

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME PEREIRA RABELO

O GÊNERO *AKODON* (RODENTIA, CRICETIDAE) – PRINCIPAIS
MECANISMOS RESPONSÁVEIS PELA VARIABILIDADE
CARIOTÍPICA E SUA POSSÍVEL IMPLICAÇÃO NA
DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES OCORRENTES NO ESTADO DO
PARANÁ

CURITIBA

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME PEREIRA RABELO

O GÊNERO *AKODON* (RODENTIA, CRICETIDAE) – PRINCIPAIS
MECANISMOS RESPONSÁVEIS PELA VARIABILIDADE
CARIOTÍPICA E SUA POSSÍVEL IMPLICAÇÃO NA
DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES OCORRENTES NO ESTADO DO
PARANÁ

Monografia apresentada ao curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas
da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ives José
Sbalqueiro

CURITIBA

2007

Agradeço à minha família, sem qual não seria possível ingressar nem concluir este curso.

Aos amigos que já tinha e que fiz ao longo desta jornada, que me apoiaram em momentos importantes.

Aos meus colegas de Laboratório e estágio, especialmente Cris e Suelen, que me ensinaram muito e me deram conselhos valiosos.

Ao meu mestre Ives José Sbalqueiro, por quem nutro grande respeito e admiração.

SUMÁRIO

RESUMO	ii
I. INTRODUÇÃO	01
1. ASPECTOS GERAIS DE RODENTIA.....	01
2. ORIGEM, DIFERENCIAÇÃO E DIVERSIDADE DE SIGMODONTINAE.....	02
3. CARACTERÍSTICAS GERAIS E VARIAÇÃO CROMOSSÔMICA EM <i>AKODON</i>	04
4. OBJETIVOS.....	05
II. MATERIAL E MÉTODOS	07
1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	07
2. MÉTODOS CITOGENÉTICOS.....	09
2.1. PREPARAÇÃO MITÓTICA.....	09
2.2. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS	10
2.3. TÉCNICAS DE COLORAÇÃO.....	10
2.3.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL	10
2.3.2. BANDEAMENTO C	10
2.3.3. BANDEAMENTO G	11
2.3.4. BANDEAMENTO NOR.....	11
2.4. ANÁLISE DAS LÂMINAS E MONTAGEM DOS CARIOGRAMAS	12
III. RESULTADOS	13
1. CARACTERIZAÇÃO DO CARIÓTIPO	13
1.1. <i>Akodon cursor</i>	13
1.2. <i>Akodon montensis</i>	15
1.3. <i>Akodon paranaensis</i>	17
1.4. <i>Akodon serrensis</i>	18
IV. DISCUSSÃO	20
1. <i>Akodon cursor</i>	20
2. <i>Akodon montensis</i>	22
3. <i>Akodon paranaensis</i>	22
4. <i>Akodon serrensis</i>	23
5. ANÁLISE DE SIMPATRIA.....	23
V. CONCLUSÕES	25
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar os principais mecanismos responsáveis pela variabilidade cariotípica e sua possível implicação na distribuição de quatro espécies de *Akodon* ocorrentes no Estado do Paraná. Os dados mostraram que este gênero tem uma ampla distribuição no Paraná, tendo sido registrado em 28 localidades. Foram analisados espécimes provenientes do banco de dados do Laboratório de Citogenética Animal da UFPR (350 exemplares) e de coletas realizadas (10 exemplares). Após a preparação citológica, aplicação de coloração comum e diferentes técnicas de bandeamento, os dados analisados evidenciaram uma alta variabilidade cariotípica em duas das espécies e constância nas demais. A distribuição geográfica do gênero, de acordo com os achados cariotípicos, mostrou que o limite a oeste foi o município de Foz do Iguaçu, a leste, a baía de Guaraqueçaba, ao norte, Londrina e ao sul, Mangueirinha. No Paraná, suas espécies habitam principalmente formações do bioma Mata Atlântica. A espécie *Akodon cursor* (ACU, 58 fêmeas : 75 machos), que ocorreu em 3 localidades na Serra do Mar e baixada litorânea (mun. de Guaraqueçaba), apresentou variações tanto no $2n$ (14, 15 e 16) como no NA (18 a 24), face a ocorrência de um rearranjo complexo envolvendo fusão-fissão cêntrica mais inversão pericêntrica, no par 1 e inversões pericêntricas nos pares 2 e 3. Na forma com $2n = 16$ os pares 1a e 1b apresentam morfologia submetacêntrica, em $2n = 14$ eles se encontram rearranjados formando o par 1, que é metacêntrico. O $2n = 15$ apresenta a condição heterozigota com a presença de três cromossomos ímpares: 1, 1a e 1b. Em bandamento G foi possível observar a homologia entre estes cromossomos. *A. montensis* (AMO) foi a que apresentou a distribuição mais ampla – 23 localidades – e mostrou uma variação cromossômica numérica em seu cariótipo ($2n = 24$ a 26; NA = 42, 44 e 46; mosaicismos, $2n = 24/25$; NA = 42/44), devida à presença de até dois cromossomos B, que exibiram morfologia subtelocêntrica. Nesta espécie também se observou variações na morfologia do cromossomo Y (que se apresentou acrocêntrico, submetacêntrico e metacêntrico), decorrentes, possivelmente, de inversões pericêntricas. Tanto *Akodon paranaensis* (APA, $2n = 44$; NA = 44) como *Akodon serrensis* (ASE, $2n = 46$; NA = 46) apresentaram estabilidade cariotípica ao longo de suas distribuições. O APA (13 localidades) teve uma distribuição mais ampla que o ASE (quatro). As ocorrências de simpatria foram observadas entre AMO e APA (7 das localidades), ACU e AMO (3 localidades) e entre AMO, APA e ASE (três localidades), indicando que este fenômeno é uma característica comum ao gênero.

I. INTRODUÇÃO

1. ASPECTOS GERAIS DE RODENTIA

Os roedores (Ordem Rodentia) compõem um grupo antigo, surgido no Paleoceno da América do Norte e Ásia há cerca de 56 milhões de anos e desde então constituem importantes membros da maioria das faunas terrestres (VAUGHAN et al, 2000). As suas principais características são: a presença de um par de incisivos que crescem continuamente e que possuem esmalte apenas na face anterior, que faz com que sejam continuamente afiados, e um grande diastema (espaço) entre os incisivos e pré-molares (ou molares), resultante da perda dos caninos e outros dentes. Essa configuração básica permitiu que os roedores explorassem uma ampla gama de alimentos e colonizassem quase todos os ambientes terrestres.

Eles estão presentes em todo o mundo exceto a Antártida, Nova Zelândia e algumas ilhas oceânicas. Sua diversidade ecológica é enorme: alguns podem passar a vida inteira no dossel da floresta, enquanto outros jamais deixam o chão; alguns possuem um hábito semi-aquático, enquanto outros se especializaram em ambientes desérticos; grande parte deles é onívora ou herbívora, mas há aqueles que se alimentem de fungos, insetos e até mesmo peixes. Possuem também uma enorme variedade de formas e tamanhos sendo que o menor roedor atual é o camundongo-pigmeu Africano (*Mus minutoides*), que possui 5 gramas, e o maior, a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), que pode chegar a mais de 50 quilogramas. O maior roedor que já existiu é o extinto *Phoberomys pattersoni*, que possuía 4,5 metros de comprimento, inclusa a cauda, e se acredita que poderia pesar 700 quilogramas (ALEXANDER, 2003).

A ordem Rodentia possui cerca de 2200 espécies distribuídas em mais de 30 famílias, o que corresponde a pouco mais de 40% das espécies atuais de mamíferos (WILSON e REEDER, 2005), sendo que mais de 400 delas ocorrem na América do Sul, cerca de 43% da fauna de mamíferos de continente (REIG, 1984). Com base em evidências morfológicas e moleculares, WILSON e REEDER (2005) propõem a divisão da ordem Rodentia em cinco subordens:

- Anomaluomorpha, que abrange duas famílias de roedores africanos (4 gêneros e 9 espécies);
- Hystricomorpha, que inclui chinchilas, porcos-espinho, ratos-de-espinho, capivaras, entre outros (18 famílias, 77 gêneros e 290 espécies);
- Castorimorpha, que inclui castores e ratos-canguru (3 famílias, 7 gêneros e 62 espécies);
- Sciuromorpha, que engloba esquilos e outros (3 famílias, 61 gêneros e 307 espécies);
- Myomorpha, que inclui ratos-saltadores, hamsters, ratos e camundongos (7 famílias, 323 gêneros e 1569 espécies).

2. ORIGEM, DIFERENCIAÇÃO E DIVERSIDADE DE SIGMODONTINAE

Dentro da Subordem Myomorpha se encontra a família Cricetidae, que possui como subfamílias Arvicolinae, Cricetinae, Tylomyinae, Neotominae e Sigmodontinae. Estes últimos englobam, respectivamente, roedores predominantemente norte-americanos e sul-americanos. O primeiro a sugerir esta dicotomia entre os roedores do Novo Mundo foi RINKER (1954), com um estudo comparativo de roedores de ambos continentes. HOOPER e MUSSER (1964) reforçam essa separação com a indicação de dois padrões de glândula peniana: o tipo “complexo”, que seria mais antigo e pertencente aos sigmodontinos, e o simples, mais derivado e próprio dos neotominos. Essa classificação foi consolidada e as denominações formalizadas em REIG (1980).

De acordo com PARDIÑAS et al. (2002), fundamentando-se em registro fóssil, os primeiros sigmodontinos possuem uma origem norte-americana, sendo que o aparecimento do grupo se deu entre 9 e 16 milhões de anos atrás, com o gênero *Copemys*. A diversificação da subfamília e a invasão do continente sul-americano são o centro de um debate que possui diversas hipóteses.

A hipótese clássica postula que grande parte da diversificação dos sigmodontinos se deu na América do Norte e que eles são membros recentes da fauna sul-americana. A invasão do continente teria ocorrido durante o Grande Intercâmbio Biótico Americano no Plioceno, após o estabelecimento da ponte panamenha (PATTERSON e PASCUAL, 1972; SIMPSON 1950, 1969). O principal argumento desta hipótese é o registro fóssil, sendo que as formas mais antigas encontradas na

América do Sul datam do Plioceno Inferior (5 a 4 milhões de anos atrás) e pertencem às tribos Akodontini e Phyllotini (PARDIÑAS et al, 2002).

Uma hipótese alternativa, proposta por HERSHKOVITZ (1966, 1972) e sustentada por outros autores (SAVAGE, 1974; REIG, 1984), diz que a atual diversidade e o endemismo dos sigmodontinos sul-americanos não podem ser explicados pelo modelo acima. A invasão da América do Sul seria mais antiga, no Mioceno Inferior (20 milhões de anos atrás), e teria ocorrido por dispersão aquática passiva, por meio de jangadas. A diferenciação dos gêneros e espécies teria se dado após a colonização do continente em eventos cladogênicos locais, ao longo da cordilheira dos Andes (REIG, 1984).

Além destas, há uma hipótese temporal intermediária elaborada por MARSHALL (1979), corroborada por estudos moleculares (ENGEL et al, 1998; SMITH e PATTON, 1999), que propõe que a invasão teria se dado a partir da América Central, entre 7 e 5 milhões de anos atrás, sendo que dois eventos importantes nessa época teriam possibilitado isso: uma acentuada queda no nível do mar causada pelo aumento das calotas polares, que reduziria a barreira marinha entre a América Central e do Sul, facilitando assim a dispersão aquática por meio de jangadas, e o início da formação dos Andes, que criou novos hábitats a serem explorados.

REIG (1980) divide os cricetídeos neotropicais (Sigmodontinae) em sete tribos distintas: Oryzomyini, Akodontinae, Phyllotini, Ichthyomyini, Scapteromyini, Sigmodontini e Wiedomyini, sendo que quatro gêneros (*Abrawayaomys*, *Punomys*, *Rhagomys* e *Zygodontomys*) ficam sendo *incertae sedis*, sem relação precisa com os demais. Trabalhos posteriores baseados em evidências moleculares (SMITH e PATTON, 1999; D'ELIA, 2003; D'ELIA et al, 2006) colocam Sigmodontini e Ichthyomyini na base da radiação dos sigmodontinos, que formam um clado irmão das tribos restantes, agrupadas como Oryzomyalia por STEPPAN et al (2004). A relação entre estas tribos não é bem definida, sendo que continuam sendo reconhecidas Oryzomyini, Phyllotini, Akodontini e Wiedomyini. Thomasomyini é elevada à categoria de tribo por abrigar gêneros que costumavam ser classificados como orizominos. Os scapterominos são inclusos em Akodontini e um agrupamento, ainda em

vias de ser formalizado, reúne os gêneros *Abrothrix*, *Chelemys*, *Geoxus* e *Notiomys*, além de diversos gêneros permanecerem como *incertae sedis*.

A tribo Akodontini compreende atualmente 14 gêneros: *Akodon*, *Bibimys*, *Blarinomys*, *Brucepattersonious*, *Deltamys*, *Juscelinomys*, *Kunsia*, *Lenoxus*, *Necromys*, *Oxymycterus*, *Podoxymys*, *Scapteromys*, *Thalpomys* e *Thaptomys* (D'ELIA, 2003). O Laboratório de Citogenética Animal da UFPR possui em seus registros espécimes de *Akodon*, *Necromys*, *Oxymycterus*, *Scapteromys* e *Thaptomys*, coletados no Paraná.

3. CARACTERÍSTICAS GERAIS E VARIAÇÃO CROMOSSÔMICA EM AKODON

Entre estes, destaca-se o gênero *Akodon* por conter, na América do Sul, principalmente no Brasil e Argentina, o maior número de espécies (mais de 40), sendo que novas espécies continuam a ser descritas (BRAUN et al, 2000; CHIRSTOFF et al, 2000; DÍAZ et al, 1999; GONZÁLEZ et al, 1998; HERSHKOVITZ, 1990; MYERS e PATTON, 1989; PARDIÑAS et al 2005). De maneira geral, os membros deste gênero possuem uma forma semelhante a um rato, dieta onívora, pelagem aveludada tendendo à coloração verde-olivácea, bruno-pálida ou cinzenta, com a cauda igual ou menor ao comprimento do corpo mais cabeça e garras normais. São tipicamente terrestres, galerícolas ou subterrâneos. Neste gênero estão agrupadas espécies fenotipicamente similares, algumas das quais de difícil separação taxonômica, o que contrasta com a sua enorme multiformidade cariotípica. O menor número diplóide, $2n = 10$, pertence a uma espécie ainda não descrita (SILVA e YONENAGA-YASSUDA, 1998), e o maior, $2n = 46$, a *Akodon serrensis* (SBALQUEIRO 1989, CHRISTOFF et al, 2000). Ao menos quatro espécies de *Akodon* ocorrem no Paraná: *A. cursor*, *A. montensis*, *A. paranaensis* e *A. serrensis*. Uma característica marcadora do cariótipo do grupo é a presença de um pequeno par metacêntrico no complemento autossômico de todas as espécies.

O *Akodon cursor* pode apresentar $2n = 14$, 15 ou 16 devido a um rearranjo complexo dos pares cromossômicos 1a e 1b, além de inversões pericêntricas nos pares 2 e 3, que fazem com que seu número de braços longos (NA) varie de 18 a 26 (FAGUNDES et al, 1998; SBALQUEIRO e NASCIMENTO, 1996). Também há registros da ocorrência de espécimes com trissomia do par 7 e a presença de fêmeas XO, devido à perda de um cromossomo sexual (FAGUNDES et al, 1998). Em estudos

comparativos dos diferentes citótipos desta espécie, utilizando as técnicas de banda-G e pintura cromossômica, FAGUNDES et al. (1997) sugerem que o $2n = 16$ seja a forma ancestral da de 14 cromossomos, devido à presença de seqüências teloméricas intersticiais no cromossomo resultante do rearranjo dos pares 1a e 1b.

O polimorfismo cromossômico existente em *A. montensis*, que pode possuir de 24 a 26 cromossomos, é devido à presença de 0 a 2 cromossomos supranumerários. FAGUNDES e YONENAGA-YASSUDA (1998) descreveram a ocorrência de regiões organizadoras de nucléolo nos cromossomos acessórios e sugerem que isso pode ser devido ao processo de estabilização da redução recente do número diplóide desta espécie. Há registros de ocorrência de machos XYY de *A. montensis* (SBALQUEIRO, 1989), FAGUNDES et al (2000) descrevem a ocorrência de fêmeas XY devido a uma translocação em *A. montensis*.

A. cursor e *A. montensis*, juntamente com *A. sp* ($2n = 10$) formam um complexo de espécies indistinguíveis morfologicamente e próximas filogeneticamente (GEISE et al, 2001; SILVA et al, 2006). Além de possuírem cariótipos discrepantes, as espécies *A. cursor* e *A. montensis* podem ser diferenciadas pela vesícula biliar, presença na primeira e ausência na segunda (GEISE et al, 2004), e caracteres craniométricos (GEISE et al, 2005).

De modo geral, *A. paranaensis* ($2n = 44$) e *A. serrensis* ($2n = 46$) apresentam cariótipos estáveis, sendo que todos os cromossomos, inclusive os sexuais, são acrocêntricos, exceto pelo pequeno par de metacêntricos, marcador do gênero. No entanto, em *Akodon paranaensis* há relatos de fêmeas X0 e machos XXY (SBALQUEIRO, 1989).

4. OBJETIVOS

Tendo em vista as considerações acima, objetivamos avaliar os principais mecanismos responsáveis pela variabilidade cariotípica observada entre as diferentes espécies de roedores de *Akodon* e sua distribuição geográfica no Estado do Paraná.

Para atingir tais objetivos, foram realizados estudos citogenéticos das espécies deste gênero, originárias de 28 diferentes regiões de coletas no Estado do Paraná, sendo três do presente trabalho e 25 do levantamento dos dados pertencentes ao acervo do Laboratório de Citogenética Animal, Departamento de Genética da UFPR.

Desta forma, as seguintes etapas serão obedecidas:

- a) descrição dos cariótipos encontrados, estabelecendo seus padrões de bandeamentos - C, G e regiões organizadoras de nucléolos;
- b) levantamento dos dados citogenéticos protocolados no Laboratório de Citogenética Animal;
- c) avaliação da variabilidade cariotípica e sua distribuição geográfica no Estado do Paraná.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra considerada é composta por um total de 360 exemplares (147 fêmeas e 213 machos) de quatro espécies de *Akodon*, coletados em 28 diferentes locais do Estado do Paraná. Para o presente trabalho foram utilizados dados provenientes de coletas em três novas localidades (Balsa Nova, Palmeira e Barro Preto, em São José dos Pinhais) e aqueles do acervo do Laboratório de Citogenética Animal. Na Tab. 01 e Fig. 01 estão, respectivamente, relacionados e apontados as 28 localidades.

A captura dos animais foi feita utilizando-se armadilhas de arame galvanizado (do tipo “life trap”), sendo a isca composta de rodela de milho com amendoim.

Os exemplares capturados foram registrados com a letra “P” seguida de um número seqüencial, que é o protocolo adotado no Laboratório de Citogenética Animal da UFPR. Todos os animais coletados foram taxidermizados, preparados os crânios, e tombados no acervo do Laboratório de Citogenética Animal (UFPR).

Tab. 01 – Locais e número de exemplares das quatro espécies de *Akodon* coletadas no Paraná. Entre parênteses estão a quantidade de fêmeas (F) e machos (M).

Local \ Espécie	<i>A.cursor</i>	<i>A.montensis</i>	<i>A.paranaensis</i>	<i>A.serrensis</i>
Região Metropolitana de Curitiba				
1. Guaraqueçaba	125 (57 F : 68 M)			
2. Antonina	3 (1 F : 2 M)			
3. Morretes	5 (5 M)	5 (1 F : 4 M)		
4. Campina Grande do Sul		1 (1 M)	3 (2 F : 1 M)	
5. Quatro Barras		7 (2 F : 5 M)		6 (2 F : 4 M)
6. Piraquara		10 (3 F : 7 M)	11 (2 F : 9 M)	4 (2 F : 2 M)
7.1. São José dos Pinhais		25 (10 F : 15 M)	15 (7 F : 8 M)	3 (3 M)
7.2. S. José dos Pinhais – Barro Preto			3 (2 F : 1 M)	
8. Tijucas do Sul		5 (1 F : 4 M)	12 (8 F : 4 M)	2 (2 M)
9. Colombo		7 (2 F : 5 M)	3 (3 M)	
10. Curitiba		1 (1 F)	21 (11 F : 10 M)	
11. Mandirituba		4 (2 F : 2 M)	6 (2 F : 4 M)	
12. Vale do Ribeira		1 (1 F)		
13. Almirante Tamandaré		3 (2 F : 1 M)		
14. Araucária		2 (2 M)	13 (5 F : 8 M)	
15. Campo Largo			6 (1 F : 5 M)	
16. Balsa Nova		4 (2 F : 2 M)		
Região Centro-Oriental				
17. Jaguariaíva		2 (1 F : 1 M)		
18. Arapoti		2 (1 F : 1 M)		
19. Telêmaco Borba		1 (1 M)		
20. Palmeira		3 (1 F : 2 M)		
Região Sudeste				
21. São João do Triunfo		4 (2 F : 2 M)		
22. São Mateus do Sul		6 (2 F : 4 M)	1 (1 M)	
23. Cruz Machado		2 (1 F : 1 M)		
Região Norte-Central				
24. Londrina		7 (2 F : 5 M)		
Região Centro-Sul				
25. Pinhão		4 (3 F : 1 M)	2 (1 F : 1 M)	
26. Mangueirinha			3 (1 F : 2 M)	
Região Oeste				
27. Três Barras do Paraná			2 (1 F : 1 M)	
28. Foz do Iguaçu		5 (2 F : 3 M)		
Total = 360 (147 F : 213 M)	133 (58 F : 75 M)	111 (42 F : 69 M)	101 (43 F : 58 M)	15 (4 F : 11 M)

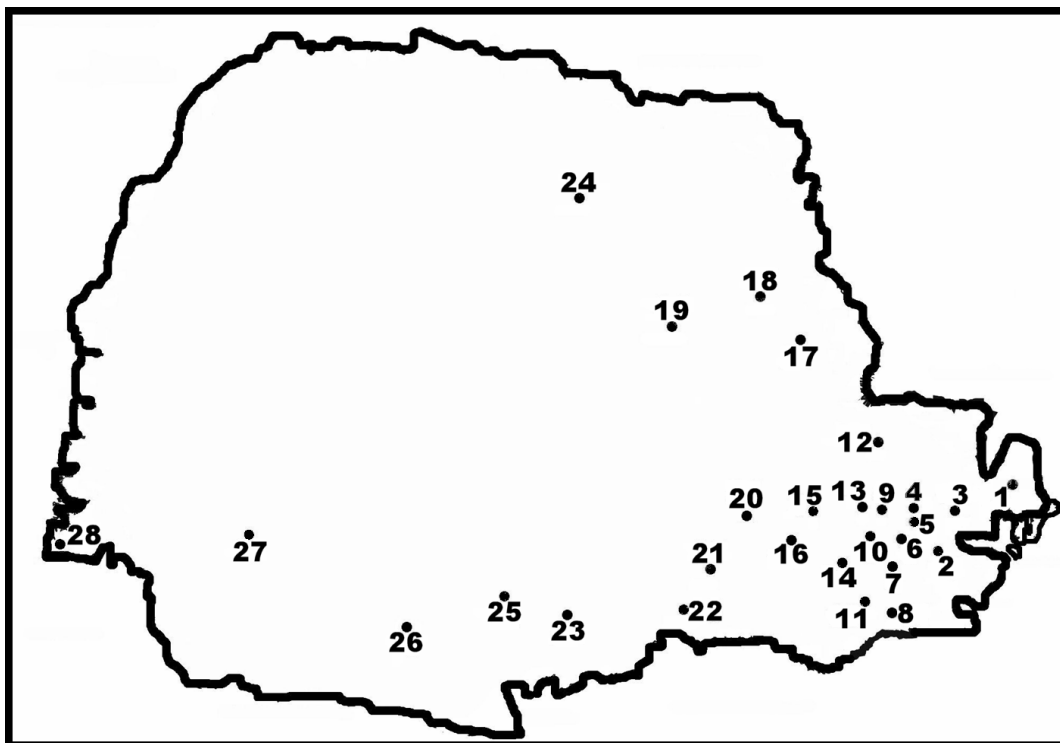


Fig. 01 – Locais de coletas das quatro espécies *Akodon* no Estado do Paraná, de acordo com a Tab. 01.

2. MÉTODOS CITOGENÉTICOS

2.1. PREPARAÇÃO MITÓTICA

A preparação mitótica para obtenção de metáfases seguiu a técnica descrita em FORD e HAMERTON (1956), com as modificações feitas em SBALQUEIRO (1989):

- Injetar intraperitonealmente 1ml de solução de colchicina (incubada à 37°C) para cada 100g de peso do animal.
- Após 1 hora, sacrificar o animal.
- Efetuar uma incisão na região ventral para a retirada dos fêmures.
- Cortar as epífises dos fêmures e, por meio de uma seringa contendo solução hipotônica (KCl 0,0075M), transferir o material medular para um tubo de ensaio.
- Ressuspender o material gentilmente e deixar em repouso por 20 minutos.

- Adicionar 1ml de fixador (3 metanol : 1 ácido acético), ressuspender novamente e centrifugar o material a 800 rpm por 10 minutos.
- Retirar o sobrenadante, deixando 1ml de solução e adicionar 5ml de fixador.
- Ressuspender e centrifugar novamente a 800 rpm por 10 minutos.
- Repetir o passo 7 duas vezes, totalizando três trocas de fixador.
- Após a última fixação, deixar 1ml de solução, podendo esta ser em maior ou menor quantidade conforme seja a concentração do precipitado.

2.2 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS

As lâminas foram lavadas com detergente neutro e enxaguadas com água filtrada. Após isso, eram mantidas refrigeradas imersas em álcool 70%.

Para a montagem, as lâminas foram secas ao ar. O material foi ressuspendido e pingadas duas gotas sobre uma lâmina mantida em banho-maria a 60-65°C. Após, a secagem foi feita ao ar e as lâminas destinadas ao bandeamento NOR e G, que foram “envelhecidas” numa estufa mantida à 60°C por 3 a 4 dias.

2.3 TÉCNICAS DE COLORAÇÃO

2.3.1 COLORAÇÃO CONVENCIONAL

As lâminas montadas foram coradas com Giemsa, diluído em tampão fosfato pH 6,8 a 5%, por um período de 8 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, lavadas em água corrente e, após secarem, observadas ao microscópio e analisadas.

2.3.2 BANDEAMENTO C

O bandeamento C permite a visualização de regiões de heterocromatina constitutiva, usando para isso bário e Giemsa. Foi seguido o protocolo descrito em SUMNER (1972), com algumas modificações:

- A lâmina pode ser preparada no dia ou envelhecida por três dias a 40°C.
- Passar em 0,2N HCl a 43-45°C por 2 minutos.

- Lavar em H₂O destilada e secar.
- Mergulhar em solução de bário 5% a 43-45°C por 15 segundos, sendo que esse tempo pode ser aumentado ou diminuído conforme os resultados obtidos.
- Passar em 0,2N HCl a 43-45°C por 2 minutos.
- Lavar bem, com jatos de H₂O destilada.
- Mergulhar em solução salina 2SSC pH 7,0 a 60-65°C por 15 minutos.
- Lavar em água destilada e corar conforme protocolo de coloração convencional.

2.3.3 BANDEAMENTO G

Este procedimento evidencia bandas claras e escuras nos cromossomos, utilizando tripsina e Giemsa, o que permite o correto pareamento deles. A técnica de banda G foi feita conforme SEABRIGHT (1971), modificada em SBALQUEIRO (1989):

- Preparar as lâminas e envelhecer por 3-4 dias em estufa a 40°C.
- Incubar as lâminas em tampão fosfato pH 6,8 por 2 minutos.
- Incubar em solução de tripsina a 0,03% dissolvida em tampão fosfato pH 6,8 ou solução de Hanks por 30 segundos. Esse tempo pode ser aumentado ou diminuído conforme os resultados obtidos.
- Lavar rapidamente em água destilada, álcool absoluto e água destilada.
- Incubar em tampão fosfato pH 6,8 por 1 minuto.
- Corar com Giemsa (tamponado em pH 6,8) a 2,5% por 5 minutos.
- Lavar em água filtrada, esperar secar e observar ao microscópio.

2.3.4 BANDEAMENTO NOR

Esta técnica permite a observação das regiões organizadoras de nucléolo e evidenciação do complexo sinaptonêmico em material de meiose. Foi seguido o protocolo descrito por HOWELL e BLACK (1980), com algumas alterações em SBALQUEIRO (1989):

- Preparar as lâminas e envelhecer por no mínimo 4 dias a 40°C.
- Incubar as lâminas em tampão borato pH 9,2 de 5 a 10 minutos.

- Lavar em água destilada e secar ao ar.
- Colocar sobre a lâmina duas gotas de solução coloidal (0,25g de gelatina + 5 ml de água bidestilada aquecida + 0,2 ml de ácido fórmico), mais quatro gotas de solução de prata a 50% (1g de prata + 2 ml de água bidestilada + duas gotas de formalina).
- Homogeneizar as soluções com uma pipeta Pasteur.
- Cobrir com lamínula, colocar a lâmina numa câmara úmida (pode ser uma placa de Petri com papel filtro umedecido), mantendo em estufa a 70°C até atingir uma coloração castanho-dourada (cerca de 8 minutos).
- Lavar em água destilada, descartando a lamínula.
- Corar com Giemsa (tamponado em pH 6,8) a 2% por 1 minuto, lavar, secar ao ar e observar ao microscópio.

2.4 ANÁLISE DAS LÂMINAS E MONTAGEM DOS CARIOGRAMAS

A análise das metáfases foi feita ao microscópio óptico. De cada animal foram descritas e analisadas ao menos 10 metáfases, sendo que as três melhores foram fotomicrografadas ou digitalizadas no sistema de captura de imagens da Applied Spectral Imaging, com os programas Case Data Manager e Bandview, da mesma empresa. Os cariogramas foram montados levando-se em conta a morfologia dos cromossomos, seu tamanho e a comparação com a literatura.

III. RESULTADOS

1. CARACTERIZAÇÃO DO CARIÓTIPO

1.1 *Akodon cursor*

O material desta espécie provém principalmente dos estudos realizados no município de Guaraqueçaba (NASCIMENTO, 1996; SBALQUEIRO e NASCIMENTO, 1996), onde foram descritos exemplares com $2n = 14$ e NA (número de braços autossômicos) variando de 18 a 21; com $2n = 15$ e NA variando de 20 a 24 e com $2n = 16$ e NA = 23 ou 24 (Tab. 02, Fig. 02a). Em Morretes, foram capturados 5 espécimes, com $2n = 14$ e NA = 18 ou 19 e $2n = 15$ e NA = 21, 22 ou 23; em Antonina, os 3 exemplares possuíam $2n = 15$ e NA = 22 ou 23.

A grande variação tanto no $2n$ como no NA se deve a uma série de alterações cromossômicas: a) nos indivíduos com $2n = 16$, os pares autossômicos 1a e 1b apresentam morfologia submetacêntrica; b) em $2n = 14$, eles se encontram rearranjados devido a fusões e/ou fissões cêntricas, formando o par cromossômico 1, que é metacêntrico; c) o $2n = 15$ apresenta a condição heterozigota com as presenças de três cromossomos ímpares, correspondentes aos pares 1, 1a e 1b; c) os pares 2 e 3 podem ocorrer nas formas acrocêntrica e submetacêntrica, tanto em homozigose como em heterozigose; d) os pares 4, 5 e 6 são, respectivamente, submetacêntrico, acrocêntrico e pequeno metacêntricos; e) os cromossomos sexuais são acrocêntricos, ou de tamanho mediano (X) ou pequeno (Y); f) com o uso da técnica de bandeamento G foi possível evidenciar a homeologia entre os cromossomos 1a, 1b e 1, além da identificação de inversões pericêntricas envolvendo os pares 2 e 3 (Fig. 02b); g) em banda C observa-se a marcação pericentromérica nos cromossomos autossômicos e X, ao passo que o Y é todo marcado (Fig. 02c).

Tab. 02 – Frequências, absoluta e relativa, de cada um dos três citótipos de *A. cursor*, entre parênteses estão a quantidade de fêmeas (F) e machos (M).

Número diplóide (2n)	Número de indivíduos	Frequência relativa (%)
14	64 (28 F : 36 M)	48
15	61 (27 F : 34 M)	46
16	8 (3 F : 5 M)	6
Total	133 (58 F : 75 M)	100

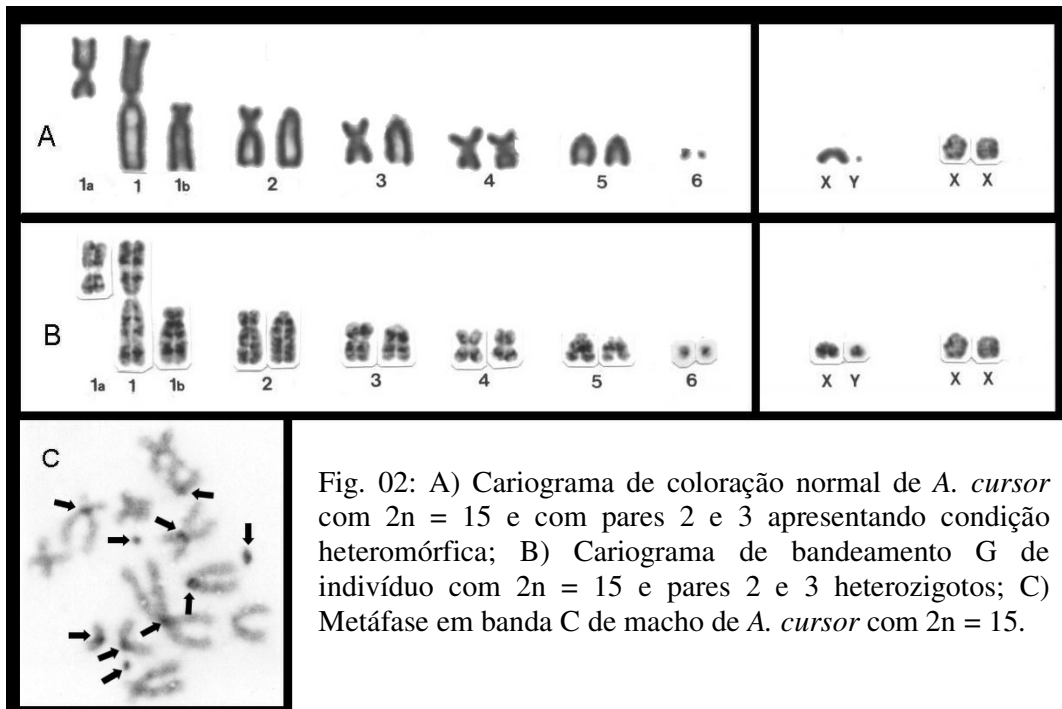


Fig. 02: A) Cariograma de coloração normal de *A. cursor* com $2n = 15$ e com pares 2 e 3 apresentando condição heteromórfica; B) Cariograma de bandeamento G de indivíduo com $2n = 15$ e pares 2 e 3 heterozigotos; C) Metáfase em banda C de macho de *A. cursor* com $2n = 15$.

A Tab. 02 mostra os três citótipos, quanto à variação morfológica do par 1(1, 1a e 1b), apresentando diferentes frequências, onde as formas com 14 e 15 cromossomos ocorreram em um maior número de exemplares. Aplicando-se o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg, verificamos que os desvios em relação aos esperados não são significativos ao nível de 5% ($\chi^2 = 1,7542$; GL = 1; $0,20 > P > 0,10$).

1.2 *Akodon montensis*

A análise do cariótipo em 111 espécimes (42 F : 69 M), mostrou quatro citótipos distintos: $2n = 24$, o mais freqüente, 25, 26 e mosaico 24/25, respectivamente com freqüências inferiores a 5% (Tab. 03). A ocorrência de mosaicismo foi observada em dois exemplares, um macho e uma fêmea, ambos de Balsa Nova. No macho, seis em 10 metáfases com 24 cromossomos e quatro com 25 (40%), enquanto que na fêmea estes valores foram, respectivamente, sete e três (30%). De um modo geral, o NA variou entre 42, 44 e 46, devido à presença de cromossomos B. O cariótipo básico de *A. montensis* corresponde ao citótipo $2n = 24$, contendo, em ordem decrescente de tamanho: pares 1 a 9, metacêntricos ou submetacêntricos; par 10, acrocêntrico, e o par 11 composto por pequenos metacêntricos. O cromossomo X é acrocêntrico e o Y pode ser acrocêntrico, metacêntrico ou submetacêntrico (Fig. 3d). De um total de 29 machos analisados, 16 (55%) exibiram o cromossomo Y com morfologia acrocêntrica, 8 (28%) submetacêntrica e 5 (17 %) metacêntrica.

Na Fig. 03 são mostrados dois cariogramas: um em coloração comum ($2n= 25$), incluindo cromossomo B (Fig. 3a); outro ($2n= 24$) em banda G (Fig. 03b), onde foi possível identificar todos os cromossomos; e uma metáfase em banda C ($2n= 25$), onde o padrão se revelou pouco conspícuo e restrito à região pericentromérica de poucos autossomos e cromossomo X, exceções aos Y e B, que se mostraram inteiramente corados, mas neste último a marcação foi mais tênue (Fig. 3c).

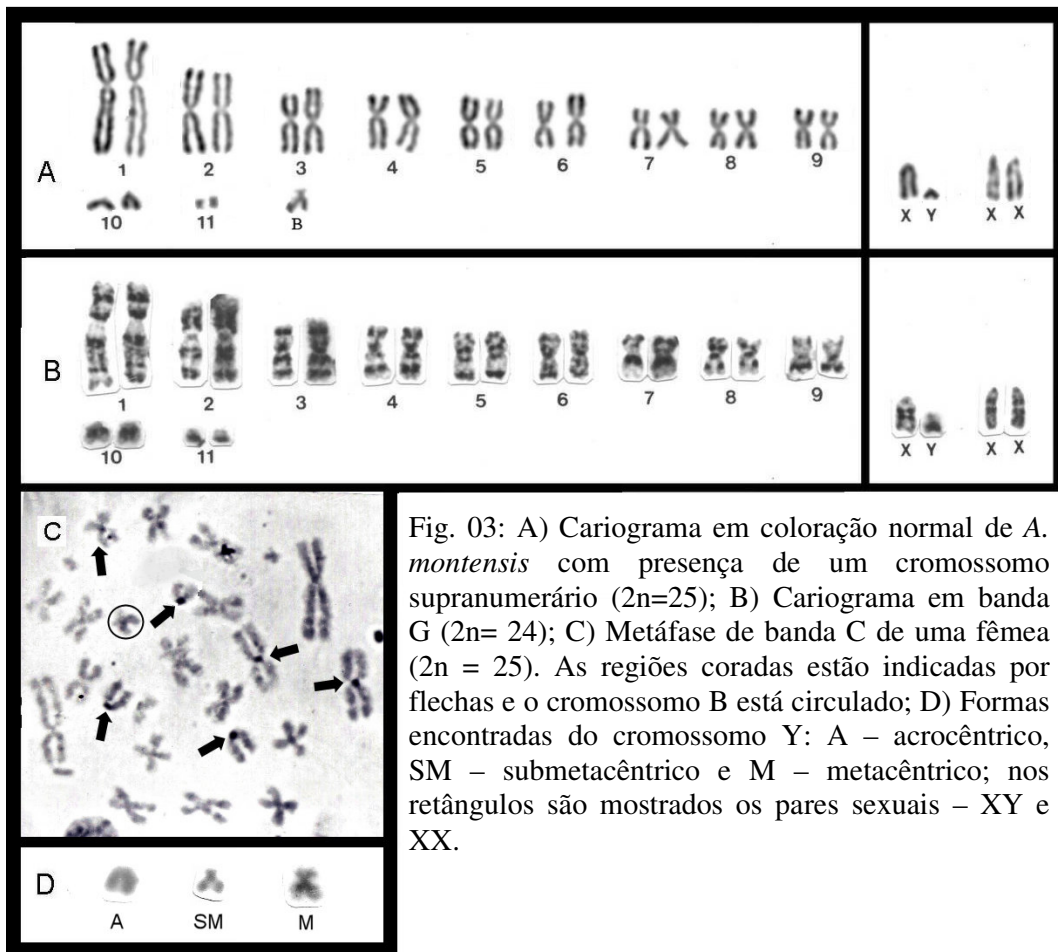


Fig. 03: A) Cariograma em coloração normal de *A. montensis* com presença de um cromossomo supranumerário ($2n=25$); B) Cariograma em banda G ($2n= 24$); C) Metáfase de banda C de uma fêmea ($2n = 25$). As regiões coradas estão indicadas por flechas e o cromossomo B está circulado; D) Formas encontradas do cromossomo Y: A – acrocêntrico, SM – submetacêntrico e M – metacêntrico; nos retângulos são mostrados os pares sexuais – XY e XX.

A variação no $2n$ e NA desta espécie se deve a presença de até dois cromossomos subtelocêntricos supranumerários ou cromossomos B. Na Tab. 3 são apresentados os vários citótipos e suas respectivas frequências, notando-se que o cariótipo $2n= 24$ ocorreu em 91% dos exemplares analisados. Destaque-se também a presença de três animais mosaicos ($2n= 24/25$) e outros com 25 ou 26 cromossomos, todos com frequências inferiores a 5%.

Tab. 03 – Frequência dos citótipos de *Akodon montensis*, entre parênteses estão a quantidade de fêmeas (F) e machos (M).

Número diplóide (2n)	Número de indivíduos	Frequência relativa (%)
24	101 (37 F : 64 M)	91
25	5 (4 F : 1 M)	4,5
24/25	3 (1 F : 2 M)	2,5
26	2 (2 M)	2
Total	111 (42 F : 69 M)	100

1.3 *Akodon paranaensis*

Foram analisados 101 exemplares (43 F : 58 M), que apresentaram uma constância cariotípica ($2n = 44$ e $NA = 44$). O complemento autossômico é composto por 20 pares acrocêntricos, um pequeno par metacêntrico, enquanto que no par sexual o X é acrocêntrico, de tamanho mediano, e o Y, acrocêntrico e um dos menores do genoma (Figura 4a).

Na Fig 4b, percebe-se que a banda C se restringe à região pericentromérica de poucos pares de autossomos e ao X, ao passo o Y é todo corado. Com o uso do bandamento G todos os cromossomos foram identificados e, conseqüentemente, pareados corretamente.

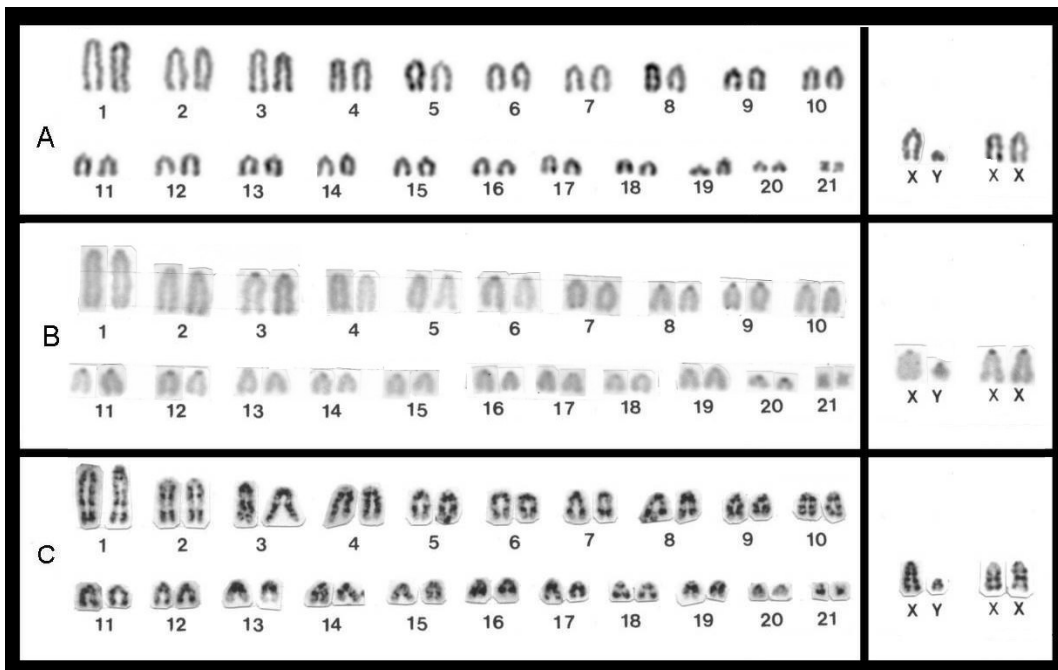


Fig. 04: A) Cariograma em coloração normal de *A. paranaensis*; B) Cariograma em banda C; C) Cariograma em bandeamento G. Nos retângulos os pares sexuais.

1.4 *Akodon serrensis*

Foram avaliados citogeneticamente 15 exemplares (4 F : 11 M), que mostraram uma constância cariotípica, sendo composto por 22 pares de autossomos, 21 de acrocêntricos e 1 de pequenos metacêntricos, e um par sexual, onde o X é mediano e acrocêntrico e o Y, um dos menores do complemento e igualmente acrocêntrico (Fig. 05a).

A aplicação de banda C resultou em marcações fortes na região pericentromérica de todos os cromossomos autossômicos e do X, além da evidência do cromossomo Y (Fig. 05b). Em bandeamento G foi possível parear todos os cromossomos corretamente, assim como a identificação dos cromossomos sexuais (Fig. 05c).

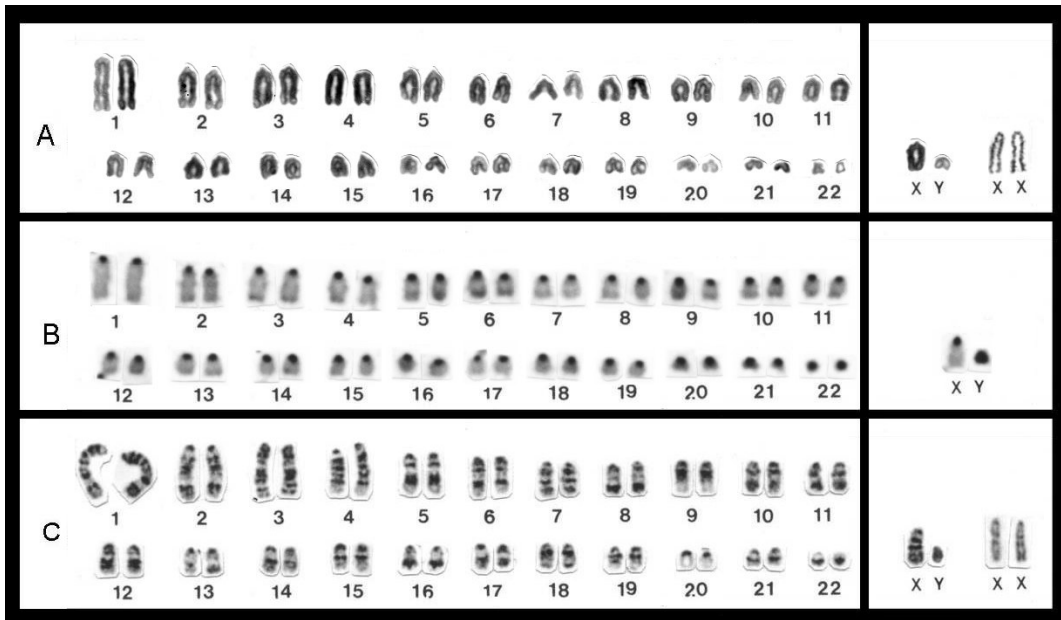


Fig. 05: A) Cariograma em coloração comum de *Akodon serrensis*; B) Cariograma de banda C de um macho de *Akodon serrensis*; C) Cariograma em banda G de *Akodon serrensis*.

IV. DISCUSSÃO

Os dados o presente trabalho, através das quatro espécies – *Akodon cursor* (ACU), *Akodon montensis* (AMO), *Akodon paranaensis* (APA) e *Akodon serrensis* (ASE) - ocorrentes no Paraná, mostram que o gênero revela uma ampla distribuição, tendo sido registrado em diversas regiões, correspondentes a 28 municípios. Os limites da sua distribuição a oeste é o município de Foz do Iguaçu, a leste, a baía de Guaraqueçaba, ao norte, o limite foi Londrina e ao sul, Mangueirinha (Fig. 01). No Paraná, suas espécies habitam principalmente formações do bioma Mata Atlântica.

1. *Akodon cursor*

O *Akodon cursor* foi encontrado em três municípios no Estado: Guaraqueçaba ($2n = 14, 15$ e $16 / NA = 18-24$), Morretes ($2n = 14$ e $15 / NA = 18, 19, 21-23$) e Antonina ($2n = 15 / NA = 22, 23$), que se localizam na Serra do Mar e baixada litorânea do Paraná, o que corresponde ao limite sul de sua distribuição. Os achados citogenéticos aqui descritos já haviam sido parcialmente relatados em NASCIMENTO (1996) e SBALQUEIRO e NASCIMENTO (1996). De forma geral, *A. cursor* ocorre na Floresta Ombrófila Densa e Floresta Estacional Semidecidual de baixas altitudes próximas ou na região litorânea, sendo que há registros dele, além do Paraná (PR), em São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Espírito Santo (ES), Minas Gerais (MG), Bahia (BA), Pernambuco (PE) e Paraíba (PB) (BONVICINO et al, 2002; FAGUNDES et al, 1997; FAGUNDES et al, 1998; FIGUEIREDO e FERNANDEZ, 2004; GEISE et al, 1998; GEISE et al, 2001; GEISE et al, 2005; GENTILE et al, 1997; OLIFIERS et al, 2005; PAGLIA et al, 2005; PARESQUE et al, 2004; PIRES et al, 2002; VAZ, 2005; VIEIRA et al, 2004). PARDIÑAS et al (2003) relatam a possível ocorrência de *A. cursor* na Argentina, embora ela não seja conclusiva devido à ausência de análise citogenética ou molecular.

FAGUNDES et al (1998) descreve 28 diferentes cariótipos para a espécie em diversas localidades do Brasil. Ainda nesse trabalho, é feita uma revisão da frequência de citótipos encontrados nos diversos Estados. Enquanto em PE todos os indivíduos apresentam $2n = 16$, na BA esse número cai para 44% dos espécimes analisados e em SP, RJ e PR a frequência é de apenas 2,3%. Uma tendência oposta é observada no citótipo $2n = 14$: enquanto ele está ausente em PE e BA, em SP, RJ e PR sua frequência

é 72%. Quanto aos pares autossômicos 2 e 3, há uma predominância das formas com dois braços na BA e PE, sendo que em SP, RJ e PR há maior incidência da forma acrocêntrica para esse par. Em FAGUNDES et al (1997), é sugerido que a forma com $2n = 16$ seria a ancestral para a espécie e $2n = 14$ a mais derivada, o mesmo ocorrendo com as formas com dois braços para os pares 2 e 3 (ancestrais) em relação à forma acrocêntrica (derivada). Posto isso, FAGUNDES et al (1998) propõem que as populações de PE possuem a constituição cariotípica mais antiga observada em *A. cursor*.

Alguns autores argumentam que a forma com $2n = 16$ que ocorre em MG, BA, PB e PE constitui uma unidade taxonômica distinta, utilizando para isso dados moleculares (GEISE et al 2001; SILVA et al 2006). Indivíduos com $2n = 16$ separados por mais de 1500 km demonstraram maior semelhança na seqüência do gene mitocondrial citocromo-b do que com outros citótipos mais próximos geograficamente. No entanto, FAGUNDES et al (1998) postula que não há diferenças de morfologia externa e cranio-dentárias ou padrão geográfico consistente entre as formas com $2n = 14, 15$ e 16 . Os autores consideram todos os citótipos como uma única espécie com polimorfismo intrapopulacional, sendo que a simpatria dos três citótipos que ocorre na BA, SP e PR corroboram isso.

Com base na frequência dos citótipos observada neste trabalho, foi possível verificar que as formas se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo que desvio observado não é significativo a 5% ($\chi^2 = 1,7542$; GL = 1; $0,20 > P > 0,10$). Com base nisso, é possível inferir que os citótipos estão em um estado polimórfico estável, e que de acordo com KING (1993), não há um efeito heterótico negativo, sendo que o rearranjo dos cromossomos 1, 1a e 1b são neutros em termos de especiação. Embora alterações cromossômicas possam ser deletérias, gerar indivíduos com aberrações e funcionar como mecanismos de isolamento reprodutivo, esse não é o caso em *Akodon cursor*. SBALQUEIRO e NASCIMENTO (1996) argumentam que a alta frequência observada de heterozigotes para os rearranjos da espécie indica que não há perda de vigor nas diversas formas que ocorrem.

Em SBALQUEIRO e NASCIMENTO (1996) é relatada ainda a obtenção de indivíduos com $2n = 14$, 15 e 16 em condições de laboratório a partir do cruzamento de pais com $2n = 15$, o que também deve ocorrer em ambiente natural.

2. *Akodon montensis*

O *Akodon montensis* foi a espécie que apresentou a distribuição mais ampla (23 localidades), ocorrendo principalmente na Floresta Ombrófila Mista. A forma com $2n = 24$ foi a predominante (Tab. 03), sendo encontrada em todas as localidades de sua distribuição. As formas com mosaicismos, exibindo células com $2n = 24$ e 25 no mesmo indivíduo, ocorreram em Piraquara e Balsa Nova, ambas na Região Metropolitana de Curitiba. O citótipo $2n = 25$ foi encontrado em Curitiba, Foz do Iguaçu, Mandirituba, Pinhão e São Mateus do Sul. Exemplares com $2n = 26$ foram encontrados em Morretes e São José dos Pinhais. Há registros da ocorrência de $2n = 24$ em Santa Catarina, Rio de Janeiro, Minas Gerais e na Província de Misiones, na Argentina (COUTO e TALAMONI, 2005; GEISE et al, 2001; GRAIPEL et al, 2001, PARDIÑAS et al, 2003); $2n = 24$ e 25 no Paraguai, Rio Grande do Sul e São Paulo (CADEMARTORI et al, 2004; FAGUNDES e YONENAGA-YASSUDA, 1998; GEISE et al, 2001; PARDIÑAS et al, 2003; PARDINI e UMETSU, 2006; SBALQUEIRO, 1989).

De acordo com SILVA e YONENAGA-YASSUDA (2004), apenas oito espécies brasileiras de roedores apresentaram cromossomos B: *Holochilus brasiliensis*, *Nectomys rattus*, *N. squamipes*, *Oligoryzomys flavescens*, *Oryzomys angouya*, *Proechimys* sp. 2, *Trinomys iheringi* e *Akodon montensis*. Ocorrência de cromossomos B em *Oligoryzomys flavescens*, até dois, em uma amostra de 20 exemplares da região metropolitana de Curitiba, chama a atenção pela frequência elevada dos mesmos, pois em 50% dos animais observou-se a presença de pelo menos um cromossomo B (BORDIGNON, 2007).

3. *Akodon paranaensis*

O *Akodon paranaensis* foi encontrado de forma geral em ambientes de “banhado”, com vegetação herbácea e bastante úmidos. Sua distribuição abrangeu 13 localidades no Estado, principalmente no Primeiro Planalto, sendo que também há

registros de sua ocorrência no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e na Província de Misiones na Argentina (CHEREM et al, 2004; PARDIÑAS et al, 2003; VENTURA et al, 2006). Em todas elas, o cariótipo se mostrou uniforme, com $2n$ e $NA = 44$, conforme descrito por SBALQUEIRO (1989) para *Akodon sp* e mais tarde atribuído ao *A. paranaensis* em CHRISTOFF et al (2000).

4. *Akodon serrensis*

O *Akodon serrensis* apresentou uma distribuição bastante restrita, apenas 4 localidades, todas elas na Região Metropolitana de Curitiba. CÁCERES (2004) aponta a ocorrência desta espécie na Serra do Mar do Paraná, sendo que em todos esses locais ela apresentou $2n$ e $NA = 46$, o que está de acordo com a descrição em SBALQUEIRO (1989). Esse cariótipo era atribuído ao *A. paranaensis*, porém, em CHRISTOFF et al (2000), ele foi assinalado para *A. serrensis*. Também há registros da ocorrência de *A. serrensis* em São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e, recentemente, houve o relato de sua incidência na Província de Misiones, na Argentina (BONVICINO et al, 2002; CHRISTOFF et al, 2000; GEISE et al, 1998; GEISE et al, 2001; GEISE et al, 2004; PEREIRA et al, 2005). Em um estudo cladístico utilizando análise comparativa de banda G, SBALQUEIRO (1989) encontrou correspondência entre quase todos os cromossomos de *Akodon paranaensis* e *Akodon serrensis*, exceto pelos pares 13 e 21 do primeiro e pelo par 6 do segundo que revelam homeologias parciais. É sugerido que um mecanismo cromossômico complexo, tipo fusão cêntrica mais inversão pericêntrica ou fusão em tandem, possa ter atuado na diversificação cariotípica entre estas duas espécies.

5. ANÁLISE DE SIMPATRIA

Foi comum a ocorrência de simpatria, sendo que em 12 localidades foi observada a ocorrência de duas ou mais espécies de *Akodon*. Em Morretes foi observada a ocorrência de *A. cursor* e *A. montensis*, sendo que este município é o limite oeste da distribuição do primeiro e limite leste do segundo no Estado do Paraná. A simpatria entre *A. montensis* e *A. paranaensis* se mostrou relativamente comum, sendo registrada em sete localidades de diversas regiões do Paraná: Campina Grande do Sul, Colombo,

Curitiba, Mandirituba, Araucária, São Mateus do Sul e Pinhão. A ocorrência de *A. montensis* e *A. serrensis* no mesmo local foi observada apenas em Quatro Barras. A simpatria entre *A. montensis*, *A. paranaensis* e *A. serrensis* ocorreu em três localidades: Piraquara, São José dos Pinhais e Tijucas do Sul, municípios da Região Metropolitana de Curitiba.

Essa alta incidência de simpatria poderia ser explicada pela ocupação de microhabitats distintos e diferenças ecológicas, como dieta e segregação espacial, entre as espécies. No Parque Nacional do Caparão, em Minas Gerais, há relatada a ocorrência de três espécies de *Akodon*: *A. cursor*, *A. montensis* e *A. mystax* (BONVICINO et al, 2002). Em São Paulo e Rio de Janeiro, *A. cursor* e *A. montensis* também apresentam simpatria em algumas localidades (GEISE et al, 2001; GEISE et al, 2005); no segundo, *A. cursor* ocorre em altitudes de até cerca de 1000m, enquanto *A. montensis* apenas em altitudes superiores à 800m (GEISE et al 2005). Ainda no Rio de Janeiro, é relatada a simpatria de *A. cursor*, *A. montensis* e *A. reigi*. Em Santa Catarina, há registros da ocorrência de *A. montensis* e *A. paranaensis* na mesma localidade (CHEREM et al, 2004). Na Província de Misiones, na Argentina, quatro espécies ocorrem em simpatria: *A. montensis*, *A. cursor*, *A. sp 1* e *A. sp 2* (PARDIÑAS et al, 2003).

V - CONCLUSÕES

As análises citogenéticas aplicadas em 360 exemplares, envolvendo quatro espécies do gênero *Akodon*, chegou-se às seguintes conclusões:

1. *A. cursor* ($2n = 14, 15, 16$; $NA = 18-24$), *A. montensis* ($2n = 24$ a $26, 24/25$; $NA = 42, 44, 46, 42/44$), *A. paranaensis* ($2n$ e $NA = 44$) e *A. serrensis* ($2n$ e $NA = 46$) apresentaram cariótipos semelhantes àqueles descritos na literatura.

2. Através da aplicação da técnica de banda G foi possível parear corretamente os cromossomos de todas as espécies, e identificar a homologia dos cromossomos 1, 1a e 1b que ocorrem em *A. cursor*.

3. A homologia dos cromossomos 1, 1a e 1b identificada em *A. cursor*, apesar da dificuldade inerente, se deve a atuação de diferentes mecanismos cromossômicos, tipo fusão-fissão cêntrica mais inversão pericêntrica, corroborando a proposição registrada na literatura pertinente.

4. Inversões pericêntricas nos cromossomos dos pares 2 e 3 respondem, respectivamente, pelas suas variações morfológicas.

5. Apesar do número de exemplares de *A. cursor* ser razoável, na presente amostra, não foi possível associar os citótipos a regiões específicas, provavelmente decorrente da elevada variabilidade cariotípica com que se encontra esta espécie.

6. *A. montensis* exibiu além do $2n/NA = 24/42$ e $2n/NA = 25/44$, comuns em sua distribuição, exemplares com $2n/NA = 26/46$ e espécimes-mosaico com $2n = 24/25$ e $NA = 42/44$, em menor frequência.

7. Tanto *Akodon paranaensis* ($2n = 44$; $NA = 44$) como *Akodon serrensis* ($2n = 46$; $NA = 46$), mostraram-se cariotipicamente estáveis em todas as localidades de suas coletas.

8. As principais alterações cromossômicas numéricas e/ou estruturais foram observadas em apenas duas das quatro espécies – *A. cursor* (fusões-fissões cêntricas e inversões pericêntricas) e *A. montensis* (cromossomos B e inversões pericêntricas).

9. O gênero *Akodon* possui uma distribuição que abrange todo o Estado do Paraná, sendo que as espécies mais abundantes em relação às localidades são em ordem: *A. montensis*, *A. paranaensis*, *A. serrensis* e *A. cursor*.

10. A ocorrência de simpatria entre duas (10 localidades) e três espécies (3 localidades) de *Akodon* se mostrou comum no Estado, sendo que o mesmo se observa em outros locais de distribuição do gênero.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, A. R. 2003. **A Rodent as Big as a Buffalo**. Science 301, 1678-9.
- BONVICINO, C. R., LINDBERGH, S. M. e MAROJA, L. S. 2002. **Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic Forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment**. Braz. J. Biol. 62(4B): 765-774.
- BORDINGON, S. E. 2007. **Análise da variabilidade cromossômica e distribuição geográfica de duas espécies de *Oligoryzomys* (Cricetidae, Rodentia) ocorrentes nos Estados de Santa Catarina e Paraná**. Monografia de Graduação. Curitiba, Brasil: Universidade Federal do Paraná.
- BRAUN, J. K., MARES, M. A. e OJEDA, R. A. 2000. **A new species of grass mouse, genus *Akodon* (Muridae: Sigmodontinae), from Mendoza Province, Argentina**. Zeitschrift für Säugetierkunde, 65: 216–225.
- CÁCERES, N. 2004. **Occurrence of *Conepatus chinga* (Molina) (Mammalia, Carnivora, Mustelidae) and other terrestrial mammals in the Serra do Mar, Paraná, Brazil**. Revista Brasileira de Zoologia, 21 (3): 577–579.
- CADEMARTORI, C. V., FABIÁN, M. E. e MENEGHETI, J. O. 2004. **Variações na abundância de roedores (Rodentia, Sigmodontinae) em duas áreas de Floresta Ombrófila Mista, Rio Grande do Sul, Brasil**. Rev. Bras. Zool. 6(2): 147-167.
- CHEREM, J., SIMÕES-LOPES, P. C., ALTHOFF, S. e GRAIPEL, M. E. 2004. **Lista dos mamíferos do Estado de Santa Catarina, sul do Brasil**. Mastozoología Neotropical, 11(2):151-184.
- CHRISTOFF, A. U., FAGUNDES, V., SBALQUEIRO, I. J., MATTEVI, M. S. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 2000. **Description of a new species of *Akodon***

- (Rodentia: Sigmodontinae) from southern Brazil.** Journal of Mammalogy 81: 838–851.
- COUTO, D. e TALAMONI, S. A. 2005. **Reproductive condition of *Akodon montensis* Thomas and *Bolomys lasiurus* (Lund) (Rodentia, Muridae) based on histological and histometric analyses of testes and external characteristics of gonads.** Acta Zoologica 86: 111–118.
- D'ELIA, G., 2003. **Phylogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae), with special reference to the akodont group, and with additional comments on historical biogeography.** Cladistics 19, 307–323.
- D'ELIA, G., LUNA, L., GONZALEZ, E. M. e PATTERSON, B. D. 2006. **On the Sigmodontinae radiation (Rodentia, Cricetidae): An appraisal of the phylogenetic position of *Rhagomys*.** Molecular Phylogenetics and Evolution 38: 558-564.
- DÍAZ, M. M., BARQUEZ, R. M., BRAUN, J. K. e MARES, M. A. 1999. **A new species of *Akodon* (Muridae: Sigmodontinae) from northwestern Argentina.** Journal of Mammalogy 80: 786–798.
- ENGEL, S. R., HOGAN, K. M., TAYLOR, J. F. e DAVIS, S. K. 1998. **Molecular Systematics and Paleobiogeography of the South Americano Sigmodontine Rodents.** Mol. Biol. and Evol., 15: 35-49.
- FAGUNDES, V., VIANNA-MORGANTE, A. M. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 1997. **Telomeric sequences localization and G-banding patterns in the identification of a polymorphic chromosomal rearrangement in the rodent *Akodon cursor* (2n = 14, 15 and 16).** Chromosome Research, 5: 228-232.
- FAGUNDES, V., CHRISTOFF, A. U. e YONENAGA-YASSUDA, Y., 1998. **Extraordinary chromosomal polymorphism with 28 different karyotypes in the neotropical species *Akodon cursor* (Muridae, Sigmodontinae), one of the**

smallest diploid number in rodents ($2n = 16, 15$ and 14). *Hereditas*, 129: 263-274.

FAGUNDES, V. e YONENAGA-YASSUDA, YATIYO. 1998. **Evolutionary conservation of whole homeologous chromosome arms in the Akodont rodents *Bolomys* and *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae): maintenance of interstitial telomeric segments (ITBs) in recent event of centric fusion.** *Chromosome Research*, 6: 643-648.

FAGUNDES, V; CHRISTOFF, A. U. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 2000. **X-Y translocation revealed by chromosome microdissection and FISH originating fertile XY females in the Brazilian rodents *Akodon montensis*.** *Cytogenetics and Cell Genetics*, 88 (1-2): 124-129.

FIGUEIREDO, M. S. L. e FERNANDEZ, F. A. S. 2004. **Contrasting effects of fire on populations of two small rodent species in fragments of Atlantic Forest in Brazil.** *Journal of Tropical Ecology* 20:225–228.

FORD, C. E. e HAMERTON, J.L., 1956. **A colchicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosome.** *Stain Tech.*, 31: 247-51.

GEISE, L., CANAVEZ, F. C. e SEUÁNEZ, H. N. 1998. **Comparative karyology in *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) from southeastern Brazil.** *Journal of Heredity* 1998;89:158–163.

GEISE, L., SMITH, M. F. e PATTON, J. L. 2001. **Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) in southeastern America: Mitochondrial DNA sequences analysis.** *J. Mammalogy* 82: 92-101.

GEISE, L., WEKSLER, M. e BONVICINO, C. 2004. **Presence or absence of gall bladder in some Akodontini rodents (Muridae, Sigmodontinae).** *Mamm. biol.* 69: 210-214.

- GEISE, L., MORAES, D. A. e SILVA, H. S. 2005. **Morphometric differentiation and distributional notes of three species of *Akodon* (Muridae, Sigmodontinae, Akodontini) in the Atlantic coastal area of Brazil.** Arq. Mus. Nac., 63(1): 63-74.
- GENTILE, R., D'ANDREA, P. S. e CERQUEIRA, R. 1997. **Home ranges of *Philander Frenata* and *Akodon Cursor* in a Brazilian Restinga (coastal shrubland).** Mastozoología Neotropical 4(2):105-112.
- GONZÁLEZ, E. M., LANGGUTH, A. e DE OLIVEIRA, L. F. 1998. **A new species of *Akodon* from Uruguay and southern Brazil (Mammalia: Rodentia: Sigmodontinae).** Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo 191(12):1-8.
- GRAIPEL, M. E., CHEREM, J. J. e XIMENEZ, A. 2001. **Mamíferos terrestres não voadores da Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil.** Biotemas, 14 (2): 109-140.
- HERSHKOVITZ, P. 1966. **Mice, land bridges and Latin American faunal interchange.** In: Ectoparasites of Panama (R. L. WENZEL and V. J. TIPTON, eds.). Field Museum of Natural History, Chicago. 725-751.
- HERSHKOVITZ, P. 1972. **The Recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecologic review.** In: Evolution, mammals, and southern continents (A. KEAST, F. C. ERK, and B. GLASS, eds.). State University of New York Press, Albany. 311-431.
- HERSHKOVITZ, P. 1990. **Mice of the *Akodon boliviensis* size class (Sigmodontinae, Cricetidae), with the description of two new species from Brazil.** Fieldiana: Zoology (New Series) 57: 1-35.
- HOOPER, E. T. e MUSSER, G. G. 1964. **The glans penis in neotropical cricetines (family Muridae) with comments on classification of muroid rodents.** Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan. 123: 1-57

- HOWELL, W. M. e BLACK, D. A. 1980. **Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1 step method.** *Experientia (Basel)*, 36: 1014-1015.
- KING, M. 1993. **Species evolution. The role of chromosome change.** Cambridge University Press, 336p.
- MARSHALL, L. G. 1979. **A model for paleobiogeography of South American cricetine rodents.** *Paleobiology*, 5: 126-132.
- MYERS, P., e PATTON, J. L. 1989. **A new species of Akodon from the cloud forests of eastern Cochabamba Department, Bolivia (Rodentia: Sigmodontinae).** *Occasional Papers of the Museum of Zoology, the University of Michigan* 720: 1-28.
- NASCIMENTO, A. P. 1996. **Estudos Citogenéticos em *Akodon cursor*, Winge 1883 (Rodentia, Cricetidae) de Guaraqueçaba, PR.** Dissertação de Mestrado. Curitiba, Brasil: Universidade Federal do Paraná.
- OLIFIERS, N., GENTILE, R. e FISZON, J. T. 2005. **Relation between small-mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest.** *Braz. J. Biol.*, 65(3): 495-501.
- PAGLIA, A. P., LOPES, M. O. G., PERINI, F. A. e CUNHA, H. M. 2005. **Mammals of the Estação de Preservação e Desenvolvimento Ambiental de Peti (EPDA-Peti), São Gonçalo do Rio Abaixo, Minas Gerais, Brazil.** *Lundiana* 6: 89-96.
- PARDINI, R. 2004. **Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape.** *Biodiversity and Conservation* 13: 2567-2586.
- PARDINI, R. e UMETSU, F. 2006. **Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica.** *Biota Neotropica* 6 (2).

- PARDIÑAS, U. F. J., D'ELIA, G., CIRIGNOLI, S. e SUAREZ, P. 2005. **A new species of *Akodon* (Rodentia, Cricetidae) from the northern grasslands of Argentina.** *Journal of Mammalogy* 86(3): 462-474.
- PARDIÑAS, U. F. J., D'ELIA, G. e ORTIZ, P. E. 2002. **Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América del Sur: estado actual de su conocimiento y prospectiva.** *J. Neotrop. Mammal.* 9(2): 209-252.
- PARDIÑAS, U. F. J., D'ELIA, G. e CIRIGNOLI, S. 2003. **The genus *Akodon* (Muroidea, Sigmodontinae) in Misiones, Argentina.** *Mamm. biol.*, 68: 129-143.
- PARESQUE, R., SOUZA, W. P., MENDES, S. L. e FAGUNDES, V. 2004. **Composição cariotípica da fauna de roedores e marsupiais de duas áreas de Mata Atlântica do Espírito Santo, Brasil.** *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão (N. Sér.)* 17: 5-33.
- PATTERSON, B. D. e PASCUAL, R. 1972. **The fossil mammal fauna of South America.** In: *Evolution, Mammals and Southern Continents* (A. KEAST, F. C. ERK e B. GLASS, eds.). State University of New York Press, Albany. 247-309.
- PEREIRA, J., TETA, P., FRACASSI, N., JOHNSON, A. e MOREYRA, P. 2005. **Sigmodontinos (Rodentia, Cricetidae) de la Reserva de Vida Silvestre Urugua-Í (Provincia de Misiones, Argentina), con la confirmación de la presencia de "*Akodon*" *serrensis* en la Argentina.** *Mastozoología Neotropical*, 12(1):83-89.
- PIRES, A. S., LIRA, P. K., FERNANDEZ, F. A. S., SCHITTINI, G. M. e OLIVEIRA, L. C. 2002. **Frequency of movements of small mammals among Atlantic Coastal Forest fragments in Brazil.** *Biological Conservation* 108 (2002) 229–237.

- REIG, O. A. 1980. **A new fossil genus of South American cricetid rodents allied to *Wiedomys*, with an assessment of the Sigmodontinae.** J. Zool. 192: 257-281.
- REIG, O. A. 1984. **Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae).** Rev. Brasil. Genet. 7(2): 333-365.
- RINKER, G. C. 1954. **The Comparative Myology of the Mammalian Genera *Sigmodon*, *Oryzomys*, *Neotoma*, and *Peromyscus* (Cricetinae), with Remarks on Their Intergeneric Relationships.** . The Quarterly Review of Biology, 30(1): 61-62
- SAVAGE, J. M. 1974. **The isthmian link and the evolution of neotropical mammals.** Los Angel. Cty. Mus. Nat. Hist. Contrib. Sci. 260:1-51.
- SBALQUEIRO, I. J. e NASCIMENTO, A. P., 1996. **Occurrence of *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) with 14, 15 and 16 chromosome cytotypes in the same geographic area in Southern Brazil.** Rev. Bras. Genet. 19: 565-569.
- SBALQUEIRO, I. J. 1989. **Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da Região Sul do Brasil.** Tese de Doutorado. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SEABRIGHT M. 1971. **A rapid banding technique for human chromosomes.** Lancet 2:971-972.
- SILVA, M. J. J. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 1998. **Karyotype and chromosomal polymorphism of an undescribed *Akodon* from Central Brazil, a species with the lowest known diploid chromosome number in rodents.** Cytogenetic and Genome Research. 81:46-50.
- SILVA, M. J. J. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 2004. **B chromosomes in Brazilian rodents.** Cytogenet Genome Res 106: 257-263.

- SILVA, M. J. J., PATTON, J. L. e YONENAGA-YASSUDA, Y. 2006. **Phylogenetic Relationships and karyotype evolution in the sigmodontine rodent *Akodon* ($2n = 10$ and $2n = 16$) from Brazil.** *Genetics and Molecular Biology*, 29(3): 469-474.
- SIMPSON, G. G. 1950. **History of the fauna of Latin America.** *Am. Scient.* 38: 361-389.
- SIMPSON, G. G. 1969. **South American Mammals.** In: *Biogeography and ecology in South America* (J. FITTKAU, J. ILLIES, H. KLINGE, G. H. SCHAWBE e H. SIOLI, eds.) W. Junk, The Hague. 879-909.
- SMITH, M. F. e PATTON, J. L. 1999. **Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*.** *J. Mammal. Evol.* 6, 89–128.
- STEPAN, S. J., ADKINS, R. M. e ANDERSON, J. 2004. **Phylogeny and divergence date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes.** *Syst. Biol.* 53, 533–553.
- SUMNER, A. T. 1972. **A simple technique for demonstrating centomeric heterochromatin.** *Exp. Cell Res.* 75: 304-6.
- VAUGHN, T.V., RYAN, J. M. e CZAPLEWSKI, N. J. 2000. **Mammalogy.** 4th edition, Brooks Cole.
- VAZ, S. M. 2005. **Mamíferos coletados em Pedra Branca, Município de Paraty, Rio de Janeiro, Brasil.** *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (4): 1164-1169.
- VENTURA, K., SILVA, M. J. J., FAGUNDES, V., CHRISTOFF, A. U. e YONENAGA-YASSUDA, Y. **Non-telomeric sites as evidence of chromosomal rearrangement and repetitive (TTAGGG) n arrays in heterochromatic and euchromatic regions in four species of *Akodon* (Rodentia, Muridae).** *Cytogenet Genome Res* 115:169–175.

VIEIRA, M. V., GRELLE, C. E. V. e GENTILE, R. 2004. **Differential trappability of small mammals in three habitats of southeastern Brazil**. *Braz. J. Biol.*, 64(4): 895-900.

WILSON, D. E., e REEDER, D. M. (eds), 2005. **Mammal Species of the World**, 3rd edition, Johns Hopkins University Press.