande diversidade cariotípica, com o número diplóide variando entre 58 e 86. No presente trabalho foram analisados, por meio de técnicas citogenéticas convencionais e pintura cromossômica multidirecional (Sondas cromossômicas de *Hylaeamys megacephalus* – HME), foram analisados 18 exemplares de *Oecomys*, sendo quatro coletados na região metropolitana de Belém, Pará; dois no Município de Santa Bárbara, Pará; cinco na região de Carajás, Pará e 7 na região do Calha Norte, Pará. Os exemplares do Parque Ambiental de Belém apresentaram $2n=72$ e $NF=76$; os exemplares de Santa Bárbara apresentaram $2n=70$ e $NF=74$ e os de Carajás apresentaram $2n=70$ e $NF=72$. Todos estes exemplares foram identificados como *O. paricola*. Os exemplares coletados do Calha Norte apresentaram $2n=62$ e $NF=80$ e foram identificados como *O. auyantepui*. Os citótipos descritos para *O. paricola* apresentaram diferenças em 5 picos de HME hibridizados, evidenciando 3 associações para esta espécie. Para *O. auyantepui* foram identificados 5 associações. As diferenças cromossômicas encontradas para *O. paricola* de diferentes regiões geográficas sugerem que estes citótipos pertencem a espécies crípticas, o que é caracterizado. Nós sugerimos que as populações de *O. paricola* são um complexo de espécies onde já ocorreu a diferenciação cromossômica, mas não diferenciação morfológica e molecular.

ABSTRACT

The Order Rodentia represents the largest mammal order, with approximately 42% of species currently known. Rodents have 2,227 species, 468 genera and 33 families recent, the latter being raised to 50 if the extinct families are considered. Their huge variation in morphology, diversity of habitats and climates and food are the causes of this be most numerous and evolutionarily successful among mammalian orders. The *Oecomys* genus belongs to the subfamily Sigmodontinae (Cricetidae, Rodentia) with approximately 16 described species, distributed in tropical and subtropical forest of Central and South America. Previous cytogenetic studies suggest that *Oecomys* features large karyotype diversity, with the diploid number ranging from 58 to 86. In this study were analyzed by conventional cytogenetic techniques and multidirectional chromosome painting (using whole chromosome probes of *Hylaeamys megacephalus*) 18 specimens of *Oecomys* were analyzed, four were collected in the metropolitan area of Belém, Pará; two in the city of Santa Barbara, Pará; five in the region of Carajás, Pará and 7 in Calha Norte region, Pará. Specimens from Belém Environmental Park had $2n = 72$ and $FN = 76$; specimens from Santa Barbara had $2n = 70$ and $FN = 74$; from Carajás presented $2n = 70$ and $FN = 72$. All this sample was identified as *O. paricola*. Specimens collected from the Calha Norte region had $2n = 62$ and $NF = 80$ and were identified as *O. auyantepui*. The cytotypes described for *O. paricola* showed differences in five HME peaks, indicating 3 associations for this species. *O. auyantepui* showed five associations. Chromosomal differences found for *O. paricola* from different geographic regions suggest that these cytotypes belong to cryptic species. We suggest that these populations of *O. paricola* are a complex of species where the chromosomal differentiation already happened but not the morphological and molecular ones.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ORDEM RODENTIA

A Ordem Rodentia representa a mais numerosa ordem de mamíferos, com cerca de 42% das espécies conhecidas atualmente. Os roedores apresentam 2.227 espécies, 468 gêneros e 33 famílias recentes, sendo este último elevado para 50 se forem consideradas as famílias extintas (MUSSEY, CARLETON, 2005). A enorme variação na morfologia, na diversidade de habitats e climas e na alimentação são as causas desta Ordem ser mais numerosa e mais diversificada evolutivamente entre as ordens de mamíferos (EMMONS, FEER, 1997).

Os roedores possuem corpo versátil e esguio, bem adaptado a diversos modos de vida e variados climas e altitudes, por isso apresentam habitats extremamente variados, podendo ser encontrados em ambientes como terrestre, arbóreo, semiaquático ou semifossorial. Podem ser encontrados em quase todas as áreas do planeta e são nativos na maioria das áreas terrestres, com exceção da Antártida (NOWAK, 1999; SMITH, PATTON, 1999; WILSON, REEDER, 2005; D'ELÍA et al., 2007; Figura 1)

Os representantes são, em sua maioria, de porte pequeno quando comparados com outras ordens, porém compreendem desde animais de poucos gramas até a capivara, com em média 80Kg (NOWAK, 1994). Os roedores são animais predominantemente herbívoros, porém apresentam uma grande variedade de hábitos alimentares, podendo ser insetívoros, piscívoros ou onívoros. Esta versatilidade alimentar tem sido considerada um dos principais fatores no notável sucesso das radiações adaptativas destes mamíferos (LANDRY, 1970).



Figura 1 – Representantes da diversidade de habitats em Roedores: Terrestre (*Bibimys labiosus*), semiaquático (*Nectomys squamipes*), arborícola (*Rhipidomys mastacalis*); semifossorial (*Blarinomys breviceps*), respectivamente. Fonte: Bonvicino et al. (2008)

Outra característica chave para o grande sucesso adaptativo dos roedores em diferentes nichos ecológicos está relacionado à estrutura da mandíbula e do crânio que dão suporte a um complexo sistema de músculos. Apresentam de três a cinco molares, sendo os incisivos

separados dos demais dentes por um espaço chamado de diastema. Não apresentam caninos, o que leva ao acúmulo de grande quantidade de alimento no espaço sem dente, que é repassado para trás sofrendo a ação maceradora dos molares. A mandíbula não possui superfície de encaixe com o crânio, o que permite a execução de movimentos de rotação na mastigação (SAVAGE, LONG, 1986; WILSON, REEDER, 1992). Possuem dois pares de dentes incisivos em forma de formão, um superior e um inferior, sendo o superior de crescimento ilimitado, que se sobrepõe sobre o par inferior, que tem como função cortar, fatiar, cavar, raspar e ferir (NOWAK, 1994) (Figura 2)

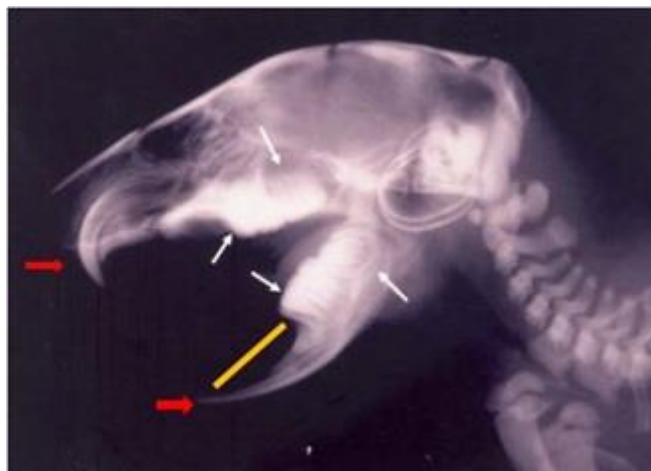


Figura 2 – Dentição dos Roedores: Incisivos (setas vermelhas), molares e pré-molares (setas brancas), diastema (reta amarela). Adaptado de Oliveira e Canola (2007)

Os roedores estão relacionados à doenças que podem acometer ao homem e também merecem uma atenção por isso. Os roedores silvestres são utilizados como animais de laboratório para emprego em pesquisas parasitológicas, pois muitas das espécies são hospedeiras naturais de agentes patogênicos. Muitos roedores são sinantrópicos e podem disseminar suas doenças através de pelos, urina, fezes e mordidas. Os roedores também podem ser disseminadores de outras enfermidades como: leptospirose, peste bubônica, tifo murino, salmonelose, triquinose, helmintoses, febre hemorrágica e hantavirose (GARDENAL, 2005; MURÚA, PADULA, 2005).

Os membros desta ordem são indispensáveis em quase todas as faunas, pois tem papel importante na cadeia alimentar, fazendo parte da dieta de algumas aves, mamíferos e reptéis, e na dispersão de sementes. Existem também espécies que são consideradas pragas, pois dão enormes prejuízos às lavouras. Por isso, alguns países estão promovendo o controle destes roedores através da construção de armadilhas tipo barreiras, controle biológico, minimização de refúgio e alimento, bem como controle de fertilidade destes roedores (JACOB, 2005).

1.2 CLASSIFICAÇÃO DA ORDEM RODENTIA

Inicialmente os roedores foram classificados em três grandes categorias subordinais: Sciuromorpha (sete famílias, 71 gêneros e 393 espécies), Hystricomorpha (18 famílias, 60 gêneros e 185 espécies) e Myomorpha (nove famílias, 223 gêneros e 1109 espécies) (SIMPSON, 1945; ANDERSON, 1967). Esta classificação levou em consideração as diferenças na estrutura craniana e nos padrões de especialização do músculo masseter e principalmente nas relações deste com o conduto infraorbitário. Entretanto, atualmente acredita-se que as especializações deste músculo possam ter surgido independentemente, não sendo, desta forma, relevantes para a classificação dos roedores. A grande diversidade morfológica, o número considerável de ramos de descendência e a evolução paralela de caracteres muito similares em alguns grupos de roedores geraram controvérsias quanto à sua classificação taxonômica. A classificação mais atual (MUSSER, CARLETON, 2005) baseia-se especialmente na morfologia e análise de dados moleculares e reconhece cinco subordens (Tabela 1): Anomaluomorpha com duas famílias, Castorimorpha com três famílias, Myomorpha com duas superfamílias e sete famílias, Sciuromorpha com três famílias e Hystricomorpha com duas infraordens e vinte famílias.

Tabela 1. Classificação mais atual segundo Musser e Carleton (2005)

Myomorpha	Família Dipodidae Família Nesomyidae Família Cricetidae Família Muridae Família Platacanthomyidae Família Spalacidae Família Calomyscidae
Anomaluromorpha	Família Anomaluridae Família Pedetidae
Castorimorpha	Família Castoridae Família Heteromyidae Família Geomyidae
Hystricomorpha	Família Bathyergidae Família Hystricidae Família Petromuridae Família Ctenomyidae Família Echimyidae Família Thryonomyidae Família Erethizontidae Família Chinchillidae Família Dinomyidae Família Caviidae Família Dasyproctidae Família Cuniculidae Família Ctenomyidae Família Octodontidae Família Abrocomidae Família Myocastoridae Família Capromyidae Família Heptaxodontidae Família Ctenodactylidae Família Diatomyidae
Sciuromorpha	Família Aplodontiidae Família Sciuridae Família Gliridae

A Subordem Myomorpha está dividida duas superfamílias: Muroidea e Dipodoidea. Muroidea é um táxon monofilético composto por seis famílias (Nesomyidae, Cricetidae, Muridae, Platacanthomyidae, Spalacidae e Calomyscidae), 130 gêneros e 700 espécies atualmente descritas (MUSSER, CARLETON, 2005; WILSON , REEDER, 2011). Esta superfamília é caracterizada por ausência de pré-molares, tamanho decrescente dos molares, presença de forâmen infra-orbital amplo, frontais comumente estreitos, bulas pouco desenvolvidas e jugais curtos (CARLETON, MUSSER, 1984). Sua monofilia é fortemente apoiada por estudos paleontológicos, morfológicos e moleculares (CARLETON, MUSSER, 1984; MUSSER, CARLETON, 2005).

1.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA CRICETIDAE E SUBFAMÍLIA SIGMODONTINAE

Os cricetídeos representam a segunda maior família de mamíferos e a mais diversificada no Brasil. Diversos estudos morfológicos mostraram uma série de diferenças entre os Cricetideos Norte e Sul– Americanos, como por exemplo, diferenças na morfologia peniana, na anatomia das glândulas acessórias do sistema reprodutor masculino, na morfologia do estômago, na microestrutura do pelo e parasitologia (REIG, 1984). Cricetidae apresenta seis subfamílias, dentre as quais, Sigmodontinae é a segunda maior em número de espécies e representantes na biodiversidade de roedores na América do Sul (SWIER et al., 2009). A subfamília tem distribuição geográfica restrita às Américas, sendo a maioria encontrada na América do Sul e apenas quatro gêneros ocupando a América Central e do Norte (Figura 3).



Figura 3. Distribuição geográfica da subfamília Sigmodontinae. Adaptada de <<http://tolweb.org/images/Sigmodontinae/16548>>

Baseado na morfologia e sistemática molecular, Sigmodontinae abriga atualmente 380 espécies em 84 gêneros e nove tribos: Abrotrichini, Akodontini, Ichthyomyini, Oryzomyini, Phyllotini, Reithrodontini, Sigmodontini, Thomasomyini e Wiedomyini (SMITH, PATTON, 1999; MUSSER, CARLETON, 2005; WILSON, REEDER, 2005; D'ELÍA et al., 2007; Tabela 2). Anteriormente, as classificações levavam em consideração apenas dados morfológicos (REIG, 1984; MUSSER, CARLETON, 2005). Baseado na análise dos padrões de diversidade e da distribuição atual das várias tribos, acredita-se que esse grupo teve origem na América do Norte e que diversificou, gradativamente, na América do Sul, no Mioceno inferior e Oligoceno Superior (REIG, 1984). Alguns estudos, que levam em consideração caracteres de estruturas crânio-dentárias e em dados cromossômicos, sugerem Oryzomyini como sendo a tribo mais primitiva dentro de Sigmodontinae (GARDNER, PATTON, 1976; REIG, 1984; EISENBERG, REDFORD, 1999). Porém, estudos mais recentes que levam em consideração dados moleculares consideram Sigmodontini como tribo mais primitiva (ENGEL et al., 1998; SMITH, PATTON, 1999; D'ELÍA, 2003; WEKSLER, 2006).

Tabela 2. Classificação tribal dos roedores sigmodontíneos. Entre parênteses a número de gêneros de cada tribo.

Reig (1984)	Musser e Carleton (2005)	D'Elia et al. (2007)
Akodontini (10)	Akodontini (19)	Abrotrichini (5)
Ichthyomyini (4)	Ichthyomyini (5)	Akodontini (14)
Oryzomyini (13)	Oryzomyini (18)	Ichthyomyini (5)
Phyllotini (14)	Phyllotini (14)	Oryzomyini (26)
Scapteromyini (3)	Reithrodontini (3)	Phyllotini (10)
Sigmodontini (2)	Sigmodontini (1)	Reithrodontini (1)
Wiedomyini (1)	Thomasomyini (4)	Sigmodontini (1)
<i>Incertae sedis</i> (4)	Wiedomyini (1)	Thomasomyini (5)
	<i>Incertae sedis</i> (8)	Wiedomyini (1)
		<i>Incertae sedis</i> (11)

1.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A TRIBO ORYZOMYINI

Oryzomyini é a tribo mais diversa dentro de Sigmodontinae e abrange cerca de 35% dos roedores sigmodontíneos, com 130 espécies agrupadas em 33 gêneros existentes ou recentemente extintos (PERCEQUILLO, WEKSLER, COSTA, 2011; WEKSLER,

PERCEQUILLO, 2011; PINE, TIMM, WEKSLER, 2012) (Tabela 3). Apresentam uma ampla distribuição geográfica que cobre toda a região Neotropical e ocorrem desde o extremo sul da América do Sul (Tierra del Fuego) ao leste dos Estado Unidos (WEKSLER, 2006; TURVEY et al., 2010). São encontrados em quase todos os biomas da América do Sul como savanas, florestas, banhados, campos e ambientes semi-árido, sendo, geralmente, os mais abundantes pequenos mamíferos dessas áreas (VOSS, EMMONS, 1996; EISENBERG, 1999). Esses animais possuem hábitos alimentares que vão de onívoros à insetívoros, ampla diversidade morfológica e hábito predominantemente cursorial, mas também podem desenvolver hábito arbóreo ou semi-aquático.

Tabela 3. Classificação atual da Tribo Oryzomyini. Baseado em Weksler (2006) e Pine, Timm e Weskler (2012). Legenda: † extintos.

Ordem Rodentia
Subordem Myomorpha
Superfamília Muroidea
Família Cricetidae
Subfamília Sigmodontinae
Tribo Oryzomyini (33, 130)
Gênero <i>Aegialomys</i> (2)
Gênero <i>Agathaeromys</i> † (2)
Gênero <i>Amphinectomys</i> (1)
Gênero <i>Carletonomys</i> † (1)
Gênero <i>Cerradomys</i> (6)
Gênero <i>Drymoreomys</i> (1)
Gênero <i>Eremoryzomys</i> (1)
Gênero <i>Euryoryzomys</i> (6)
Gênero <i>Handleyomys</i> (2)
Gênero <i>Holochilus</i> (4)
Gênero <i>Hylaeamys</i> (7)
Gênero <i>Lundomys</i> (1)
Gênero <i>Megalomys</i> † (4)
Gênero <i>Melanomys</i> (3)
Gênero <i>Microakodontomys</i> (1)
Gênero <i>Microryzomys</i> (2)
Gênero <i>Mindomys</i> (1)
Gênero <i>Neacomys</i> (7)
Gênero <i>Nectomys</i> (5)
Gênero <i>Nephelomys</i> (14)
Gênero <i>Nesoryzomys</i> (4)
Gênero <i>Noronhomys</i> † (1)
Gênero <i>Oecomys</i> (16)
Gênero <i>Oligoryzomys</i> (18)
Gênero <i>Oreoryzomys</i> (1)
Gênero <i>Oryzomys</i> (8)
Gênero <i>Pennatomys</i> † (1)
Gênero <i>Pseudoryzomys</i> (1)
Gênero <i>Scolomys</i> (2)
Gênero <i>Sigmodontomys</i> (1)
Gênero <i>Saoretamys</i> (1)
Gênero <i>Transandinomys</i> (2)
Gênero <i>Zygodontomys</i> (3)

Esta tribo foi cladisticamente definida por Voss e Carleton (1993) quando estabelecem cinco sinapomorfias para a tribo: ausência de vesícula biliar, ausência de cobertura timpânica, presença de um palato longo, ausência da barra do alisfenóide e presença de um par peitoral de mamas. Weksler e Percequillo (2011) propuseram um novo arranjo classificatório para facilitar a identificação de roedores oryzomíneos com sete sinapomorfias para a tribo, desconsiderando a presença de um par peitoral de mamas e incluindo 12 vértebras torácicas, ausência de arcos hermais na primeira vertebra caudal e menos de 36 vertebra caudais.

A tribo Oryzomyini é considerada um táxon monofilético através de filogenias geradas a partir de caracteres morfológicos (WEKSLER et al., 2006) e com análises de sequências dos genes *cyt-b* (PATTON, DA SILVA, 1995) e *IRBP* (*Interphotoreceptor Retinoid Binding Protein*) (WEKSLER, 2003, 2006; D'ELÍA et al., 2007; AVARIA-LIAUTUREO et al., 2012). Outros autores discordam do caráter monofilético da tribo (SMITH, PATTON, 1999; BONVICINO, MOREIRA, 2001; BONVICINO et al., 2003), o que mostra a necessidade de estudar maior número de táxons e de utilizar marcadores moleculares para gerar uma árvore mais robusta, e esclarecer de modo satisfatório as relações entre os oryzomíneos. A classificação mais recente considera 28 gêneros para a tribo Oryzomyini (Weskler et al., 2006)

1.5 GÊNERO *Oecomys*

As espécies deste gênero (Figura 4) têm tamanho de pequeno a médio porte, sendo a cauda maior que o comprimento do corpo. O dorso varia de castanho-escuro a castanho-alaranjado, com laterais mais claras que o dorso e limite bem definido em relação ao ventre. A pelagem do ventre pode ser completamente branca, creme com pêlos de base cinza, ou com este segundo padrão e manchas completamente brancas ou cremes na linha mediana do ventre. A pelagem da cabeça é geralmente similar à do corpo. As patas são relativamente curtas, largas e claras, com uma mancha ligeiramente escura na superfície dorsal e almofadas planares bem desenvolvidas. A cauda apresenta porção terminal pilosa, que pode ou não formar um pincel caudal. Possuem quatro pares de mamas: peitoral, pós-axial, abdominal e inguinal (BONVICINO et al., 2008).

As espécies de *Oecomys* são de hábito noturno, podem viver em pares, em família ou em colônias. São arborícolas e habitam as áreas florestais da Floresta Amazônica e Mata Atlântica, além de matas de galeria e outras formações florestais do Cerrado e Pantanal. Podem fazer ninhos em buracos de árvores, emaranhado de epífitas ou trepadeiras, copas de palmeiras ou ninhos de pássaros abandonados. Normalmente estes roedores buscam alimentos

nas árvores, mas podem ir até o chão em busca de água e alimento (HERSHKOVITZ, 1960; OLIVEIRA & BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).



Figura 4. Exemplar do gênero *Oecomys* sp. (Bonvincino et al., 2008).

O gênero *Oecomys* conta com dezesseis espécies atualmente reconhecidas como válidas (MUSSER, CARLETON, 2005; OLIVEIRA, BONVICINO, 2006; CARLETON, EMMONS, MUSSER, 2009): *Oecomys auyantepui* Tate, 1939, *O. bicolor* Thomas, 1860, *O. catherinae* Thomas 1909, *O. cleberi* Locks, 1981, *O. concolor* Wagner, 1845, *O. flavicans* Thomas, 1894, *O. mamorae* Thomas, 1906, *O. paricola* Thomas, 1904, *O. phaeotis* Thomas, 1901, *O. rex* Thomas, 1910, *O. roberti* Thomas, 1904, *O. rutilus* Anthony 1921, *O. speciosus* Allen & Chapman, 1893, *O. superans* Thomas, 1911, *O. sydandersoni* Carleton, Emmons & Musser, 2009 e *O. trinitatis* Allen & Chapman, 1893, distribuídas em áreas de floresta tropical e subtropical das Américas Central e do Sul, incluindo Costa Rica, Trinidad, Panamá, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Brasil (HERSHKOVITZ, 1960). A Figura 5 mostra a distribuição das doze espécies encontradas no Brasil (BONVICINO et al., 2008).

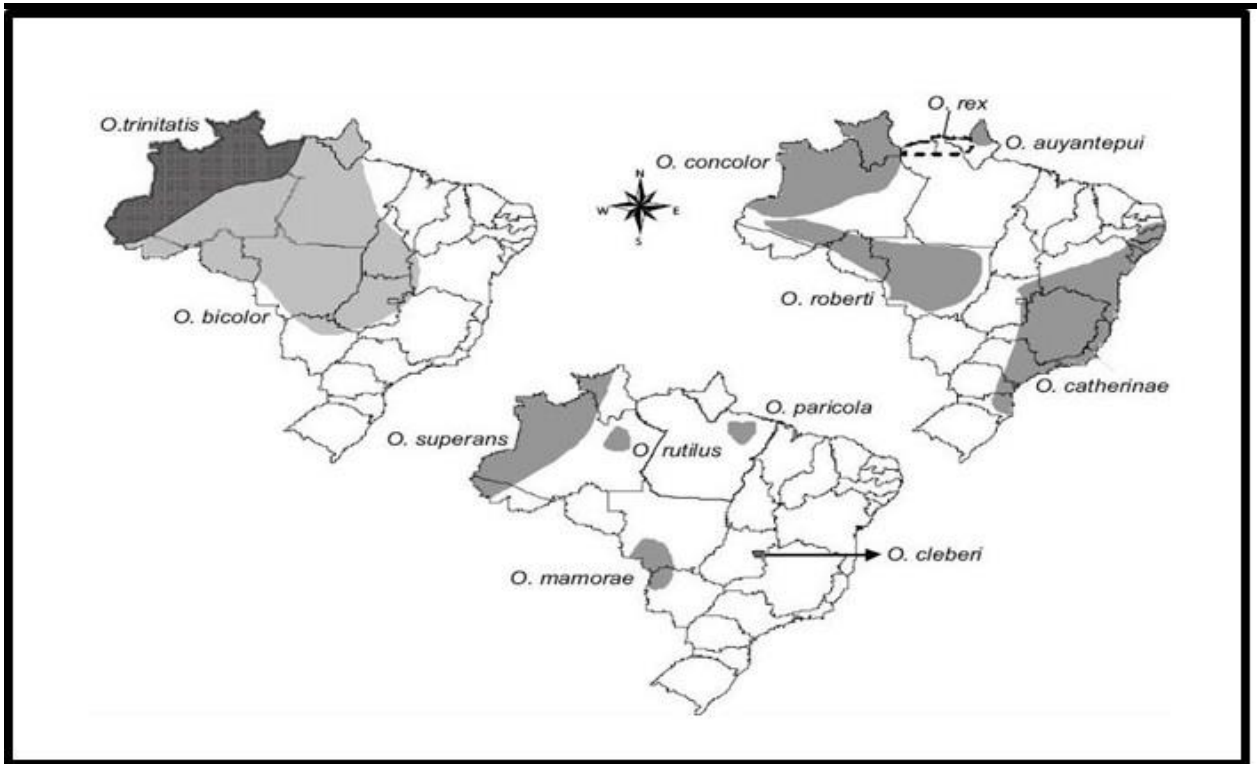


Figura 5. Distribuição das espécies de *Oecomys* no Brasil (Bonvincino et al., 2008)

Para a Amazônia brasileira são conhecidas nove espécies de *Oecomys* assim distribuídas: *Oecomys auyantepui*, presente na Venezuela, Guianas e Brasil, no Estado do Amapá; *O. bicolor*, presente do Panamá à Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Venezuela, Guianas e no Brasil, nos Estados do Amapá, Roraima, Amazonas, Pará, Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais e no Distrito Federal; *O. concolor*, presente no Brasil, nos Estados do Amazonas e Roraima, e também na Venezuela, Colômbia e Bolívia; *O. paricola*, registrado apenas para o Estado do Pará; *O. roberti*, presente no Brasil, no Estado do Mato Grosso, Amazonas e Rondônia, e na Bolívia, Peru, Venezuela e Guianas; *O. rutilus*, presente na Venezuela, Guianas e no Brasil, no Estado do Amazonas; *O. superans*, com ocorrência na Colômbia, Equador, Peru e Brasil, nos Estado do Acre, Amazonas e Roraima e *O. trinitatis*, estendendo-se da Costa Rica até o Brasil, incluindo Guianas, Trinidad e Tobago, Colômbia até o Perú, e no Brasil os Estados do Acre, Amazonas, Roraima e Pará (BONVICINO et al., 2008).

1.5.1 HISTÓRIA TAXONÔMICA DO GÊNERO *Oecomys*

O gênero *Oecomys* foi primeiramente considerado espécie do gênero *Rhipidomys* e posteriormente considerado um subgênero de *Oryzomys*. Entretanto, alegando similaridades entre as espécies de *Oecomys* e *Oryzomys*, Ellerman (1941) questionou a validade deste táxon, até mesmo como subgênero. Hershkovitz (1960) realizou a única revisão taxonômica ampla para o gênero *Oecomys*, o considerando subgênero de *Oryzomys*. Este autor, tomando por base as características como tamanho do corpo, proporção do tamanho do pé e da cauda em relação ao do corpo e grau de desenvolvimento da crista temporal, alocou 25 nomes científicos reconhecidas na época para apenas duas: *O. bicolor* e *O. concolor*. Posteriormente, por ser fortemente diferenciado sob o ponto de vista cariotípico, o subgênero *Oecomys* foi elevado ao nível de gênero (GARDNER, PATTON, 1976), sendo apoiado por Carleton & Musser (1984) e Reig (1984, 1986). Somente a partir do trabalho de Musser e Carleton (1993) tornou-se consenso o status genérico de *Oecomys*.

1.5.2 ESTUDOS FILOGENÉTICOS EM *Oecomys*

As informações sobre relações filogenéticas dentro deste gênero ainda são parciais, visto que nenhum estudo inclui todas as espécies do gênero, porém todas as filogenias apontam para o monofiletismo deste grupo (PATTON, DA SILVA, 1995; SMITH & PATTON, 1999; PATTON et al., 2000, WEKSLER, 2003, ANDRADE, BONVICINO, 2003; WEKSLER, 2006; ROCHA et al., 2012; PINE, TIMM, WEKSLER, 2012).

Os primeiros trabalhos que estabeleceram propostas filogenéticas para as espécies do gênero *Oecomys* utilizaram dados moleculares de sequências do gene mitocondrial citocromo-b (PATTON, DA SILVA, 1995; SMITH & PATTON, 1999; PATTON et al., 2000, ANDRADE, BONVICINO, 2003). Weksler et al. (2006) analisaram dados morfológicos, além de dados moleculares do gene IRBP. Os trabalhos mais recentes propuseram filogenias mais abrangentes, pois levaram em consideração um número maior de gêneros (ROCHA et al., 2012) e sequências do gene mitocondrial citocromo-b, o primeiro éxon do gene nuclear *IRBP* e RNA ribossomal 12S (PINE, TIMM, WEKSLER, 2012; Figura 6).

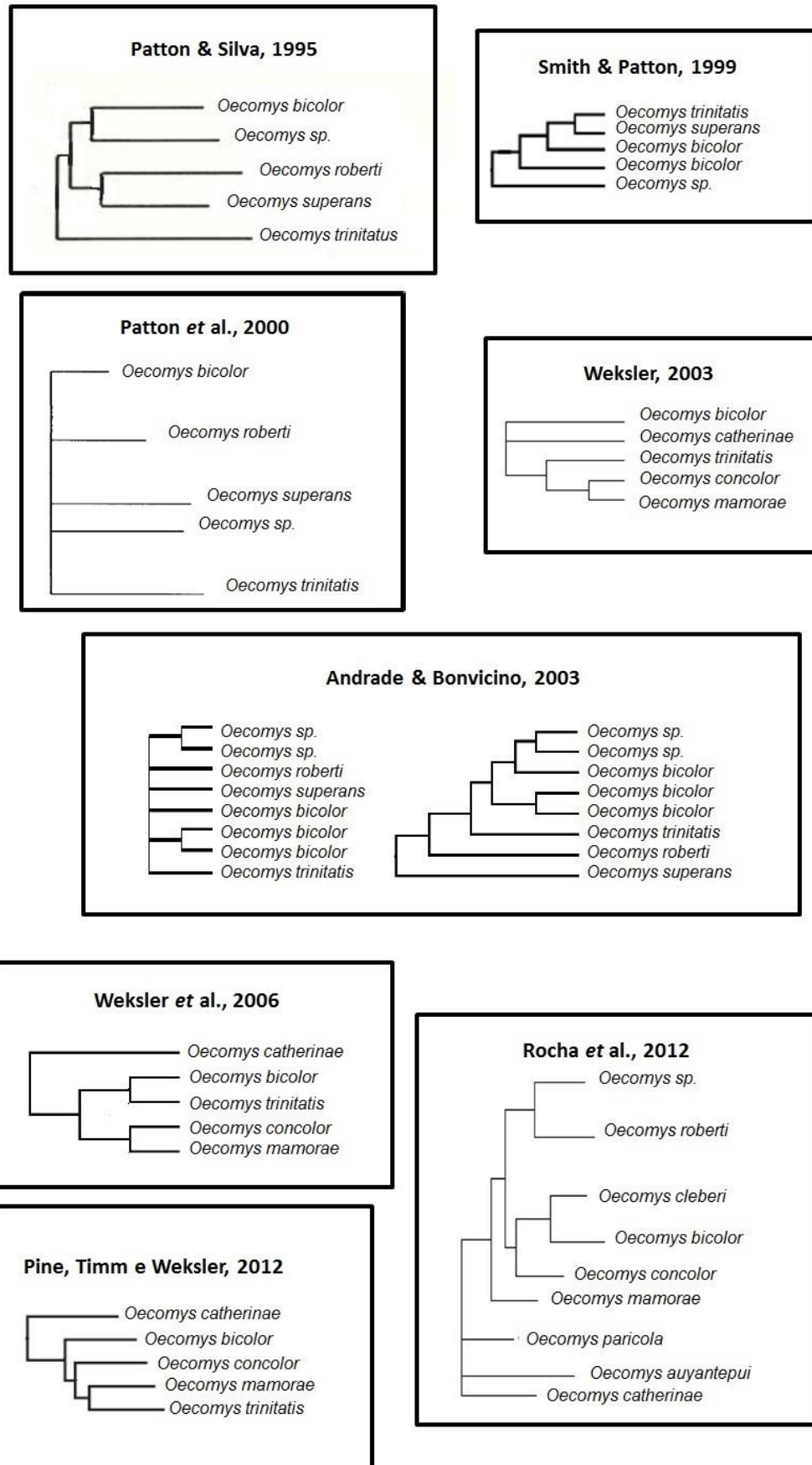


Figura 6. Relações filogenéticas propostas para o Gênero *Oecomys*.

1.6 *Oecomys paricola*

Oecomys paricola ocorre estritamente no Brasil, ao Sul do Rio Amazonas, a partir da margem direita do Rio Xingu para a fronteira leste do estado do Pará, incluindo a ilha de Marajó. Esta espécie foi primeiramente descrita por Thomas (1904), sob o gênero *Rhipidomys* como uma das espécies do grupo *Rhipidomys dryas*. A espécie tipo de *O. paricola* é uma fêmea coletada em Igarapé-Açu, Estado do Pará, Brasil. Cabrera (1960) considerou-a como uma subespécie de *Oryzomys (Oecomys) bicolor*. Musser & Carleton (1993) reconheceu *Oecomys paricola* como uma espécie válida e também incluiu *O. auyantepui* Tate, 1939 como seu sinônimo júnior. No entanto, *O. auyantepui* foi revalidado por Voss et al. (2001) e sugeriram que *Oecomys paricola* e *O. auyantepui* podem ser grupos irmãos. Porém, a partir de análises filogenéticas essas espécies não foram intimamente relacionadas apesar de se assemelham e diferenciam apenas por alguns caracteres cranianos (ROSA et al., 2011).

1.7 DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA EM ROEDORES

Rearranjos cromossômicos estruturais balanceados tipo inversões, translocações, fusões-fissões cêntricas e fusões *in tandem* que, no heterozigoto estrutural tem efeito de heterose negativa, podem ocupar um papel significativo no processo de especiação (KING, 1993). Os roedores, devido às características populacionais como alta reprodutividade, baixa mobilidade e ocupação de nichos restritos (formam pequenos demes) são bons modelos para estudos de especiação cromossômica (WILSON et al., 1975; BUSH et al., 1977).

Os roedores apresentam vários casos de polimorfismos cromossômicos e sistemas de cromossomos sexuais incomuns (AMARAL et al., 2013; VENTURA et al., 2012; PAREDEDA; NOVELLO, 2012), sugerindo a ocorrência de taxas desiguais de evolução cromossômica em diferentes grupos de roedores, o que pode indicar uma evolução independente desses grupos (MATTHEY, 1972). Segundo Wilson et al. (1974) a evolução cromossômica e a evolução morfológica ocorrem paralelamente, porém White (1978) acredita que a história evolutiva de vários roedores pode ser contada através dos cromossomos, assim eles podem ter um importante papel no processo de especiação, explicando a ocorrência de vários casos de espécies crípticas descritas (PEPPERS, BRADLEY, 2000; DOBIGNY et al., 2002; ROSA et al., 2012). Segundo Patterson (2002), há uma grande quantidade de roedores de difícil identificação taxonômica e que somente as características morfológicas não são suficientes para a diferenciação em espécies, sendo necessário realizar a análise

cromossômica e posterior comparação com dados morfológicos para uma correta classificação do exemplar.

Os roedores em geral são um excelente grupo para estudos citogenéticos, principalmente por apresentarem uma história evolutiva bastante complexa, como pode ser observado através da grande diversidade morfológica e cariológica evidenciadas em algumas revisões citogenéticas realizadas (WEKSLER, BONVICINO, 2005; BONVICINO et al., 2009; ROCHA et al., 2011)

1.7.1 DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA EM *Oecomys*

O gênero *Oecomys* apresenta uma grande diversidade cariotípica, com o número diplóide variando entre 58 e 86 (Tabela 4), sugerindo um alto grau de reorganização cromossômica. O primeiro estudo citogenético nesse gênero foi realizado por Gardner & Patton (1976), identificando três populações dentro de *Oecomys*, sendo uma relacionada a *Oecomys bicolor* ($2n=80$, $NF=134-136$) e duas relacionadas a *Oecomys concolor* ($2n=80$, $NF=108$; $2n=60$, $NF=62$).

Para *Oecomys paricola* foram descritos três citótipos ($2n=68$, $NF=72$; $2n=70$, $NF=72$; $2n=70$, $NF=76$), o que indica que a diferenciação morfológica desses roedores não está acompanhando a diversificação cromossômica, já que estes não apresentam diferenças morfológicas consideráveis (ROSA et al., 2012).

Dentro do gênero *Oecomys* apenas nove espécies contam com o cariótipo descrito, sendo que duas foram descritas e não nomeadas (ANDRADE, BONVICINO, 2003; LANGGUTH et al., 2005). Os roedores, devido às características populacionais que apresentam, desenvolveram-se como o grupo mais especioso de mamíferos em florestas neotropicais e um dos mais interessantes para estudos da variabilidade genética e de evolução entre os vertebrados. A análise citogenética comparativa entre espécies distintas permite detectar diferenças cromossômicas e entender os mecanismos de rearranjos cromossômicos que atuaram na diversificação das espécies. Além disso, constitui uma ferramenta bastante útil para auxiliar na identificação taxonômica e na compreensão das relações filogenéticas entre os diferentes grupos (HASS et al., 2008; ROMANENKO et al., 2011)

Tabela 4. Diversidade cromossômica em *Oecomys*. Nota: 2n, número diplóide; NF, número fundamental; 1) Gardner & Patton (1976); 2) Patton et al. (2000); 3) Andrade & Bonvicino (2003); 4) Langguth et al. (2005) 5) Rosa et al., (2012) 6) Asfora, et al. (2011).

Especie	2n	NF	Autor
<i>Oecomys paricola</i>	68	72	5
<i>Oecomys paricola</i>	70	76	5
<i>Oecomys paricola</i>	70	72	5
<i>Oecomys trinitatis</i>	58	96	2
<i>Oecomys bicolor</i>	80	134-136	1
<i>Oecomys bicolor</i>	80	140	2
<i>Oecomys concolor</i>	60	62	1, 2 e 3
<i>Oecomys roberti</i>	80	114	2
<i>Oecomys roberti</i>	82	106	4
<i>Oecomys superans</i>	80	108	1, 2 e 3
<i>Oecomys catherinae</i>	60	62	6
<i>Oecomys catherinae</i>	60	64	4,6
<i>Oecomys trinitatis</i>	58	96	2
<i>Oecomys sp.</i>	72	90	2
<i>Oecomys sp.</i>	86	96	2

1.8 FISH EM ROEDORES

A pintura cromossômica é atualmente o método escolhido para estudos citogenéticos comparativos em roedores. O primeiro trabalho de pintura cromossômica em roedores foi realizado utilizando as sondas humanas (HSA) em *Mus musculus*, porém foram encontrados somente alguns pares em homologia para estas espécies, o que mostra a natureza altamente rearranjada do genoma desse roedor (SCHERTHAN et al., 1994). A comparação mais detalhada entre o genoma humano e o de *Mus musculus* só foi facilitado pela disponibilidade de todo o genoma para ambas as espécies (GUIGO et al., 2003). A primeira comparação por pintura cromossômica entre dois genomas de roedores foi realizada entre *Mus musculus* (MMU) e *Rattus norvegicus* (GRUTZNER et al., 1999; GUILLY et al., 1999; STANYON et al., 1999). Atualmente, sondas de *Mus musculus* são comercialmente disponíveis e tem sido amplamente utilizadas em representantes da sua subordem. Entretanto, em comparação com outros roedores, seus cromossomos são altamente rearranjados, o que dificulta a interpretação principalmente de espécies com genomas conservados e/ou distantes filogeneticamente (ROMANENKO et al., 2012).

Para a subfamília Sigmodontinae somente 20 espécies foram mapeadas (HASS et al., 2008; VENTURA et al., 2009; HASS et al., 2011; ROMANENKO et al., 2012; NAGAMACHI et al., 2013). Hass et al. (2008) estabeleceram um mapa de homologia entre *Mus musculus* e cinco espécies da tribo Akodontini. Swier et al. (2009) examinaram a evolução cromossômica de nova espécies do gênero *Sigmodon*. Ventura et al. (2009) identificou as homologias cromossômicas entre quatro espécies de Akodon por pintura recíproca. Hass et al. (2011) também utilizando sonda de *Mus musculus* mapeou mais duas espécies (*Necomys lasiurus* e *Thaptomys nigrita*). Sondas de *Hylaeamys megacephalus* (HME) foram produzidas por citometria de fluxo (NAGAMACHI et al., 2013, Figura 7 e Figura 8). As sondas foram utilizadas para o mapeamento genômico comparativo do cariótipo de *Cerradomys languthi* (NAGAMACHI et al., 2013) onde foram observados uma extensa reorganização genômica entre essas espécies. A utilização de sondas cromossomo-específicas de HME em indivíduos mais próximos filogeneticamente devem fornecer um melhor entendimento dos processos de mudança cariotípica que ocorreram dentro do grupo, e a elaboração de um possível cariótipo ancestral.

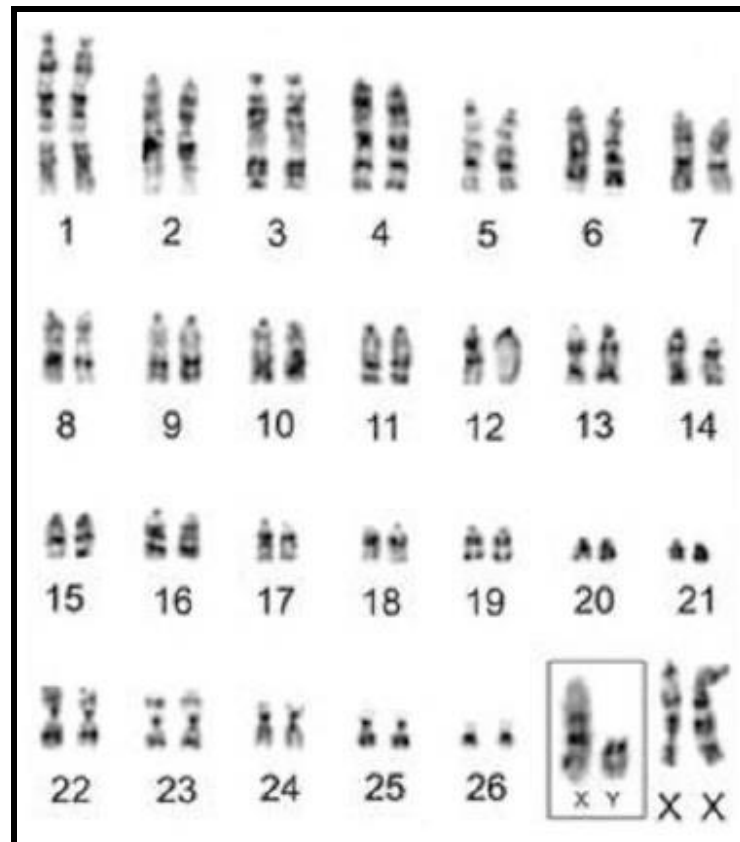


Figura 7. Cariótipo de *Hylaeamys megacephalus* G bandeado (Nagamachi et al., 2013).

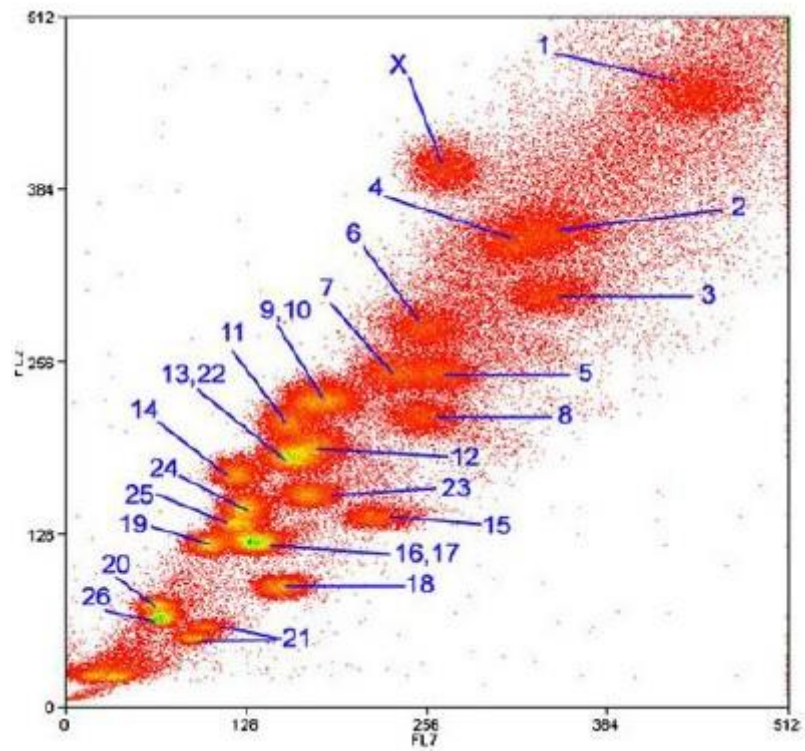


Figura 8. Cariograma de Fluxo de *Hylaeamys megachephalus* (Nagamachi et al., 2013)

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar comparativamente os cariótipos dos diferentes citótipos da espécie *Oecomys paricola* e de *Oecomys auyantepui* por citogenética clássica e pintura cromossômica com sondas de *Hylaeamys megacephalus* (HME, NAGAMACHI et al., 2013), visando compreender os mecanismos de reorganização cromossômica responsáveis pela variação intra intraespecífica e contribuir para o entendimento da história evolutiva dessas espécies.

2.2 Específicos

Os objetivos específicos são:

- a) Caracterizar os cariótipos (2n e NF) de *Oecomys paricola*, organizando os cromossomos de acordo com a classificação morfológica;
- b) Caracterizar o cariótipo (2n e NF) de *Oecomys auyantepui*, organizando os cromossomos de acordo com a classificação morfológica;
- c) Realizar as técnicas de bandeamento G e C;
- d) Realizar técnicas de FISH com sondas teloméricas e rDNA;
- e) Fazer o mapeamento genômico comparativo utilizando as sondas cromossômicas de *H. megacephalus*;
- f) Realizar uma análise comparativa entre os cariótipos da espécie *O. paricola* e *O. auyantepui* com os de HME;
- g) Realizar uma análise comparativa entre os diferentes citótipos da espécie *O. paricola*.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, P. J. S.; NAGAMACHI, C. Y.; NORONHA, R. C. R.; COSTA, M. J. R.; PEREIRA, A. L.; ROSSI, R. V.; MENDES-OLIVEIRA, A. C.; PIECZARKA, J. C. *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae): characterization and taxonomic considerations of a form with a very low diploid number and a multiple sex chromosome system. **BMC Genetics**. 14:21. doi:10.1186/1471-2156-14-21. 2013.
- ANDERSON, S. Introduction to Rodents. In: **Recent Mammals of the world. A Synopsis of Families**. Anderson, S. & Jones jr., J.K. The Ronald Press Company, New York, p. 206 – 209. 1967.
- ANDRADE, A. F. B; BONVICINO, C. R. A new karyological variant of *Oecomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and its phylogenetic relationship based on molecular data. **Genome**. 46:195-203. 2003.
- ASFORA, P.H.; PALMA, A.R.T.; ASTÚA, D.; GEISE, L. Distribution of *Oecomys catherinae* Thomas, 1909 (Rodentia: Cricetidae) in northeastern Brazil with karyotypical and morphometrical notes. **Biota Neotropica** 11(2): 1-10. 2011.
- AVARIA-LIAUTUREO, J.; HERNÁNDEZ, C. E.; BORIC-BARGETTO, D.; CANALES-AGUIRRE, C. B.; MORALES-PALLERO, B. Body size evolution in extant Oryzomyini rodents: Cope's Rule or Miniaturization? **PLoS ONE**. 7(4): e34654. doi:10.1371/journal.pone.0034654. 2012.
- BONVICINO, C. R.; MOREIRA, M. A. M. Molecular phylogeny of the genus *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) based on cytochrome *b* DNA sequences. **Mol. Phylogenet. Evol.**, v. 18, p. 282-292, 2001.
- BONVICINO, C.R. A new species of *Oryzomys* (Rodentia, Sigmodontinae) of the subflavus group from the Cerrado of central Brazil. **Mammalian Biology** 68: 78–90. 2003.
- BONVICINO, C. R.; DE OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 2008.
- BONVICINO, C. R.; GONÇALVES, P. R.; OLIVEIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. F. B.; MATTEVI, M. S. Divergence in *Zygodontomys* (Rodentia: Sigmodontinae) and Distribution of Amazonian Savannas. **The Journal of Heredity**. 100 (3):322-328. 2009
- BUSH, G. L.; CASE, S. M.; WILSON, A. C.; PATTON, J. L. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 74, 3942–3946. 1977.
- CABRERA, A. Catalogo de los mamiferos de America del Sur. **Revista Del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernadino Rivadavia, Zoologia**, vol. 4, n. 2, p. 309-732. 1960.
- CARLETON, M. D.; EMMONS, L. H.; MUSSER, G. G. A new species of the rodent genus *Oecomys* (Cricetidae: Sigmodontinae: Oryzomyini) from eastern Bolivia, with emended definitions of *O. concolor* (Wagner) and *O. mamorae* (Thomas). **American Museum Novitates** 3661:1–32. 2009.

CARLETON, M. D.; MUSSER, G. G. Muroid rodents. In **Orders and families of recent mammals of the World** (ed. S. Anderson and J. K. Jones Jr), pp. 289–379. John Wiley, New York, USA.1984.

D'ELÍA, G. Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography. **Cladistics** 19, 307–323. 2003.

D'ELÍA G.; PARDIÑAS, U. F. J.; TETA, P.; PATTON, J. L. Definition and diagnosis of a new tribe of sigmodontine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae), and a revised classification of the subfamily. **Gayana** 71, 187–194. 2007.

DOBIGNY, G.; NOMAO, A.; GAUTUN, J. C. Uma pesquisa citotaxonômico 492 de Roedores de Níger: implicações para a sistemática, biodiversidade e biogeografia. **Mammalia** 66, 495-494 523. 2002.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the neotropics the central neotropics. **Chicago, University of Chicago Press**. Vol.3. p 93-94. 1999.

EISENBERG J. F. Biodiversity reconsidered. Pp. 527-548, *in*: **Mammals of the Neotropics**, Volume 3. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil (JF Eisenberg and KH Redford, eds.). Universidade of Chicago Press, Chicago. 1999.

ELLERMAN, J. R. The families and genera of living rodents. Vol. II. **Family Muridae. British Museum (Natural History), London**. 1941.

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

ENGEL, S. R.; HOGAN, K. M.; TAYLOR, J. F.; DAVIS,S.K. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. **Mol Biol Evol**. Jan;15(1):35-49. 1998

GARDENAL, C.N. Niveles de migración en roedores reservorio de virus: aportes de lagenética de poblaciones. **Libro de Resúmenes. XX Jornadas Argentinas de Mastozoología**. 2005.

GARDNER, A.L.; PATTON,J.L. Karyotypic variation in chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. **Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University**, 49:1-48. 1976.

GRUTZNER, F.; HIMMELBAUER, H.; PAULSEN, M.; ROPERS, H. H.; HAAF, T. Comparative mapping of mouse and rat chromosomes by fluorescence in situ hybridization. **Genomics** 55: 306–313. 1999.

GUERRA, M. **FISH – conceitos e aplicações na citogenética**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto. 2004.

GUIGO, R.; DERMITZAKIS, E. T.; AGARWAL, P.; PONTING, C. P.; PARRA, G.; REYMOND, A. Comparison of mouse and human genomes followed by experimental

verification yields an estimated 1,019 additional genes. **Proc Natl Acad Sci USA** 100: 1140–1145. 2003.

GUILLY, M. N.; FOUCHET, P.; DE CHAMISSO, P.; SCHMITZ, A.; DUTRILLAUX, B. Comparative karyotype of rat and mouse using bidirectional chromosome painting. **Chromosome Res** 7: 213–221. 1999.

HASS, I.; SBALQUEIRO, I. J.; MULLER, S. Chromosomal phylogeny of four Akodontini species (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil established by Zoo-FISH using *Mus musculus* (Muridae) painting probes. **Chromosome Res** 16: 75–88. 2008.

HASS, I.; MULLER, S.; ARTONI, R. F.; SBALQUEIRO, I. J. Comparative chromosome maps of neotropical rodents *Necomys lasiurus* and *Thaptomys nigrita* (Cricetidae) established by ZOO-FISH. **Cytogenet Genome Res** 135: 42–50. 2011.

HERSHKOVITZ, P. Mammals of northern Colombia, preliminary report no. 8: arboreal rice rats, a systematic revision of the subgenus *Oecomys*, genus *Oryzomys*. **Proc USA Natl Mus** 110:513-568.1960.

JACOB, J. Rodents in agro-ecosystems. **Libro de Resúmenes. XX Jornadas Argentinas de Mastozoología**. 2005.

KING, M. *Species evolution. The role of chromosome change*. **Cambridge University Press**, Cambridge. 1993.

LANDRY JR, S.O. The Rodentia as Carnicores. **Q. Ver. Biol.**45: 351 – 372. 1970.

LANGGUTH, A.; MAIA, V.; MATTEVI, M. S. New caryotypes of large Brazilian species of the genus *Oecomys* (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). **Arq Mus Nac** 63: 183-190. 2005.

MATTEVI, M.S.; ANDRADES-MIRANDA, J. Estudos genéticos nos roedores da tribo Oryzomiyni. In: **Mamíferos do Brasil: genética, sistemática e conservação**. São Carlos: Suprema; 107-130. 2006.

MATTHEY, R. Chromosomes and evaluation. **Triangle** 11: 107–112. 1972.

MCKENNA, M. C.; BELL, S. K. Classification of Mammals above the species level. **Columbia University Press**, New York. 1997.

MUSSER, G. G.; CARLETON, M. D. Family Muridae. P.501-756. *in* : **Mammals species of the world: a taxonomica and geographic reference**, 2nd edition. Wilson D.E. and Reeder D.M. (Ed.). Washington, DC: Smithsonian Institution. 1207p. 1993.

MUSSER, G. G.; CARLETON, M. D. Superfamily Muroidea. In **Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference** (ed. D. E. Wilson and D. M. Reeder) 3rd edition, pp. 894–1531. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2005.

MURÚA, R.; PADULA, P. Ecología y transmisión del hantavirus en Argentina y Chile. **Libro de Resúmenes. XX Jornadas Argentinas de Mastozoología**. 2005.

MUSSER, G. G.; CARLETON, M. D. Super Family Muroidea. In Wilson DE and Reeder DM (eds) *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. **Johns Hopkins University Press**, Baltimore, pp 894-1531. 2005.

NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; O'BRIEN, P. C.; PINTO, J. A.; MALCHER, S. M.; PEREIRA, A. L.; RISSINO, J. D.; MENDES-OLIVEIRA, A. C.; ROSSI, R. V.; FERGUSON-SMITH, M. A. FISH with whole chromosome and telomeric probes demonstrates huge karyotypic reorganization with ITS between two species of Oryzomyini (Sigmodontinae, Rodentia): *Hylaeamys megacephalus* probes on *Cerradomys langguthi* karyotype. **Chromosome Res.** Apr;21(2):107-19. doi: 10.1007/s10577-013-9341-4. 2013.

NOWAK, R. M. **Walker's Mammals of the World**. 1 ed. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press. p. 642. 1994.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. Sixth Edition. Baltimore: The Jhonhs Hopkins Univ. Press. 1999

OLIVEIRA, F.S.; CANOLA, J.C. Erupção dental em pacas (*Agouti paca*) criadas em cativeiro. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.2, p.390-394, 2007.

OLIVEIRA, J.A.; BONVICINO, C.R. Ordem Rodentia. In N.R. Reis, A.L. Peracchi, W.A. Pedro, & I.P. Lima (eds.). **Mamíferos do Brasil**. Imprensa da UEL, Londrina, p. 347-406. 2006.

PAREDEDA, M. G.; NOVELLO, A. Chromosome mosaicism: extreme karyotype variation in the genus *Ctenomys* from Uruguay (Rodentia: Ctenomyidae). **Caryologia** 65 251–257. 2012.

PATTERSON, B. D. On the continuing need for scientific collecting of mammals. **Mastozoologia Neotropical**. 9: 253-262. 2002.

PATTON, J.L.; DA SILVA; M. N. F. A review of the spiny mouse genus *Scolomys* (Rodentia: Sigmodontinae) with the description of a new species from the western Amazon of Brazil. **Proc. Biol. Soc. Wash.** 108(2):319-337. 1995.

PATTON, J.L.; SILVA, M.N.F.; MALCOLM, J.R. Mammals of the Rio Juruá and the Evolutionary and ecological diversification of Amazomia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. 244: 202-292. 2000.

PEPPERS., L. L.; BRADLEY, R. D. Cryptic species in *Sigmodon hispidus*: Evidence from DNA sequences . **Journal of Mammalogy**. 2000.

PERCEQUILLO, A. R.; WEKSLER, M.; COSTA, L. P. A new genus and species of rodent from the Brazilian Atlantic Forest (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae: Oryzomyini), with comments on oryzomyine biogeography. **Zool. J. Linnean Soc.**, v. 161, p. 357-390, 2011.

PINE, R. H.; TIMM, R. M.; WEKSLER, M. A newly recognized clade of trans- Andean Oryzomyini (Rodentia: Cricetidae), with description of a new genus. **J. Mammal.**, v. 93, p. 851-870, 2012.

PINTO, J. A. **Análise citogenética de duas espécies do Gênero *Hylaeamys* (Rodentia: Cricetidae) por citogenética clássica e molecular.** Dissertação. Universidade Federal do Pará. 2013.

REIG O. A. Distribuição geográfica e historia evolutiva dos roedores sulamericanos (cricetidae, sigmodontinae). **Rev. Bras. Genet.** 7:333 – 365. 1984.

REIG, O. A. Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In Vuilleumier F and Monasterio M (eds) High Altitude Tropical Biogeography. **Oxford University Press.** New York. NY. Pp 404-439. 1986.

ROCHA, R. G.; FERREIRA E.; COSTA, B. M. A.; MARTINS, I. C. M., LEITE, Y. L. R., COSTA, L. P.; FONSECA, C. Small mammals of the mid-Araguaia river in central Brazil, with the description of a new species of climbing rat. **Zootaxa** 2789, 1–34. 2011.

ROCHA, R. G.; FONSECA, C.; ZHOU, Z.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P. Taxonomic and conservation status of the elusive *Oecomys cleberi* (Rodentia, Sigmodontinae) from central Brazil. **Mammalian Biology** 77 414–419. 2012.

ROMANENKO, S. A.; PERELMAN, P. L.; TRIFONOV, V. A.; GRAPHODATSKY, A. S. Chromosomal evolution in Rodentia. **Heredity.** 108, 4–16. 2012.

ROSA, C. R.; FLORES, T. A.; PIECZARKA, J. C.; ROSSI, R. V.; SAMPAIO, M. I. C.; RISSINO, J. D.; AMARAL, P. J. S.; NAGAMACHI, C. Y. Genetic and morphological variability in South American rodent *Oecomys* (Sigmodontinae, Rodentia): evidence for a complex of species. **Journal of Genetics**, Vol. 91, No. 3. 2012.

SAVAGE, R. J. G.; LONG, M. R. Mammal Evolution, an Illustrated Guide. **Facts of File Publications**, New York. 259 pp. 1986.

SCHERTHAN, H.; CREMER, T.; ARNASON, U.; WEIER, H. U.; LIMA-DE-FARIA, A.; FRONICKE, L. Comparative chromosome painting discloses homologous segments in distantly related mammals. **Nat Genet** 6: 342–347. 1994.

SIMPSON, G.G. The Principles of Classification and a classification of mammals. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.**, 85: 1 – 350. 1945.

SMITH, M.N.F.; PATTON, J.L. phylogenetic relationships and radiation of Sigmodontinae rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. **Journal of Mammalian Evolution.** 6:89-128. 1999.

STANYON, R.; YANG, F.; CAVAGNA, P.; O'BRIEN, P. C. M.; BAGGA, M.; FERGUSON-SMITH, M. A. WIENBERG, J. Reciprocal chromosome painting shows that genomic rearrangement between rat and mouse proceeds ten times faster than between humans and cats. **Cytogenet Cell Genet.** 84:150-155. 1999

SWIER, V. J.; Bradley, R. D.; Rens, W.; Elder, F. F. B.; BAKER, R. J. Patterns of chromosomal evolution in Sigmodon, evidence from whole chromosome paints. **Cytogenetic and Genome Research** 125:54-66. 2009.

- TURVEY, S. T.; WEKSLER, M.; MORRIS, E. L.; NOKKERT, M. Taxonomy, phylogeny, and diversity of the extinct Lesser Antillean rice rats (Sigmodontinae: Oryzomyini), with description of a new genus and species (subscription required). **Zoological Journal of the Linnean Society** 160:748–772. 2010.
- VENTURA, K.; O'BRIEN, P. C.; YONENAGA-YASSUDA, Y.; FERGUSON-SMITH, M. A. Chromosome homologies of the highly rearranged karyotypes of four Akodon species (Rodentia, Cricetidae) resolved by reciprocal chromosome painting: the evolution of the lowest diploid number in rodents. **Chromosome Res** 17: 1063–1078. 2009.
- VENTURA, K.; YONENAGA-YASSUDA, Y.; FERGUSON-SMITH, M. A. Variable patterns of Y chromosome homology in Akodontini rodents (Sigmodontinae): A phylogenetic signal revealed by chromosome painting. **Chromosome Res.** 20:427–433. 2012.
- VOSS, R.S.; CARLETON, M.D. A new genus for *Hesperomys molitor* wing and *Holochilus magnus* Hershckovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its Phylogenetics Relationships. **American Museum of Novitates.** 3085:1-39. 1993.
- VOSS, R.S.; L.H. EMMONS. Mammalian diversity in neotropical lowland rainforests: a preliminary assessment. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, 230: 1-115. 1996.
- VOSS, R.S.; LUNDE, D.P.; SIMMONS, N.B. The mammals of Paracou French Guiana: a neotropical lowland rainforest fauna part 2. Nonvolant species. **B. Am. Mus. Nat. Hist.** 263, 1–236. 2001.
- WEKSLER, M. Phylogeny of Neotropical oryzomyine rodents (Muridae: Sigmodontinae) based on the nuclear IRBP exon. **Mol. Phylogent. Evol.** v. 29, p. 331-349, 2003.
- WEKSLER, M. Phylogenetic relationships of oryzomine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): separate and combined analyses of morphological and molecular data. **Bull. Am.Mus. Nat. Hist.** 296, 1–149. 2006.
- WEKSLER, M.; BONVICINO, C. R. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, Sigmodontinae) of the Brazilian cerrado, with the description of two new species. **Arquivos do Museu Nacional Rio de Janeiro**, v. 63, p. 113-130, 2005.
- WEKSLER, M.; PERCEQUILLO, A. R. Key to the genera of the tribe Oryzomyini (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae). **Mastozool. Neotrop.**, v. 18, p. 281-292, 2011.
- WHITE, M. J. D. **Models of speciation.** W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1978.
- WILSON, A. C.; SARICH, V. N.; MAXSON, L. R. The importance of gene rearrangement in evolution: evidence from studies on rates of chromosomal protein and anatomical evolution. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 71, p. 3028-3030, 1974.
- WILSON, E. O. Sociobiology: the new synthesis. **The Belknap Press of Harvard University Press**, Cambridge, Massachusetts. 697 pp. 1975.

WILSON, E. O. The Diversity of Life. **Harvard University Press**, Cambridge, MA. 464 pages. 0-674-21298-3. 1992.

WILSON, D.E.; REEDER, D.A.M.: Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. 2nd ed. **Smithsonian Institution Press**, Washington, DC, 1992.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. 3ª edição. **Johns Hopkins University Press**, Baltimore, Maryland, 2.142 pp. 2005.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. Class Mammalia Linnaeus, 1758. In: Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (Zhang, Z.-Q., Ed.). **Zootaxa** 3148:56-60. 2011.

4 MANUSCRITO DO ARTIGO

Comparative chromosome maps between species of genus *Oecomys* (Sigmodontinae, Rodentia)

ROSA, C. C.¹; MENDES-OLIVEIRA, A. C.²; ROSSI, R. V.³; O'BRIEN, P. C. M.⁴;
FERGUSON-SMITH, M. A.⁴; PIECZARKA, J. C.^{1,5}; NAGAMACHI, C. Y.^{1,5}

¹Laboratório de Citogenética, ICB, Universidade Federal do Pará, Pará, Brazil

²Laboratório de Zoologia e Ecologia de Vertebrados, ICB, Universidade Federal do Pará, Pará, Brazil

³ Departamento de Biologia e Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Mato Grosso, Mato Grosso, Brazil

⁴Cambridge Resource Centre for Comparative Genomics, Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK

⁵CNPq Researchers, Brasilia, Brazil

e-mail: cleusanagamachi@gmail.com

Keywords: Amazon biodiversity; Chromosome Painting;

ABSTRACT

The Order Rodentia represents the largest mammal order. Rodents have 2,227 species, 468 genera and 33 families recent. Their huge variation in morphology, diversity of habitats and climates and food are the causes of this Order be most numerous and evolutionarily successful among mammalian orders. The *Oecomys* genus belongs to the subfamily Sigmodontinae (Cricetidae, Rodentia) with approximately 16 described species, distributed in tropical and subtropical forest Central and South America. Previous cytogenetic studies suggest that *Oecomys* features a large karyotype diversity, with the diploid number ranging from 58 to 86. In this study were analyzed by conventional cytogenetic techniques and multidirectional chromosome painting (using whole chromosome probes of *Hylaeamys megacephalus*) 34 specimens of *Oecomys* identified as *O. paricola* and *O. auyantepui*. Three cytotypes were described for *O. paricola* and one for *O. auyantepui*. From the 24 probes of HME five show different patterns in cross-species hybridization on metaphases of *O. paricola* indicating rearrangements. The karyotype of *Oecomys auyantepui* was described for the first time. Chromosomal differences found for *O. paricola* from different geographic regions suggests that these cytotypes belong to cryptic species, and the chromosomal rearrangements may be the cause of the speciation process. We suggest that these populations of *O. paricola* are a complex of species where already happened the chromosomal differentiation but not the morphological and molecular ones.

INTRODUCTION

The order Rodentia is the most numerous known mammalian order. Rodents have 2,227 species, 468 genera and 33 families (Musser & Carleton, 2005). Their huge variation in morphology, diversity of habitats and feeding strategies are the reasons for this order being the most numerous and having the highest evolutionary success among mammals (Emmons & Feer, 1997).

It has been increasingly frequent the description of cryptic species in this order through the identification of individuals morphologically identicals and yet reproductively isolated. These species may be differentiated by traits that are not related to morphology, such as molecular or karyotypic data (Peppers and Bradley, 2000; Dobigny et al., 2002; Volobouev et al., 2002; Yazbeck et al., 2011).

The *Oecomys* the rodent genus comprises sixteen species living in tropical and subtropical forests of Central and South America. *Oecomys paricola* Thomas, 1904 is found in central Brazil, south of the Amazon River (Pará, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul states), although without a precise definition of their limits. *Oecomys auyantepui* is distributed on the southeast Venezuela, Guianas, Suriname and north and central Brazil (Amapá and Amazonas states) (Percequillo et al., 2014).

According to the literature, the genus *Oecomys* features a large karyotype diversity, with diploid numbers ranging from 58 to 86. However, only specimens of *Oecomys paricola* from different localities were studied using molecular analysis, morphological and full classical cytogenetics (Rosa et al., 2012).

The chromosome painting has been widely used in different orders of mammals to identify chromosomal sintenies, especially where there is huge chromosomal variation, which does not allow the analysis by classical cytogenetics (Nagamachi et al., 2013). Moreover, karyotypes with high diploid number tend to have smaller chromosomes and different patterns of condensation are also factors that prevent a precise banding analysis (Rosa et al., 2012).

This is the first study that analyzes *Oecomys* by chromosome painting, but in Sigmodontinae these studies have already been developed, since 24 species of different genera have being mapped using this technique (Hass et al., 2008; Ventura et al., 2009; Swier et al., 2009; Hass et al., 2011; Romanenko et al., 2012, Nagamachi et al., 2013). Hass et al. (2008) established a map of homology between *Mus musculus* and five species of Akodontini tribe. Swier et al. (2009) examined the chromosomal evolution of nine species of the genus

Sigmodon. Ventura et al. (2009) identified the chromosomal homologies between four species of *Akodon* by reciprocal painting. Hass et al. (2011) also used *Mus musculus* whole chromosome probes on *Necomys lasiurus* and *Thaptomys nigrita*. Nagamachi et al. (2013) used *Hylaeamys megacephalus* (HME) whole chromosome probes to identify homologies with *Cerradomys langguthi*.

In this work, we analyzed samples of *O. paricola* from three different regions by conventional cytogenetic and FISH using *H. megacephalus* probes. We also used these technique to describe by the first time the karyotype of *O. auyantepui*.

MATERIAL AND METHODS

Eighteen specimens of *Oecomys* were analyzed, being four (two males and two females) from Environmental Park in Belém, Pará (01 ° 27'S 48 ° 29W - Figure 1, A); two (one male and one female) from Santa Bárbara, Pará (01 ° 13'02.31 "S 48 ° 16'33.63" W - Figure 1, B); five (two males and three females) from Carajás, Pará (05 ° 46'26 "S 50 ° 30'43" W - Figure 1, point C) and 7 (five males and two females) from Calha Norte, Pará (0 ° 37'49.01 "N 55 ° 43'42.60" W -Figura 1, D). The rodents were collected using Sherman and pitfall traps and (Mengak and Guynn 1987; Umetsu et al., 2006). The specimens were deposited at Museu Paraense Emilio Goeldi and in mammal collection of the Museu de Zoologia of Universidade Federal do Pará.

Chromosome preparations were obtained from bone marrow, following Ford and Hamerton (1956), with some modifications. The fibroblast culture was established in the Laboratório de Citogenética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brazil. The G- and C-banding followed Summer et al. (1971) and Sumner (1972) with some modifications, respectively. The FISH technique followed Yang et al. (1995), with slides denatured in 70% formamide and 62°C for 40 seconds. *In situ* hybridization lasted 48 hours at 37°C. After hybridization the slides were washed (1x 50% formamide, 1x 2x SSC, 1x 4xSSC / Tween) at 42°C. Probes labeled with biotin were detected with avidin-FITC or avidin-Cy3. The images were captured in H550S Nikon microscope and the software used was NisElements.

RESULTS

Morphological analysis

The specimens collected at Environmental Park in Belém, Santa Barbara and Carajás were identified as *Oecomys paricola* while the ones collected in the Calha Norte region were identified as *Oecomys auyantepui*.

Chromosomal analysis

Specimens from Environmental Park of Belém had a karyotype with $2n = 72$ and fundamental number (FN) = 76, comprising 64 one-armed and six bi-armed chromosomes (OPA, Figure 2). The Santa Barbara sample had $2n = 70$ and FN = 74, comprising 62 one-armed and six bi-armed chromosomes (OPA2, Figure 3), while Carajas sample had a karyotype with $2n = 70$ and FN = 72, with 64 one-armed and four bi-armed chromosomes (OPA3, Figure 4). Specimens collected on Calha Norte had a karyotype with $2n = 62$ and FN = 80, comprising 40 one-armed and 20 bi-armed chromosomes (OAU, Figure 5).

The constitutive heterochromatin is located at the pericentromeric region of all autosome and in the long arm of the Y of all cytotypes and in the short arm of the X of the three cytotypes of *O. paricola*. *In situ* hybridization with telomeric probes did not show any Interstitial Telomeric Sequence (ITS). The 45S rDNA probes hybridized on a small pair in all of cytotypes *Oecomys paricola* and in two pairs *Oecomys auyantepui* (data not shown).

The hybridization with HME probes in OPA revealed 39 homology segments (Table 1, Figure 2). Of these, twelve probes (HME 4, 6, 7, 8, 12, 15, 19, 21, 24, 25, 26 and X) produced a single hybridization signal in OPA. Nine probes (HME 1, 2, 3, [9,10], 14 [16,17], 18, 20 and 23) showed two hybridization signals and three probes (HME 5, 11 and [13,22]) had three hybridization signals. Twenty probes HME (HME 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, [9, 10], 12, 14, 15, [16, 17], 18, 19, 23, 24, 25, 26 and X) hybridized in whole OPA chromosomes. Three associations were observed: HME 20 / [13,22] (OPA 8), HME [13,22] / 21 (OPA 14) and HME 20/11 (OPA 18).

The hybridization with HME probes in OPA2 revealed 37 homology segments (Table 1, Figure 3). Of these thirteen probes (HME 4, 6, 7, 8, 11, 12, 19, 20, 21, 24, 25, 26 and X) produced a single hybridization signal in OPA2. Nine probes (HME 1, 2, 3, [9,10], 14, 15, [16,17], 18 and 23) showed two hybridization signals and two probes (HME and 5 [13,22])

showed three hybridization signals. Twenty one probes of HME (HME 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, [9, 10], 11, 12, 14, 15, [16, 17], 18, 19, 23, 24, 25, 26 and X) hybridized in whole OPA2 chromosomes. Only two associations were observed: HME 20 / [13,22] (OPA2 8) and HME [13,22] / 21 (OPA2 14).

The hybridization with HME probes in OPA3 revealed 38 homology segments (Table 1, Figure 4). Of these, twelve probes (HME 4, 6, 7, 8, 12, 15, 19, 21, 24, 25, 26 and X) produced a single hybridization signal in OPA3. Ten probes (HME 1, 2, 3, [9,10] [13,22], 14, [16,17], 18, 20 and 23) showed two hybridization signals and two probes (HME 5:11) had three hybridization signals. Twenty probes HME (HME 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, [9, 10], 12, 14, 15, [16, 17], 18, 19, 23, 24, 25, 26 and X) hybridized in whole OPA3 chromosomes. Only two associations were observed: HME 20 / [13,22] (OPA3 8) and HME [13,22] / 21 (OPA3 14).

The hybridization with HME probes in OAU revealed 36 homology segments (Table 1, Figure 5). Of these fifteen probes (HME 6, 7, 8, [9,10], 12, 15, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26 and X) produced a single hybridization signal karyotype OAU. Six probes (HME 1, 2, 3, 4, 11 and 14) showed two hybridization signals and three probes (HME 5, [13,22] and [16,17]) showed three hybridization signals. Fourteen probes HME (HME 3, 4, 5, 8, 11, 14, 15, [16, 17], 19, 20, 23, 24, 25 and X) hybridized in whole OAU chromosomes. Five associations were observed: HME [13,22] / 21 (OAU 8), HME 6/7 (OAU 21), HME [9,10] / 2 (OAU 22), HME 12/1 (OAU23) and HME 26 / 18 (OAU 25).

DISCUSSION

On *O. paricola*, the cytotype OPA2 was previously described (Rosa et al., 2012), but the cytotypes here called OPA and OPA3 are being described for the first time. Previously for *O. paricola* it were also described the cytotypes with $2n=68/NF=72$ and $2n=70/NF=76$ (Rosa et al., 2012) found in the Environmental Park of Belém, Belém, PA (Figure 1, A) and on the Island of Marajó, Pará.

The comparative analysis by chromosome painting and G-banding shows that the three *Oecomys paricola* karyotypes diverged by chromosome fusions and/or fissions, and possibly by inversions and/or centromeric repositioning. The chromosome OPA2 17 (HME 11) split in three segments in OPA (18qdist, 29 and 35) and OPA3 (18q dist, 27 and 29). The chromosome 17 of OPA and OPA3 (HME 15) split in two chromosomes in OPA2 (OPA 18 and OPA 29). HME11 is split in two pieces and the smaller is associated to HME20 in OPA (OPA 18) and OPA3 (OPA 18), while in OPA2 the two HME pairs are unbroken and

dissociated. Despite OPA 35 and OPA2 34 seems to be homeologues, the first resulted from an inversion or centromere repositioning of a segment of HME11 while the second corresponds to HME26.

The karyotype of *Oecomys auyantepui* (Figure 5) is being described for the first time. Despite the morphological and molecular proximity between *O. paricola* and *O. auyantepui* (Voss et al., 2001; Musser and Carleton., 2005; Rosa et al, 2012), they show an extensive genomic reorganization. The karyotype of OAU shares only the association [13,22]/21 in common with the *O. paricola* cytotypes. The probe [16,17] hybridize one bi-armed chromosome (OAU 28) and one acrocentric chromosome(OAU 6) in OAU, but in the three *O. paricola* cytotypes this probe hybridize two bi-armed chromosomes (OPA 33 and 34; OPA2 32 and 33; OPA3 33 and 34). HME 20 corresponds to OAU18 and is not associated with any chromosome, differently from the others cytotypes.

Ten out of the 24 probes of *H. megacephalus* (HME 4, 6, 7, 8, 12, 19, 24, 25, 26 and X) hybridized whole chromosomes in the three *O. paricola* cytotypes (OPA 1, 3, 6, 7, 9, 21, 16, 25, 30 and X, OPA2 1, 3, 6, 7, 9, 21, 16, 25, 34 and X, OPA3 1, 3, 6, 8, 9, 20, 16, 24, 30 and X) showing their conserved synteny. Among these probes, only 7 (HME 6, 7, 12, 24, 25 and 26) showed conserved synteny in CLA and only 5 (HME 8, 19, 24, 25 and X) in OAU, with this last one showing a higher degree of genome rearrangement when compared to *O. paricola* cytotypes.

The pairs 33 and 34 of OPA and OPA3 and 32 and 33 of OPA2 are bi-armed chromosomes and correspond to acrocentric chromosomes of *H. megacephalus* (HME [16,17]). In OAU, this chromosome probe hybridizes to an acrocentric chromosome and a bi-armed one (OAU 8 and 28), indicating inversions or centromere repositioning, which probably also happened on bi-armed chromosomes 23, 24, 25 and 26 of *H. megacephalus* that correspond to acrocentric chromosomes 15, 14, 17 and 22 in *Cerradomys langguthi* (Nagamachi et al. 2013). In *O. paricola* these probes also hybridize to acrocentric chromosomes in the three cytotypes and only in OPA2, HME26 corresponds to a bi-armed chromosome, OPA2 30.

The comparative analysis among *O. paricola*, *O. auyantepui* and *H. megacephalus* showed that the chromosomes HME 1, 5, 6, 7, [9, 10], 11, 12, [13,22], 15, [16,17], 18, 20, 25 and 26 are arranged in different ways in these karyotypes. HME 1 is fissioned into two segments in the 4 karyotypes studied, but in OAU one of the segments is associated with the HME12 (Figure 8A). HME 5 is fissioned in 3 chromosomes in the four karyotypes, with 3 one-armed to *O. paricola* and 1 one-armed and 2 bi-armed to OAU (Figure 8B). The HME

chromosomes 6, 7, 12 and 26 are associated with other chromosomes in OAU (OAU 21, 21, 23 and 26), what does not occur in other cytotypes (Figure 8C, 8D, 8G and 8N). HME [9, 10], [16, 17] and 25 possibly had inversions or centromere repositioning (Figure 8E, 8I and 8M). HME 11 is fragmented into three chromosomes in OPA and OPA3. In OPA2, HME 11 showed conserved synteny, with no chromosomal breaks. In OAU, HME11 is fissioned in two acrocentric chromosomes (OAU 16 and OAU 10, Figure 8F). HME 15 was fissioned in two chromosomes in OPA2 (OPA2 18 and OPA2 29) and it is conserved in OPA, OPA3 and OAU (OPA 17, OPA3 17 and OAU 9, Figure 8H). HME 18 is fissioned in two one-armed chromosomes in OPA, OPA2 and OPA3, but in OAU it is not fissioned, being the long arm of chromosome 25 (Figure 8J). HME 20 is found in the proximal region of an acrocentric chromosome in the three cytotypes (OPA 8, OPA2 8 and OPA3 7) and the proximal region of an one-armed chromosome in OPA and OPA2 (OPA 18 and OPA2 18), but in OAU this chromosome is conserved (OAU 18, Figure 8K). HME [13, 22] is found in the distal region of an one-armed chromosome of *O. paricola* (OPA 8, OPA2 8 and OPA3 7) and in the proximal region of an one-armed chromosome in the four analyzed cytotypes (OPA 14, OPA2 14, OPA3 14 and OAU 8) and in an one-armed chromosome of OPA, OPA2 and OAU (OPA 19, OPA2 19 and OAU 17) (Figure 8L).

OAU presented 4 associations (HME 6/7, [9, 10]/2, 1/12 and 18/26 in OAU 21, 22, 23 and 25, respectively, Figures 7D, 7E, 7F, 7G). These associated chromosomes in OAU correspond to whole chromosomes in *O. paricola*. Only one probe (HME 4) showed one sign in cytotypes *O. paricola* and two signs at OAU (OAU 1 and OAU 24) and three probes (HME [9,10], 18, 23) had two signs in *O. paricola* cytotypes while OAU showed only a sign, suggesting that chromosomal rearrangements were less frequent in *O. auyantepui* than in the three *O. paricola* cytotypes (Table 1).

The association 20 / [13,22] (Figure 7A) is present in the three cytotypes of *O. paricola* analyzed (OPA 8, OPA2 8 and OPA3 7), while the association [13,22] / 21 (Figure 7B) is present in the four karyotypes analyzed (OPA 14, OPA2 14, OPA3 14 and OAU 8), which suggests that this association is a chromosomal signature to *Oecomys*, a hypothesis that can be confirmed by the analysis of more species of this genus. The association 20/11 (Figure 7C) is present only in two of the cytotypes analyzed (OPA 18 and OPA3 18). In comparison with other Sigmodontinae previously analyzed (Hass et al, 2008;. Ventura et al 2009; Hass et al, 2011) the *Oecomys* cytotypes here studied show few rearrangements.

The occurrence of different cytotypes for the same species is very common (Gardner and Patton, 1976; Patton et al., 2000;. Langguth et al, 2005), as well as the absence of

chromosomal differences for different species of the same genus, as seen in *Sigmodon* (Swier et al., 2009).

The chromosomal differences in *O. paricola* from different geographic regions suggest that they this species actually is a species complex, as suggested by Rosa et al. (2012), where karyotype differences were already fixed but theres is still not time enough for fixing morphological and molecular differences.

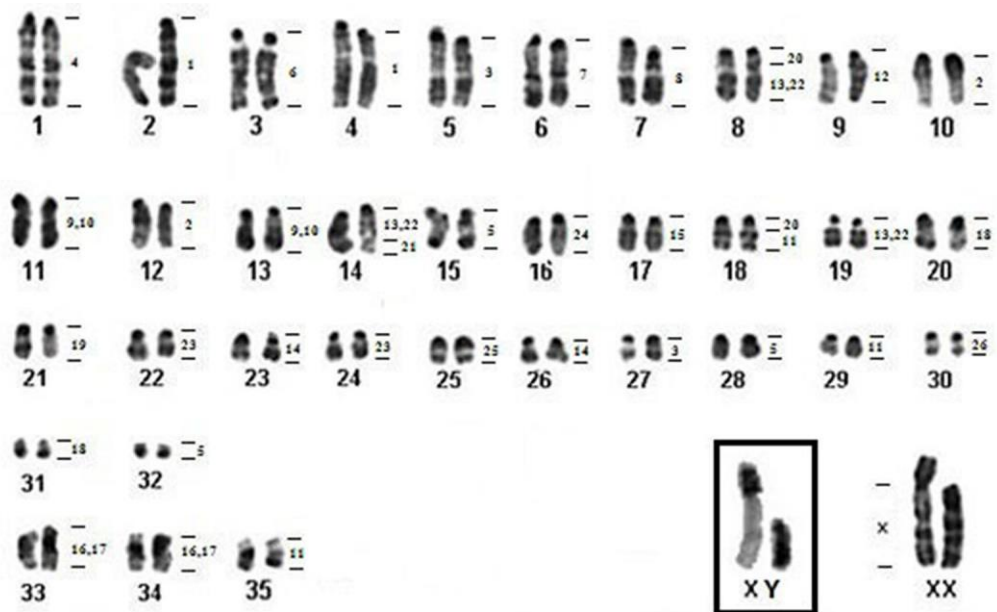
Acknowledgements

Most of this research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the Fundação Amazônia Paraense (FAPESPA) for financial supports (Edital Universal, TO 064/2008; Edital BIONORTE-CNPq, Proc 552032/2010-7); Edital BIONORTE-FAPESPA, ICAAF 007/2011) on projects coordinated by CY Nagamachi; the FAPESPA for financial support (Edital Vale – Proc 2010/110447) on a project coordinated by JC Pieczarka and the Wellcome Trust for a grant to MA Ferguson-Smith. JCP (307071/2009-0) and CYN (306989/2009-3) are granted as CNPq researchers. CC ROSA is a recipient of CAPES doctor Scholarship in Neuro-sciences and Cellular Biology

FIGURES



Figure 1. Map with the collect locations.

Figure 2. OPA ($2n=72/NF=76$) G-banding with genomic mapping with HME probes.

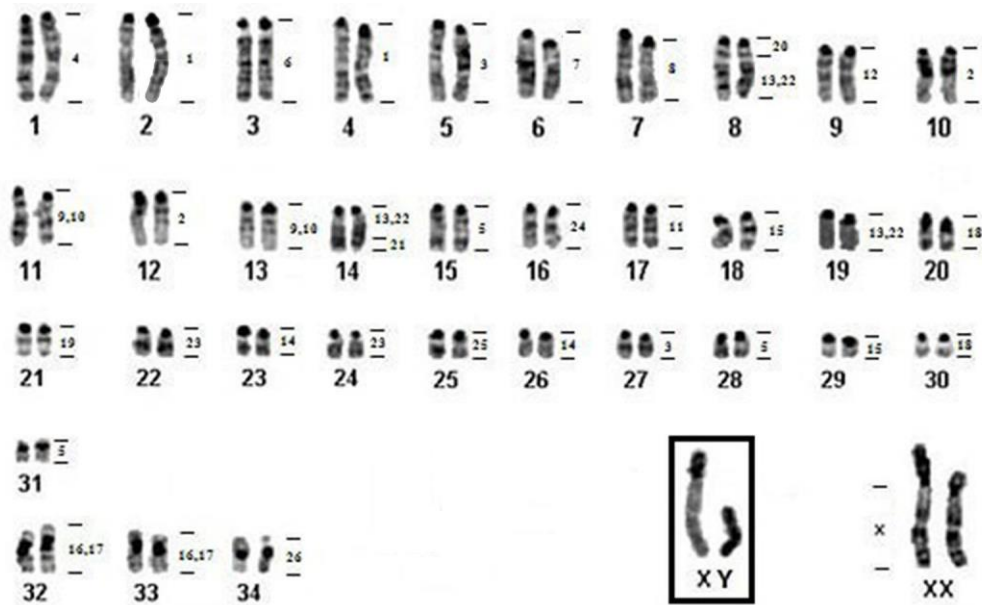


Figure 3. OPA2 ($2n=70/NF=74$) G-banding with genomic mapping with HME probes.

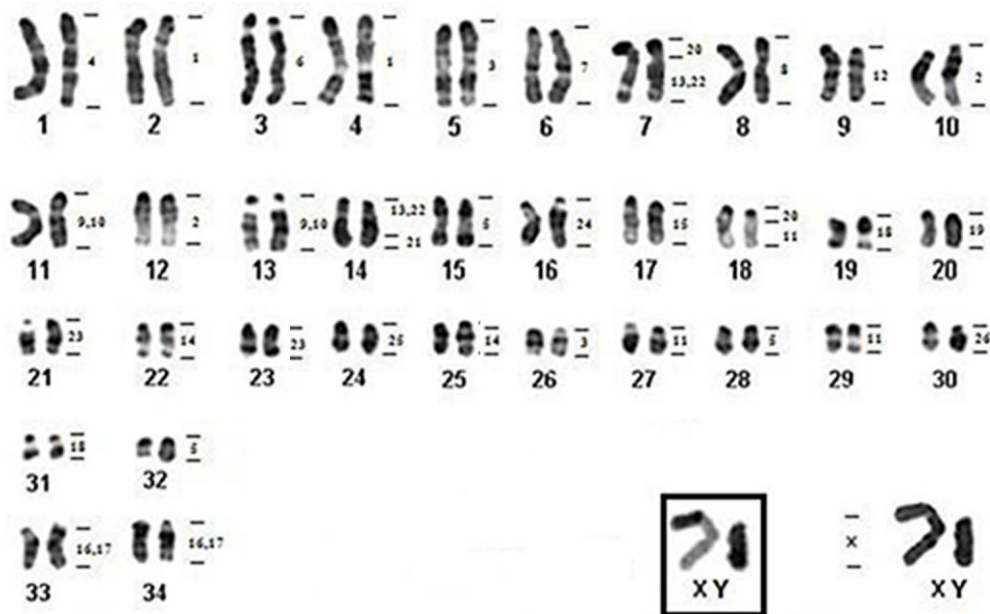


Figure 4. OPA3 ($2n=70/NF=72$) G-banding with genomic mapping with HME probes.

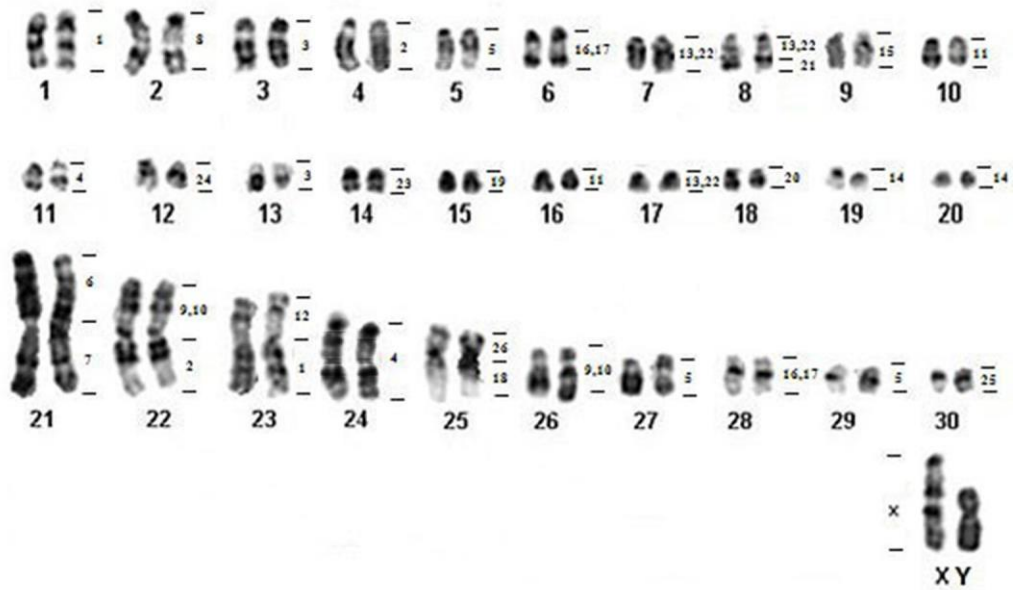


Figure 5. OAU ($2n=62/NF=80$) G-banding with genomic mapping with HME probes.

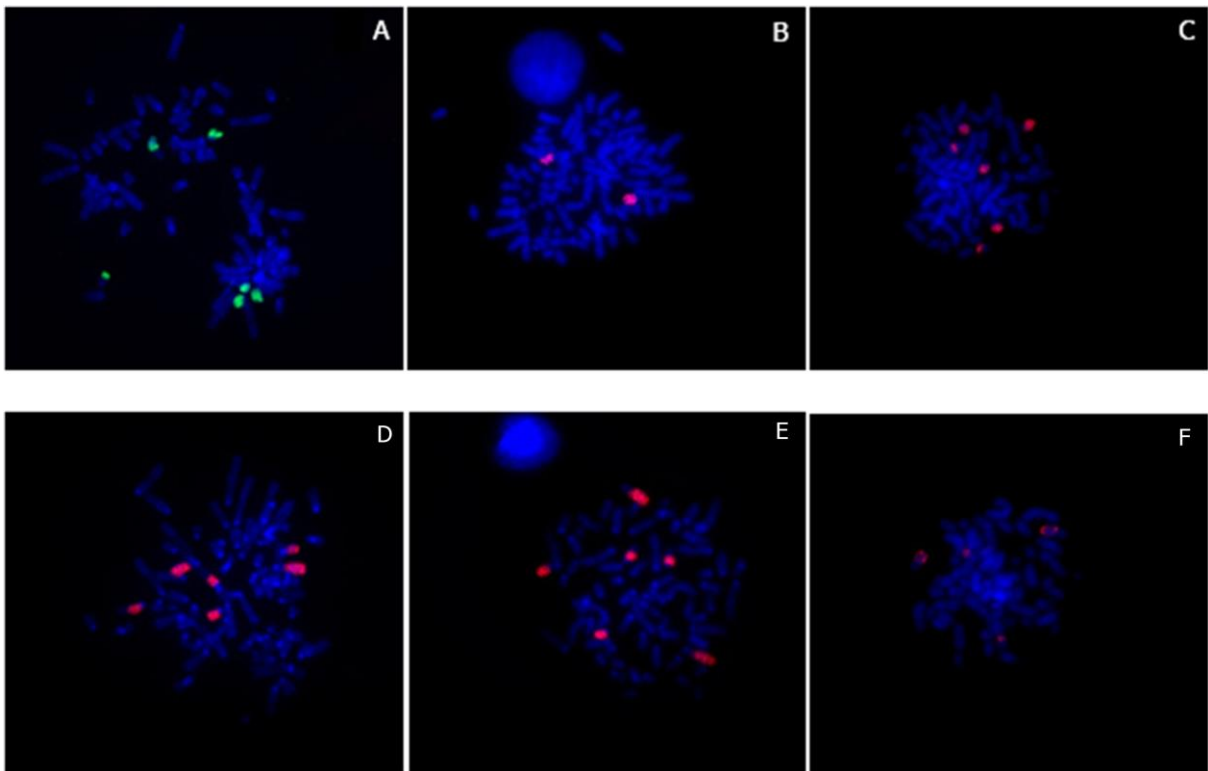
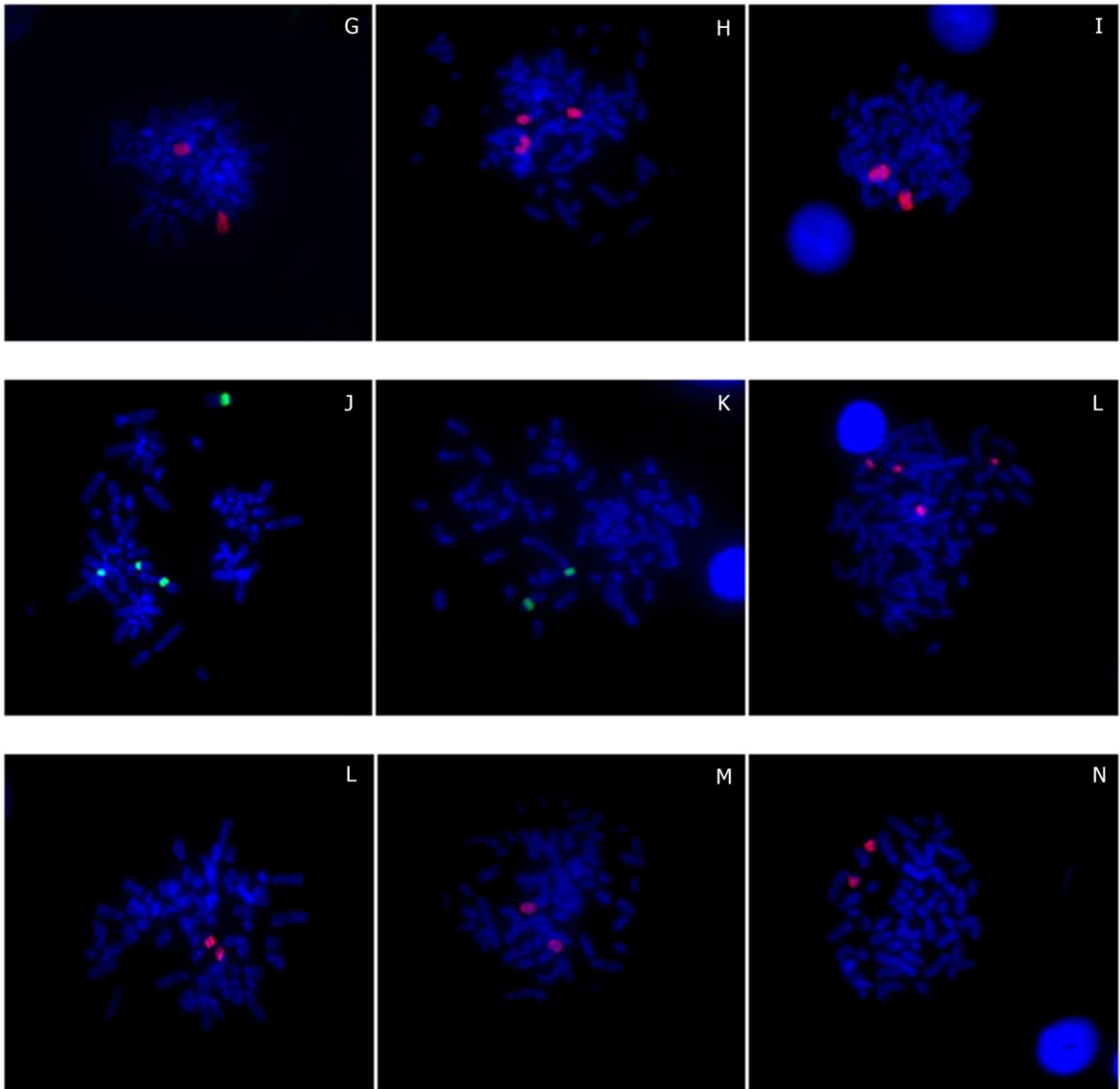


Figure 6. FISH on OPA, OPA2 and OPA3. **a** HME 11 on OPA. **b** HME 11 on OPA2. **c** HME 11 on OPA3. **d** HME [13,22] on OPA. **e** HME [13,22] on OPA2. **f** HME [13,22] on OPA3.



g HME 15 on OPA. **h** HME 15 on OPA2. **i** HME 15 on OPA3. **j** HME 20 on OPA. **k** HME 20 on OPA2. **l** HME 20 on OPA3. **m** HME 26 on OPA. **n** HME 26 on OPA2. **o** HME 26 on OPA3.

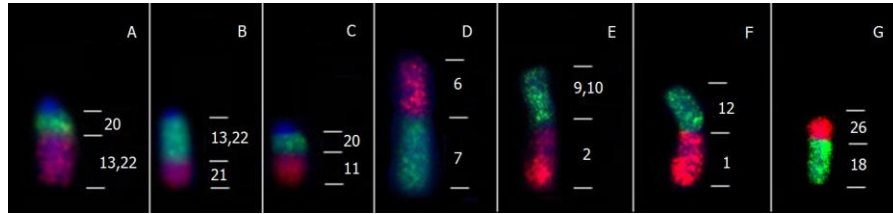


Figure 7. **a** HME probes showing associations of chromosomes OPA 8, OPA2 8, OPA3 7; **b** HME probes showing associations of chromosomes OPA 14, OPA2 14, OPA3 14, OAU 8; **c** HME probes showing associations of chromosomes OPA 18, OPA3 18; **d** HME probes showing associations of chromosome OAU 21; **e** HME probes showing associations of chromosome OAU 22; **f** HME probes showing associations of chromosome OAU 23; **g** HME probes showing associations of chromosome OAU 21.

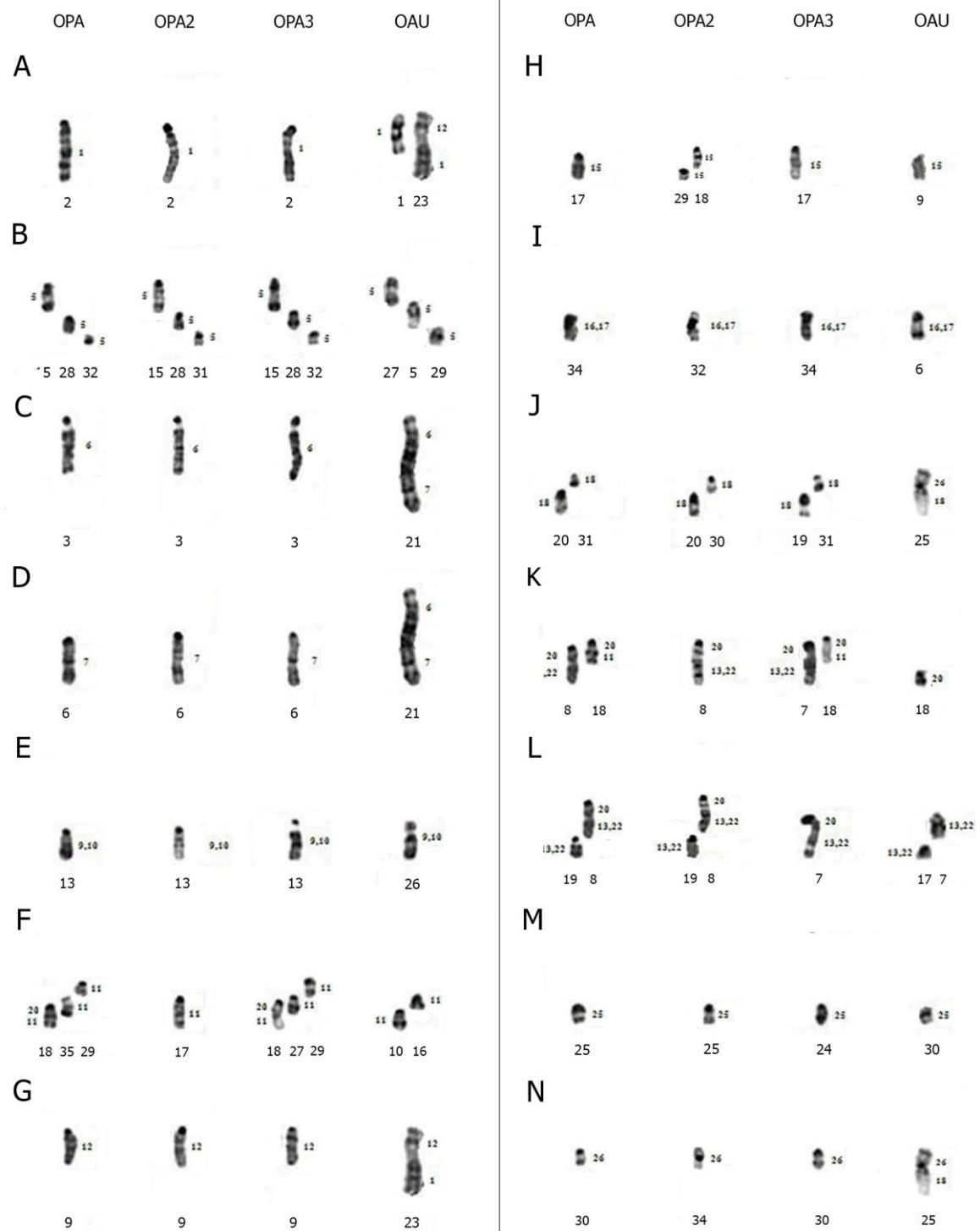


Figure 8. Comparative karyotype analysis of OPA, OPA2, OPA3 and OAU by G-banding and FISH using *Hylaemys megacephalus* probes. **a** HME 1; **b** HME 5; **c** HME 6; **d** HME 7; **e** HME [9,10]; **f** HME 11; **g** HME 12; **h** HME 15; **i** HME [16,17]; **j** HME 18; **k** HME 20; **l** HME [13,22]; **m** HME 25; **n** HME 26.

Table 1 The total number of signal observed on karyotype of OPA, OPA2, OPA3 and OAU with each whole chromosome probes of *H. megacephalus*

HME	N° of signal	OPA(2n=72; FN=76)	N° of signal	OPA2 (2n=70; FN=74)	N° of signal	OPA3 (2n=70; FN=72)	N° of signal	OAU (2n=62; FN= 80)
	s		s		s		s	
1	2	2;4	2	2;4	2	2;4	2	1;23q
2	2	10;12	2	10;12	2	10;12	2	4;22q
3	2	5;27	2	5;27	2	5;26	2	3;13
4	1	1	1	1	1	1	2	11;24
5	3	15;28;32	3	15;28;31	3	15;28;32	3	5;27;29
6	1	3	1	3	1	3	1	21p
7	1	6	1	6	1	6	1	21q
8	1	7	1	7	1	8	1	2
[9,10]	2	11;13	2	11;13	2	11;13	2	22p;26
11	3	18q interst. a distal;29;35	1	17	3	18q interst.a distal;27;29	2	10;16
12	1	9	1	9	1	9	1	23p
[13,22]	3	8q interst.a distal;14qdistal prox.;19	3	8q interst.;14q prox.;19	2	7q interst.a distal;14q prox.a interst.	3	7;8q prox.;17
14	2	23;26	2	23;26	2	22;25	2	19;20
15	1	17	2	18,29	1	17	1	9
[16,17]	2	33;34	2	32;33	2	33;34	2	6;28
18	2	20;31	2	20;30	2	19;31	1	25q
19	1	21	1	21	1	20	1	15
20	2	8q prox.;18q prox.	1	8q prox.	2	7q prox.;18q prox.	1	18
21	1	14q interst.	1	14q interst.	1	14q distal.	1	8q interst.
23	2	22;24	2	22;24	2	21;23	1	14
24	1	16	1	16	1	16	1	12
25	1	25	1	25	1	24	1	30
26	1	30	1	34	1	30	1	25p
X	1	X	1	X	1	X	1	X

REFERENCES

- CARLETON, M. D.; EMMONS, L. H.; MUSSER, G. G. A new species of the rodent genus *Oecomys* (Cricetidae: Sigmodontinae: Oryzomyini) from eastern Bolivia, with emended definitions of *O. concolor* (Wagner) and *O. mamorae* (Thomas). **American Museum Novitates** 3661:1–32. 2009.
- DOBIGNY, G.; NOMAO, A.; GAUTUN, J. C. Uma pesquisa citotaxonômico 492 de Roedores de Níger: implicações para a sistemática, biodiversidade e biogeografia. **Mammalia** 66, 495-494 523. 2002.
- EMMONS, L.H.; FEER, F. Neotropical rainforest mammals: a field guide. 2^a ed., **University of Chicago, Chicago**, 307p. 1997.
- FORD, C.E.; HAMERTON, J.L. A colchicine, hypotonic – citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. **Staining Technology**, 31:247-251. 1956.
- GARDNER, A.L.; PATTON, J.L. Karyotypic variation in chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex. **Occasional Papers of the Museum of Zoology, Louisiana State University**, 49:1-48. 1976.
- HASS, I.; SBALQUEIRO, I. J.; MULLER, S. Chromosomal phylogeny of four Akodontini species (Rodentia, Cricetidae) from southern Brazil established by Zoo-FISH using *Mus musculus* (Muridae) painting probes. **Chromosome Res** 16: 75–88. 2008.
- HASS, I.; MULLER, S.; ARTONI, R. F.; SBALQUEIRO, I. J. Comparative chromosome maps of neotropical rodents *Necromys lasiurus* and *Thaptomys nigrita* (Cricetidae) established by ZOO-FISH. **Cytogenet Genome Res** 135: 42–50. 2011.
- LANGGUTH, A.; MAIA, V.; MATTEVI, M. S. New karyotypes of large Brazilian species of the genus *Oecomys* (Rodentia, Muridae, Sigmodontinae). **Arq Mus Nac** 63: 183-190. 2005.
- MENGAKE, M. T; GUYNN, D. C. Pitfalls and snap traps for sampling small mammals and herpetofauna. **American Midland Naturalist**. 118: 284-288. 1987.
- MUSSER, G. G.; CARLETON, M. D. Superfamily Muroidea. In **Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference** (ed. D. E. Wilson and D. M. Reeder) 3rd edition, pp. 894–1531. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2005.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; O'BRIEN, P. C.; PINTO, J. A.; MALCHER, S. M.; PEREIRA, A. L.; RISSINO, J. D.; MENDES-OLIVEIRA, A. C.; ROSSI, R. V.; FERGUSON-SMITH, M. A. FISH with whole chromosome and telomeric probes demonstrates huge karyotypic reorganization with ITS between two species of Oryzomyini (Sigmodontinae, Rodentia): *Hylaeamys megacephalus* probes on *Cerradomys langguthi* karyotype. **Chromosome Res**. Apr;21(2):107-19. doi: 10.1007/s10577-013-9341-4. 2013.
- OLIVEIRA, J.A.; BONVICINO, C.R. Ordem Rodentia. In N.R. Reis, A.L. Peracchi, W.A. Pedro, & I.P. Lima (eds.). **Mamíferos do Brasil**. Imprensa da UEL, Londrina, p. 347-406. 2006.

PATTON, J.L.; SILVA, M.N.F.; MALCOLM, J.R. Mammals of the Rio Juruá and the Evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. 244: 202-292. 2000.

PEPPERS., L. L.; BRADLEY, R. D. Cryptic species in *Sigmodon hispidus*: Evidence from DNA sequences . **Journal of Mammalogy**. 2000.

PERCEQUILLO A. R.; FIEDLER JUNIOR, E. A.; BOVENDORP, R. S.; BRENNAND, P. G. G.; CHIQUITO, E. A.; CORREA, L. S.; GODOY, L. P.; LIBARDI, G. S.; PRADO, J. R.; ROTH, P. R. O.; SALLES, V. L. Roedores Sigmodontíneos da Amazônia Brasileira: Composição, distribuição geográfica e diagnoses. In: Ana Cristina Mendes-Oliveira; Cleuton Miranda. (Org.). **Pequenos Mamíferos não voadores da Amazônia brasileira**. 1ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Mastozoologia. 2014.

ROMANENKO, S. A.; PERELMAN, P. L.; TRIFONOV, V. A.; GRAPHODATSKY, A. S. Chromosomal evolution in Rodentia. **Heredity**. 108, 4–16. 2012.

ROSA, C. R.; FLORES, T. A.; PIECZARKA, J. C.; ROSSI, R. V.; SAMPAIO, M. I. C.; RISSINO, J. D.; AMARAL, P. J. S.; NAGAMACHI, C. Y. Genetic and morphological variability in South American rodent *Oecomys* (Sigmodontinae, Rodentia): evidence for a complex of species. **Journal of Genetics**, Vol. 91, No. 3. 2012.

SUMNER, A.T., Evans, H.J., Buckland, R. A. New technique for distinguishing between human chromosomes. **Nature (Lond.) New Biol.** 282, 31. 1971.

SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin, **Experimental Cell Research**. 75, 304-306. 1972.

SWIER, V. J.; Bradley, R. D.; Rens, W.; Elder, F. F. B.; BAKER, R. J. Patterns of chromosomal evolution in *Sigmodon*, evidence from whole chromosome paints. **Cytogenetic and Genome Research** 125:54-66. 2009.

UMETSU F, Naxara L, Pardini R (2006) Evaluating the efficiency of pitfall traps for sampling small mammals in the neotropics. **J Mammal**. 87(4):757–765

VENTURA, K.; O'BRIEN, P. C.; YONENAGA-YASSUDA, Y.; FERGUSON-SMITH, M. A. Chromosome homologies of the highly rearranged karyotypes of four *Akodon* species (Rodentia, Cricetidae) resolved by reciprocal chromosome painting: the evolution of the lowest diploid number in rodents. **Chromosome Res** 17: 1063–1078. 2009.

VOLOBOUEV, V. T.; ANISKIN, V. M.; LECOMPTEA, E.; DUCROZA, J. F. Patterns of karyotype evolution in complexes of sibling species within three genera of African murid rodents inferred from the comparison of cytogenetic and molecular data. **Cytogenet Genome Res**. 96:261-275. 2002.

VOSS, R.S.; LUNDE, D.P.; SIMMONS, N.B. The mammals of Paracou French Guiana: a neotropical lowland rainforest fauna part 2. Nonvolant species. **B. Am. Mus. Nat. Hist.** 263, 1–236. 2001.

YANG, F.; CARTER, N. P.; SHI, L.; FERGUSON-SMITH, M. A. A comparative study of karyotypes of muntjacs by chromosome painting. **Chromosoma**. 103:642–652. 1995.

YAZBECK, G. M.; BRANDÃO, R. L.; CUNHA, H. M.; PAGLIA, A. P. Detection of two morphologically cryptic species from the cursor complex (*Akodon* spp; Rodentia, Cricetidae) through the use of RAPD markers. **Genetic and Molecular Research**. 10 (4). 2881-2892. 2011.

5 CONCLUSÕES

A utilização de sondas de *Hylaeamys megacephalus* em roedores do gênero *Oecomys* e a comparação com resultados publicados na literatura, permitiram as seguintes conclusões:

1. Os resultados evidenciaram homeologias das sondas cromossômicas de *Hylaeamys megacephalus* nos quatro citótipos analisados;
2. *Oecomys paricola* de localidades diferentes, dentro da área de distribuição geográfica da espécie, apresentam cariótipos diferentes, demonstrando serem espécies crípticas;
3. Os três citótipos de *Oecomys paricola* divergem por rearranjos tipo fusão/fissão, inversão pericêntrica e/ou reposicionamento centromérico;
4. *O. paricola* representa um complexo de espécies;
5. *Oecomys auyantepui* apresenta cariótipo bastante reorganizado em relação aos citótipos de *Oecomys paricola*, apesar de serem filogeneticamente próximas;
6. A associação [13,22]/21 foi encontrada nos quatro cariótipos analisados;
7. A associação 20/[13,22] foi encontrada nos três citótipos analisados de *O. paricola*;
8. Em relação a HME, as quebras cromossômicas foram menos frequentes em *O. auyantepui* do que nos três citótipos de *O. paricola*;
9. Os citótipos analisados do gênero *Oecomys* apresentaram poucos rearranjados, em relação a outras espécies de sigmodontíneos;
10. O gênero *Oecomys* representa um grupo muito diverso e os estudos de mapeamento comparativo dentro deste gênero são de grande relevância para auxiliar na identificação dos mecanismos de rearranjos cromossômicos que ocorrem na diferenciação dos cariótipos das espécies desses gêneros.