

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Cristiani M. S. Justo

**Caracterização citogenética de exemplares de *Oryzomys russatus*
(Rodentia, Cricetidae) ocorrentes no Paraná.**

CURITIBA/ 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Cristiani M. S. Justo

**Caracterização citogenética de exemplares de *Oryzomys russatus*
(Rodentia, Cricetidae) ocorrentes no Paraná.**

Trabalho realizado como parte das exigências para a obtenção do grau de “Bacharel” no Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ives J. Sbalqueiro (DGEN – SCB/UFPR).

CURITIBA/ 2007

AGRADECIMENTOS

Ao orientador deste trabalho, o Prof. Dr. Ives J. Sbalqueiro, pela dedicação, disponibilidade, paciência e amizade e pela oportunidade de estágio no Laboratório de Citogenética Animal da UFPR.

À minha grande amiga Suelen E. Bordignon, por me dar estímulo durante os momentos de desânimo e fraqueza, e também compartilhar os bons momentos ao longo do curso.

Ao amigo Leonardo K. Sampaio, pelo companheirismo, mesmo estando longe geograficamente, sempre esteve presente me incentivando, ensinando e aprendendo.

Ao colega de estágio Guilherme Rabelo, que se tornou um grande amigo, sempre com muita paciência e dedicação, tanto no estágio quanto na elaboração da monografia.

Aos colegas de graduação e de laboratório, pelos momentos de descontração e pelo auxílio no esclarecimento de dúvidas.

Ao meu noivo, Gustavo Hartmann, que mesmo sendo relacionado com a área administrativa, me falava que a Capivara era um “ratão” e eu, antes de conhecer os roedores, zombava dele. Também pelo amor, sempre me apoiando e incentivando durante todos esses anos de convivência.

À Deus, pela vida e pelas oportunidades, estando sempre presente, me dando forças para continuar e superar os obstáculos.

*Ao meu noivo Gustavo, pelo incentivo
e até mesmo financiamento durante
este trabalho.*

SUMÁRIO

RESUMO	iii
1 INTRODUÇÃO	
1.1 TRIBO ORYZOMYINI	04
1.2 GÊNERO ORYZOMYS.....	06
2 OBJETIVOS	11
3 MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 MATERIAIS	12
3.2 MÉTODOS	13
3.2.1 Coleta dos animais.....	13
3.2.2. Taxidermia	13
3.2.3. Preparação Mitótica.....	14
3.2.4 Preparação das lâminas	14
3.2.5 Coloração convencional	15
3.2.6 Bandamentos C e G	15
3.2.6.1 Bandamento CBG.....	15
3.2.6.2 Bandamento GTG.....	16
3.2.7. Análises	16
4 RESULTADOS	17
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÕES	25
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ANEXOS

Anexo 1 31
Anexo 2 33

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar e verificar a distribuição geográfica do cariótipo da espécie *Oryzomys russatus* no Estado do Paraná. Foi realizado um levantamento dos dados citogenéticos em exemplares desta espécie, disponibilizados pelo Laboratório de Citogenética Animal da UFPR. Foram aplicados os métodos citogenéticos convencionais para atingir os objetivos propostos, assim, foi determinado o cariótipo da espécie através dos vários tipos de colorações (comum, com corante Giemsa, e bandamentos C e G). A análise em coloração comum, quanto ao número cromossômico ($2n$) e número de braços de autossômicos (NA), nos 17 exemplares amostrados (10 machos: 7 fêmeas), revelou uma constância em ambos como sendo iguais, respectivamente, a 80 e 86. Esta amostra é originária de quatro localidades distintas, sendo uma delas localizada no Primeiro Planalto paranaense (S. José dos Pinhais), enquanto que as outras três no lado Oriental em relação à Serra do Mar (Morretes, Antonina e Guaraqueçaba). A variabilidade cariotípica detectada foi devida a variações morfológicas tanto no cromossomo X (subtelocêntrica e submetacêntrica) como no Y (acrocêntrica e subtelocêntrica). O padrão distributivo do bandamento C, através dos fortes blocos corados, revelou que a heterocromatina constitutiva ficou restrita à região pericentromérica de todos os autossomos, braço curto do X e todo o Y. Apesar da variabilidade morfológica dos cromossomos sexuais, não detectamos um padrão cariotípico distinto que pudesse ser relacionado a uma das quatro regiões de coletas. Os dados cariotípicos do presente trabalho ampliam a distribuição geográfica das formas cariotípicas conhecidas para esta espécie no Estado do Paraná. O estado taxonômico desta espécie é bastante polêmico, tendo já sido atribuído diferentes nomes em distintos locais, gerando uma extensa sinonímia, o que salienta a importância da análise citogenética como uma ferramenta auxiliar na citotaxonomia.

1 INTRODUÇÃO

A ordem dos roedores (Rodentia) representa um dos maiores e mais numerosos grupos entre os mamíferos, habitando quase todas as áreas terrestres do globo exceto algumas ilhas árticas e oceânicas, Nova Zelândia e Antártica (ANDERSON, 1967). Conhecidos desde o Paleoceno superior (as espécies norte americanas), sua diversidade e abundância ocorreu no Eoceno na América do Norte e Eurásia (REDFORD e EISENBERG, 1989).

O grande número de espécies, abundância, elevada adaptabilidade ecológica, ampla dispersão em vários tipos de ambientes, elevada fertilidade, além das altas taxas de mutação e variabilidade cariotípica, permitem a este grupo uma enorme taxa de evolução (SIMPSON, 1945).

A classificação de maior concordância atualmente sugere 43 famílias, 354 gêneros e 1700 espécies vivas (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006).

A *Hydrochoerus hydrochoeris* (a capivara), que pode chegar a mais de 50 quilogramas, é o maior representante da ordem que, em sua maioria, é composta por animais pequeno sendo o menor deles o camundongo-pigmeu Africano (*Mus minutoides*), que possui cinco gramas. Acredita-se que o maior roedor existente foi o *Phoberomys pattersoni*, que antes de sua extinção poderia ter 4,5 metros de comprimento e pesar 700 quilogramas. (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006; ALEXANDER, 2003).

Seus hábitos variam entre terrestre, fossorial, arborícola, palustre, semi-aquático ou aquático (ANDERSON, 1967; ANDERSON & JONES, 1967; HERSHKOVITZ, 1972).

Podem ser insetívoros, piscívoros ou carnívoros embora sejam usualmente herbívoros. Caracterizam-se pela presença de um par de incisivos, de crescimento e afiação contínua, e por um grande espaço (chamado diastema) entre os incisivos e pré-molares (ou molares) resultante da perda de alguns dentes.

A morfologia corpórea varia de acordo com o hábito. As espécies arborícolas apresentam pés fortes com unhas curvas e afiadas, patas curtas, orelhas bem pequenas, olhos grandes, bigode denso e longo e focinho grosso. Os pastoris tendem a ter bigode curto e fino, cauda curta, pêlos híspidos e corpo curto e redondo. Os escavadores têm cauda curta, orelhas e unhas longas. As espécies onívoras possuem as patas traseiras longas e estreitas, orelhas grandes, bigode bem desenvolvido, cauda longa e nua e focinho pontiagudo. Os semi-aquáticos têm patas traseiras grandes, em forma de remo com membranas entre os dedos, cauda com poucos ou muitos pêlos, orelhas e olhos pequenos, bigode rijo, corpo com pêlo denso e brilhante. As espécies que comem invertebrados terrestres tendem a ter focinho longo, orelhas curtas e redondas, unhas dianteiras longas e cauda curta com poucos pêlos (EMMOS & FEER, 1990).

A classificação taxonômica do grupo apresenta grande dificuldade dada pela alta taxa evolutiva 'representada' pelo grande número de processos de convergência, divergência e paralelismo, somada a complexidade do estudo citogenético devido à elevada quantidade de rearranjos Robertsonianos, inversões, fusões *in tandem*, translocações, variação na quantidade de heterocromatina constitutiva nos cromossomos autossômicos e sexuais, além da presença de cromossomos supernumerários que acarretam inúmeros polimorfismos e diferenciações entre espécies relacionadas.

Devido a isto, várias classificações foram propostas por ANDERSON (1967), MCKENNA (1975), CHALINE *et. a.l.* (1977), REIG (1981,1984) e MUSSER &

CARLETON (1993). A proposta de REIG (1984) é a mais abrangente e a mais utilizada por diversos autores.

Com base em dados estruturais do crânio e a relação do músculo masseter com o conduto infraorbitário, o agrupamento para os roedores mais aceito atualmente (porém sem unanimidade entre os autores) é em duas sub ordens: Hystrocognethi e Sciurognathi, esta dividida nas infraordens: Sciuiomorpha e Myomorpha (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006). Porém WILSON & REEDER (2005) sugerem cinco sub ordens com base em evidências morfológicas e moleculares sendo elas: Anomaluomorpha, Hystricomorpha, Castorimorpha, Sciuiomorpha e Myomorpha.

Todos os roedores miomorfos estão incluídos na família Cricetidae que se diferencia da família Muridae por aquela ser do Novo Mundo e esta do Velho Mundo (SIMPSON, 1945; TULLBERG, 1899 *apud* CARLETON, 1980; CHALINE *et al.*, 1977; NOWAK, 1991). O grupo do Novo Mundo é subdividido em animais da América do Sul e América do Norte utilizando-se para isto características morfológicas do músculo masseter, de glândulas acessórias do aparelho reprodutor masculino, de dentes e crânios, anatomia peniana, estrutura do pêlo, morfologia gástrica, zoogeografia, parasitologia, dados paleontológicos e cromossômicos (VORONTZOV, 1967 *apud* REIG, 1986; HOOPER & MUSSER, 1964; HERSHKOVITZ, 1966, 1972; REIG, 1977; VOSS & LINZEY, 1981).

Conforme REIG (1984), o grupo dos Cricetídeos foi dividido de acordo com a anatomia peniana, sendo o grupo da América do Norte denominado Neotominae (animais que apresentam a estrutura da glândula peniana simples) e o grupo da América do Sul chamado Sigmodontinae (com padrão complexo da glândula peniana). Esta classificação foi corroborada por CATZEFLIS *et al.* (1993), onde, através de um estudo de hibridização de DNA, claramente distinguiram os grupos sul-americanos e norte-americanos como linhagens distintas, tal qual a proposta de REIG (*op cit*).

A proposta de HERSHKOVITZ (1966, 1972), e corroborada por outros autores como REIG (1984), afirma que o grupo da América do Norte é mais antigo e que a América do Sul foi ocupada, por dispersão a partir do Mioceno por via transaquática, uma vez que ocorreu antes da formação do istmo do Panamá. Após a ocupação ocorreu uma grande diferenciação e especiação, através de diferentes episódios cladogenéticos locais, acarretando com isso a acentuada diversidade e forte endemismo atuais. Contudo, GALLIARI e PARDINAS (2000) ressaltam que as relações entre distribuição geográfica e padrões filogenéticos podem desaparecer ou serem alteradas, assim os vários taxa podem ter sofrido inúmeras alterações em suas distribuições geográficas, o que parece ser comum no grupo dos sigmodontinos (PARDINAS *et. al.*, 2002). Há ainda outras duas hipóteses alternativas: por uma delas, grande parte da diversificação dos sigmodontinos se deu na América do Norte e que recentemente invadiram a América do Sul, no Plioceno, durante o grande intercâmbio biótico americano ocorrido através do istmo do Panamá (PATTERSON & PASCUAL, 1972; SIMPSON 1945, 1969); e a outra, de que a invasão do grupo se deu pela América Central, entre 7 e 5 milhões de anos atrás, devida a uma acentuada queda do nível do mar (ocasionada pelo aumento das calotas polares), diminuindo com isso a barreira marinha, e a formação dos Andes, que originou novos habitats a serem explorados (MARSHALL, 1979).

A família Cricetidae é a família mais diversificada de roedores do Brasil, onde a subfamília Sigmodontinae está representada por oito tribos, 70 gêneros, 320 espécies (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006). A grande diversidade morfológica observada entre as diferentes espécies desta subfamília gera, entre os vários autores, polêmicas na classificação específica.

1.1 TRIBO ORYZOMYINI

A Tribo **Oryzomyini** (VORONTZOV, 1967), é uma das três tribos mais numerosas do grupo dos Sigmodontíneos, considerada a mais primitiva através de

estudos de caracteres dentários, cranianos, fálcos (HOOPER & MUSSER, 1964; HERSHKOVITZ, 1966, 1972; REIG, 1977, 1981, 1986; VOSS & LINZEY, 1976) e cromossômicos (BIANCHI *et al.*, 1971; GARDNER & PATTON, 1976). De acordo com REIG (1984), ela diferenciou-se originalmente nos Andes da Colômbia, Equador e Venezuela.

Atualmente a tribo é composta por 16 gêneros e aproximadamente 120 espécies, números estes definidos com base em atributos morfológicos qualitativos (caracteres de presença ou ausência), que incluem no grupo gêneros tetralofodontes, e excluem outros gêneros (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006).

Em trabalho recente, WEKSLER *et al.* (2006) define dez novos gêneros para a tribo Oryzomyini, aumentando para 26, e propõem uma nova organização das várias espécies atuais, baseada em caracteres morfológicos e moleculares (Anexo 01). Estes autores incluem também *Megalomys* e *Noronhomys*, gêneros já extintos.

Estes animais geralmente habitam florestas orófilas com alimentação onívora e/ou insetívora (REIG, 1984). Segundo HERSHKOVITZ (1966), constitui-se na tribo mais claramente definida multigenericamente dos Murídeos. São na maioria pentalofodontes, possuem oito ou mais pares de mamas peitorais, um longo palato e não apresentam vesícula biliar (VOSS & CARLETON, 1953).

A tribo Oryzomyini apresenta uma acentuada variedade de formas cariotípicas que pode estar associada à grande diversidade de espécies que participam do grupo. O número diplóide é geralmente alto, em torno de 80 cromossomos, sendo esta uma característica considerada primitiva, com poucas exceções, como a observada em *Nectomys palmipes* ($2n=16-17$) (BARROS *et al.*, 1992).

1.2 GÊNERO ORYZOMYS

Na tribo Oryzomyini, segundo MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, (2006), apenas três gêneros são responsáveis por aproximadamente 70% das espécies descritas (*Oecomys*, *Oligoryzomys* e *Oryzomys*). Entre estes se destaca o gênero ***Oryzomys*** (BAIRD 1858), cujos exemplares são de tamanhos médios a pequenos, podendo ser marrom, castanho-amarelado, avermelhado ou cinza, pêlos finos e macios, orelhas grandes, bigodes longos ou curtos, olhos grandes, a cauda pode ser levemente menor do que o comprimento total (cabeça mais corpo), quatro pares de mamas. São encontrados desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, com hábitos noturnos, terrestres, solitários, e alimentam-se de frutas, sementes e insetos. (MATTEVI & ANDRADES-MIRANDA, 2006).

Vários agrupamentos foram propostos por diversos autores ao longo do tempo. Recentemente, ANDRADES-MIRANDA (2000), em sua revisão sobre este gênero, encontrou um total de 43 cariótipos diferentes e uma variação do número diplóide de 34 a 80. A Tabela 01 é uma modificação daquela apresentada por essa autora, face ao acréscimo dos dados do presente trabalho. ANDRADES-MIRANDA (*op.cit.*) sugere que esta variação torna *Oryzomys* como um grupo com uma das maiores taxas de evolução cariotípica entre os vertebrados e que, cromossomicamente, o gênero seja de origem polifilética. As espécies *Oryzomys russatus*, *Oryzomys nitidus* e *Oryzomys emmonsae*, com $2n=80$, são as que apresentam o maior número cromossômico neste gênero.

Tabela 01: Relação das espécies do Gênero *Oryzomys*, com os seus respectivos 2n e NA e distribuição na América do Sul

	ESPECIE	2n*	NA*	LOCAIS	AUTORES
1	<i>Oryzomys talamancae</i>	34;36;40-42	64;60;66;67	Equador e Venezuela	PÉREZ-ZAPATA <i>et.al.</i> , 1986; PÉRES-ZAPATA & AGUILERA, 1996 e MUSSER <i>et. al.</i> , 1998.
2	<i>Oryzomys subflavus</i>	46;48-50	56	Brasil (Pe)	MAIA & HULAK, 1981
3	<i>Oryzomys seuanezi</i>	48	64	Brasil (RJ, MG e BA)	WEKSLER <i>et.al.</i> 1999 e ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000
4	<i>Oryzomys subflavus</i> citotipo1	50	64	Brasil (SE e Ba)	ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2002
5	<i>Oryzomys perenensis</i> e <i>Oryzomys laticeps</i> ¹	52	62	Peru, Brasil (AC, AM, PE, PB, BA)	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998, VOLOBOUEV & ANISKIN, 2000, MUSSER <i>et. al.</i> , 1998 ¹ e MAIA, 1990 ¹
6	<i>Oryzomys megacephalus</i>	52;54	62;64	Peru e Guiana Francesa	VOLOBOUEV & ANISKIN, 2000
7	<i>Oryzomys yunganus</i>	52;54;57-59	64-67	Suriname	KOOP <i>et. al.</i> , 1983 e KERRIDGE & BAKER, 1990
8	<i>Oryzomys talamancae</i>	54	60	Equador	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998
9	<i>Oryzomys megacephalus</i>	54	58;59	Suriname	KOOP <i>et. al.</i> , 1983 e BAKER <i>et. al.</i> 1983
10	<i>Oryzomys megacephalus</i> e <i>Oryzomys subflavus</i>	54	62	Pará, Brasil (GO, MG, SP), Paraguai, Venezuela	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998, ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000, SVARTMAN & ALMEIDA, 1992, PÉREZ-ZAPATA <i>et.al.</i> , 1986; PÉRES-ZAPATA & AGUILERA, 1996 e LAGGUTH & BONVICINO, 2002
11	<i>Oryzomys subflavus</i>	54-56	62-63	Brasil (SP)	YONENAGA <i>et.al.</i> ,1976 e ALMEIDA & YONENAGA-YASSUDA, 1985
12	<i>Oryzomys couesi</i> e <i>Oryzomys couesi (aquaticus)</i> ²	56	56	México, Guatemala e Texas	HAIKUK <i>et. al.</i> , 1979 e BENSON & GEHLBACH, 1979 ²
13	<i>Oryzomys couesi couesi</i>	56	60	Honduras	BRADLEY & ENSINK, 1987
14	<i>Oryzomys palustri aquaticus</i> e <i>texensis</i> ³	56	56	México e Texas	GARDNER & PATTON, 1976, HSU & BENIRSCHKE, 1969, BAIKER <i>et. al.</i> , 1983, HAIKUK <i>et. al.</i> , 1979 e e BENSON & GEHLBACH, 1979 ³
15	<i>Oryzomys xantheolus</i> e <i>Oryzomys bauri</i>	56	58	Peru	GARDNER & PATTON, 1976
16	<i>Oryzomys angouya</i> e <i>Oryzomys maracajuensis</i>	58	60	Brasil (MS, ES, SC, RS)	ANDRADES-MIRANDA, 2000 e LANGGUTH & BONVICINO, 2002
17	<i>Oryzomys yunganus</i> (var. 2)	58	62	Peru, Brasil (AC, AM)	GARDNER & PATTON, 1976, PATTON <i>et. al.</i> , 2000 e VOLOBOUEV & ANISKIN, 2000
18	<i>Oryzomys chapmani</i>	58	68	México	HAIKUK <i>et. al.</i> , 1979 e MUSSER &

					CARLETON, 1993
19	<i>Oryzomys subflavus</i>	58	70	Brasil (GO)	ANDRADES-MIRANDA, 2002 e SVARTMAN & ALMEIDA, 1992
20	<i>Oryzomys scotti</i>	58	70;72	Brasil (GO, DF, MS)	LANGGUTH & BONVICINO, 2002
21	<i>Oryzomys bolivaris</i>	58	80	Costa Rica	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998 e GARDNER & PATTON, 1976
22	<i>Oryzomys lamia</i>	58	84	Brasil (GO)	ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000 e BONVICINO <i>et. al.</i> , 1998
23	<i>Oryzomys lamia</i> citotipo 2	60	84	Brasil (GO)	ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000
24	<i>Oryzomys yunganus</i>	60	64	Brasil (GO)	ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000
25	<i>Oryzomys yunganus</i> (var. 1)	60	66	Peru	GARDNER & PATTON, 1976
26	<i>Oryzomys alforoi</i>	60	104	México	BAIKER <i>et. al.</i> , 1983
27	<i>Oryzomys alforoi</i>	60	#	Panamá	BAIKER <i>et. al.</i> , 1983
28	<i>Oryzomys caudatus</i>	6	#	México	BAIKER <i>et. al.</i> , 1983
29	<i>Oryzomys lamia</i> citotipo 1	62	84	Brasil (GO)	ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000
30	<i>Oryzomys alforoi</i>	62	100	Equador	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998
31	<i>Oryzomys malanotis</i>	62	70	México	BAIKER <i>et. al.</i> , 1983 e BAIKER <i>et. al.</i> , 1983
32	<i>Oryzomys macconnelli</i>	64	64	Peru	GARDNER & PATTON, 1976
33	<i>Oryzomys macconnelli</i>	64	70	Brasil	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998 e PATTON <i>et. al.</i> , 2000
34	<i>Oryzomys albigularis</i>	66	86	Venezuela	KIBLISLKY, 1969
35	<i>Oryzomys caracolus</i>	66	90	Venezuela	AGUILERA <i>et. al.</i> , 1995
36	<i>Oryzomys sp</i>	66	92	Venezuela	AGUILERA <i>et. al.</i> , 1995
37	<i>Oryzomys albigulares</i> (var. 2)	66	94	Colômbia	GARDNER & PATTON, 1976
38	<i>Oryzomys meridensis</i>	66	104	Venezuela	AGUILERA <i>et. al.</i> , 1995
39	<i>Oryzomys albigulares</i> (var. 1)	66	112	Colômbia	GARDNER & PATTON, 1976
40	<i>Oryzomys auriventer</i>	70	84	Peru	GARDNER & PATTON, 1976
41	<i>Oryzomys macconnelli</i>	76	85	Venezuela	MUSSER <i>et. al.</i> , 1998
42	<i>Oryzomys russatus</i> ⁴ , <i>Oryzomys nitidus</i> e <i>Oryzomys emmonsae</i> ⁵	80	86	Brasil (PA, ES, SC, PR, RS,), Peru, Bolívia.	PRESENTE TRABALHO , ANDRADES-MIRANDA <i>et. al.</i> , 2000 ⁴ e GARDNER & PATTON, 1976, VOLOBOUEV & ANISKIN, 2000, MUSSER <i>et. al.</i> , 1998 ⁵
43	<i>Oryzomys albigulares</i> (var. 3)	80	92	Peru	GARDNER & PATTON, 1976

OBS. – *2n = número diplóide de cromossomos; NA = número de braços de autossomos.

No Brasil reconhece-se 13 espécies ocorrentes, são elas: *Oryzomys angouya* (FISCHER, 1814), *O. lamia* (THOMAS, 1901), *O. laticeps* (LUND, 1840), *O. macconnelli* (THOMAS, 1910), *O. maracajuensis* (LANGGUTH & BONVICINO, 2002), *O. marinhos* (BONVICINO, 2003), *O. megacephalus* (FISCHER, 1814), *O. nitidus* (THOMAS, 1884),

O. perenensis (ALLEN, 1901), *O. russatus* (WAGNER, 1848), *O. scotti* (LANGGUTH & BONVICINO, 2002), *O. subflavus* (WAGNER, 1842) e *O. yunganus* THOMAS, 1902. (OLIVEIRA & BONVICINO, 2006).

Quase todas as espécies ocorrentes no Brasil eram agrupadas em um complexo de espécies denominado *O. capito* (inclusive a recém descrita *O. seuanezi*), excetuando *O. subflavus* e *O. angouya*. No entanto, MUSSER *et al.* (1998), revisando este agrupamento de espécies, desmembraram-no em três espécies - *O. megacephalus*, *O. perenensis* e *O. laticeps* - e nos grupos *nitidus*, *yunganus* e *transandino* (que não ocorre no Brasil). Estas alterações de classificação e agrupamento são comuns ao longo dos anos visto a enorme controvérsia entre os taxonomistas, em face de novas interpretações taxonômicas, decorrentes do uso de ferramentas alternativas de análises, p.ex. marcadores moleculares, e a possíveis “identificações” de novas espécies.

Os estudos citogenéticos são utilizados na tentativa de resolver problemas taxonômicos, bem como para esclarecer relações filogenéticas em diversos grupos de animais. Para roedores essa premissa também é válida, especialmente para a tribo *Oryzomyini*, onde as relações são tão complexas e indefinidas, como no caso das espécies *Oryzomys russatus*, *Oryzomys nitidus* e *Oryzomys emmonsae* em que encontramos o $2n=80$ e $NA=86$ para todas elas. As classificações têm sido retificadas ou ratificadas, geralmente, por análises que utilizam marcadores moleculares, como por exemplo, seqüências de DNA do citocromo b (BONVICINO & MOREIRA, 2001).

No presente trabalho, utilizaremos a classificação proposta por MUSSER & CARLETON (1993) e VOSS & CARLETON (1993), conforme MATEVVI & ANDRADES-MIRANDA (2006):

Ordem Rodentia

Subordem Sciurognathi

Família Cricetidae

Subfamília Sigmodontinae (70 gen., 320 spp)

Tribo Oryzomyini (16 gen., 128 spp)

Gênero Amphinectomys (1 sp)

Gênero Handleyomys (2 spp)

Gênero Holochilus (4 spp)

Gênero Lundomys (1sp)

Gênero Melanomys (3 spp)

Gênero Microryzomys (2 spp)

Gênero Neacomys (8 spp)

Gênero Nectomys (4 spp)

Gênero Nesoryzomys (4 spp)

Gênero Oecomys (18 spp)

Gênero Oligoryzomys (24 spp)

Gênero Oryzomys (48 spp)

Gênero Pseudoryzomys (2 spp)

Gênero Scolomys (2 spp)

Gênero Sigmodotomys (2 spp)

Gênero Zygodontomys (2 spp)

2 OBJETIVOS

Tendo em vista a exposição acima, pretendemos, no presente trabalho, caracterizar e verificar a distribuição geográfica do cariótipo da espécie *Oryzomys russatus* no Estado do Paraná.

Para tal visamos:

a – Determinar os cariótipos de exemplares de *Oryzomys russatus* coletados no Estado do Paraná, estabelecendo seus padrões em colorações comum (Giemsa) e bandeamentos - C, G;

b – Caracterizar citogeneticamente a distribuição geográfica de *Oryzomys russatus* no Paraná, e, de acordo com a literatura específica, situá-la no contexto de outras regiões do Brasil.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

Material citológico do Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Foi realizado um levantamento dos dados citogenéticos em 17 exemplares de *Oryzomys russatus*, coletados em quatro localidades de diferentes municípios do Paraná (Figura 01), e que fazem parte do acervo de dados do Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal do Paraná, da UFPR (Tabela 02). Por razões de antiguidade o nome específico de *O. russatus*, e usado neste trabalho, tem preferência sobre o de *O. intermedius*, que é uma das sinonímias desta espécie. Apesar da participação em três coletas na região metropolitana de Curitiba, não conseguimos capturar exemplares das duas espécies previstas para ocorrerem no Paraná – *O. russatus* e *O. angouya*. Por este motivo nossos estudos foram restritos a *O. russatus*, utilizando apenas os dados citogenéticos do acervo do Laboratório acima mencionado.

Tabela 02: Locais de coletas e número de machos e fêmeas de *Oryzomys russatus*

Local	Macho	Fêmea
1 - Guaraqueçaba	06	03
2 - São José dos Pinhais (Guaricana)	02	02
3 - Antonina (Bacia do Rio Nunes)	02	01
4 - Morretes (Mãe Catira/Marumby)	-	01
TOTAIS	10	7
	17	



Figura 01: São mostrados os quatro locais de coletas dos 17 exemplares de *O. russatus* no Estado do Paraná: 1 – São José dos Pinhais, 2 - Morretes (Guaricana). 3- Antonina (Pq Marumby), 4 – Guaraqueçaba. O nome entre parêntesis identifica as localidades dentro dos municípios correspondentes.

3.2 Métodos

3.2.1 Coleta dos animais

Foram utilizadas gaiolas “life trap”, tendo como iscas milho e banana. Depois de coletados, os animais foram levados ao laboratório, onde foi feita a preparação citológica e taxidermia.

3.2.2. Taxidermia

Os animais foram taxidermizados e tombados na Coleção Científica do Laboratório de Citogenética Animal da UFPR.

3.2.3. Preparação Mitótica

Para obtenção de cromossomos mitóticos metafásicos foi utilizado preparação direta de medula óssea através do método descrito por FORD & HAMERTON (1956), com modificações (SBALQUEIRO & NASCIMENTO, 1996), conforme descrito abaixo:

- 1) Injetar intraperitonealmente 1ml de solução de colchicina a 0,1 % para cada 100g de peso do animal.
- 2) Sacrificar o animal após uma a duas horas.
- 3) Retirar os fêmures, seccionando as epífises e injetar a solução hipotônica (0,075M/KCl a 37° C) através da medula, deixando deslizar suavemente pelas paredes do tubo de centrífuga esta solução bem como o material medular.
- 4) Ressuspender gentilmente e esperar por 10 minutos com o material em banho-maria a 37° C. Antes de centrifugar adicionar 0,5 ml de fixador, (3 metanol : 1 ácido acético) sem ressuspender.
- 5) Centrifugar a 800 r.p.m. por 10 minutos.
- 6) Retirar praticamente todo o sobrenadante, deixando 1 ml, ressuspender. Fixar o precipitado com 5ml de fixador; ressuspender e deixar em repouso por 30 minutos.
- 7) Trocar o fixador por três vezes, conforme descrito no passo número 6, sem a necessidade de manter em repouso.
- 8) Após a última centrifugação, deixar de 1 a 1,5 ml do fixador para montagem das lâminas.

3.2.4 Preparação das lâminas

As lâminas foram lavadas com detergente neutro, enxaguadas com água filtrada, e armazenadas na geladeira imersas em álcool 70%.

No momento de utilizar, as lâminas foram secas ao ar, e, do material citológico ressuspenso, duas gotas foram pingadas sobre a lâmina previamente lavada. Após a secagem foram aplicados diferentes tipos de colorações: com Giemsa (convencional) e bandamentos.

3.2.5 Coloração convencional

As lâminas 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 secas, observadas ao microscópio.

3.2.6 Bandamentos C e G.

A obtenção das bandas C e G seguiram as metodologias preconizadas por, respectivamente, SUMNER (1972), SEABRIGHT (1971), com modificações conforme SBALQUEIRO (1989).

3.2.6.1 Bandamento CBG

O bandamento CBG proporciona a visualização de bandas C (marca regiões de heterocromatina constitutiva):

Lâmina preparada no dia.

- 1) Passar em 0,2N HCl a 43 – 45° C / 2 min.
- 2) Lavar em água destilada e secar.
- 3) Mergulhar em solução de bário a 5% a 43 – 45° C, 15 seg. (tempo variável).
- 4) Lavar muito bem com jatos fortes de água destilada.

- 5) Mergulhar em 2SSC pH 7,0 a 60 – 65° C por 15 minutos.
- 6) Lavar em água destilada e corar em Giemsa a 5% (tampão 6,8 ou 7,2).
- 7) Lavar em água corrente filtrada, secar e observar em microscópio.

3.2.6.2 Bandamento GTG

O bandamento GTG evidencia bandas G (faixas claras e escuras ao longo dos cromossomos):

- 1) Preparar as lâminas e envelhecer por 3 – 4 dias em estufa a 40° C.
- 2) Incubar as lâminas em tampão fosfato pH 6,8 por 5 minutos.
- 3) Incubar em solução tampão fosfato pH 6,8 com tripsina a 0,03% (dissolvida em tampão fosfato pH 6,8 ou solução de Hank's) por 15 segundos (tempo variável).
- 4) Lavar rapidamente em água destilada, álcool etílico P.A. e água destilada.
- 5) Incubar em tampão fosfato pH 6,8 por 1 minuto.
- 6) Corar com Giemsa tamponado (pH 6,8) a 2,5% por 5 minutos; lavar em água filtrada e observar ao microscópio.

3.2.7. Análises

Em coloração comum (corante Giemsa) foram analisadas ao microscópio, através de desenhos esquemáticos, 10 células de cada exemplar. De cada animal e tipo de coloração (comum e bandeamentos C e G) foram selecionadas as três melhores metáfases. Estas foram fotomicrografadas no fotomicroscópio Zeiss, do Laboratório de Citogenética Animal, Departamento de Genética da UFPR, para a montagem dos cariogramas correspondentes.

4 RESULTADOS

A análise citogenética em coloração comum (Giemsa), quanto ao número cromossômico ($2n$) e número de braços de autossômicos (NA), nos 17 exemplares amostrados (10 machos: 7 fêmeas), revelou uma constância em ambos como sendo iguais, respectivamente, a 80 e 86. Esta amostra foi coletada em quatro localidades distintas (Tab. 02), sendo uma delas S. José dos Pinhais, no Primeiro Planalto paranaense, enquanto que as outras três no lado Oriental da Serra do Mar (Morretes, Antonina e Guaraqueçaba). No Anexo 02 são apresentados os dados citogenéticos de cada um dos 17 exemplares da nossa amostra.

Na Fig. 02 são mostrados o cariograma parcial – os autossomos – e os pares sexuais XX e XY, em destaque, onde se evidencia uma variação tanto morfológica, cromossomos X e Y, como de tamanho, no X. Por outro lado, diferentes tamanhos entre os pares sexuais mostrados na Fig. 02 não significam que estejam em diferentes estágios de contração e, sim, refletem aspectos técnicos envolvidos na ampliação das fotos.

O cariótipo desta espécie caracteriza-se por apresentar 35 pares de cromossomos acrocêntricos (pares 1 a 35), com variação gradativa de tamanho, e quatro pares de metacêntricos pequenos (pares 36 a 39), o que confere um número total de 86 braços.

Com relação ao heteromorfismo identificado nos cromossomos sexuais, tanto no X como no Y, o primeiro revelou-se como subtelocêntrico, na maioria das fêmeas, e submetacêntrico, além de mostrar também diferença no tamanho (observação visual), enquanto que no macho foi subtelocêntrico. Com relação ao Y, dois tipos morfológicos foram identificados – acrocêntrico, na maioria, e subtelocêntrico.

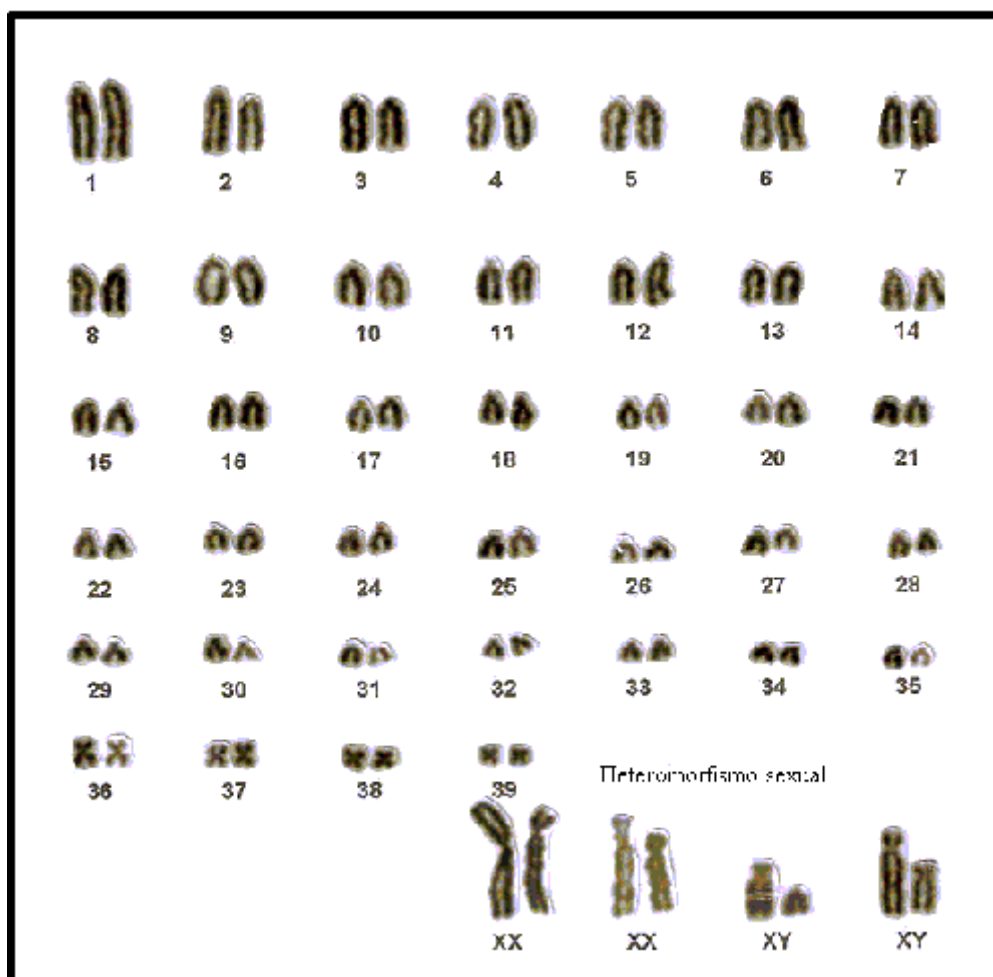


Figura 02: Cariograma *Oryzomys russatus* (= *intermedius*), mostrando os pares autossômicos e em destaque os sexuais.

Na Tabela 03 é apresentada uma análise das freqüências dos heteromorfismos mostrados na Fig. 02, e estas refletem a análise em 14 exemplares (7M:7F), onde se verifica que o X subtlocêntrico (ST) é a morfologia mais freqüente tanto em fêmeas como nos machos. Nas fêmeas, ainda, a combinação da forma subtlocêntrica foi a mais freqüente (72%), sendo que em uma delas observou-se um heteromorfismo onde um dos X é submetacêntrico (SM). Além disso, em duas delas, incluindo esta última, há diferença no tamanho entre os dois X. Chamamos a atenção para o fato de que estas observações foram visuais, isto é, não utilizamos quaisquer medições. Já nos machos,

$X_{ST}Y_A$ foi verificada em seis dos sete exemplares (86%), e em apenas 1 (14%) detectou-se um Y subtelocêntrico.

Tabela 03 – Frequências observados de cada uma das combinações dos pares sexuais nas fêmeas e machos.

FÊMEAS	n (%)	MACHOS	n (%)
$X_{ST}X_{ST}$	5 (72)	$X_{ST}Y_A$	6 (86)
$X_{ST} > X_{ST}$	1 (14)	$X_{ST}Y_{ST}$	1 (14)
$X_{SM}X_{ST}$	1 (14)		

OBS. – ST = subtelocêntrico; SM = submetacêntrico, A = acrocêntrico

Na Fig. 03 (a, b) são apresentadas, respectivamente, os padrões de bandas G e C. Na G, foram identificados perfeitamente todos os cromossomos, incluindo os dois X, devido à presença de duas bandas na região mediana do braço maior. Por outro lado, a heterocromatina constitutiva, revelada pelo bandamento C, distribuiu-se na região pericentromérica de todos os autossomos, braço curto do X e todo o Y.

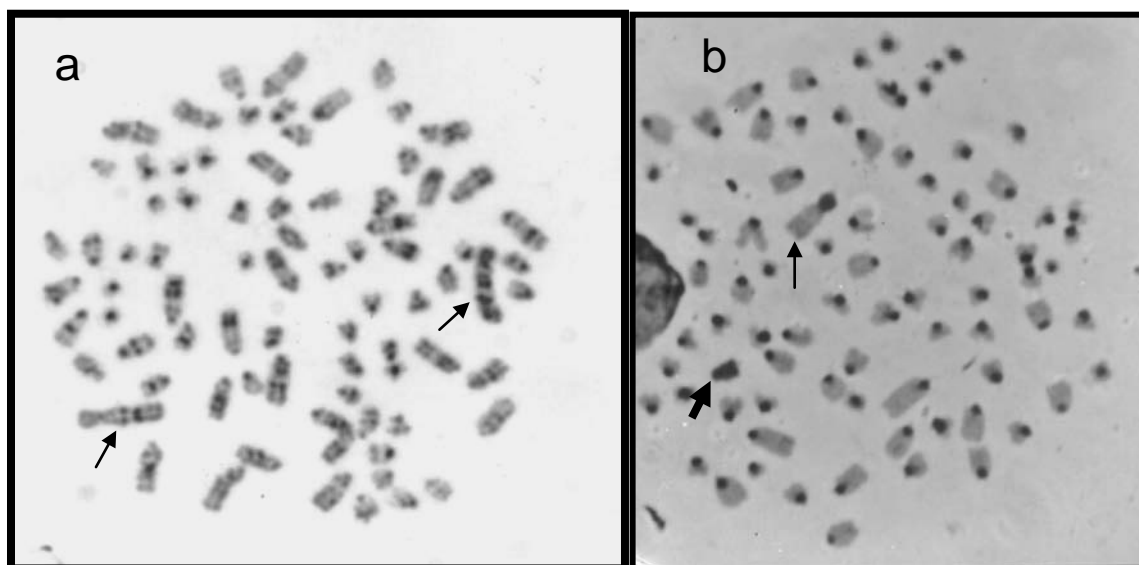


Figura 03 – Metáfases mostrando os padrões de bandamentos em *Oryzomys russatus*: a) de uma fêmea em banda G; b) de um macho em banda C. As flechas indicam os cromossomos X e, a mais espessa, o Y.

5 DISCUSSÃO

Uma das duas espécies previstas para ocorrerem no Paraná, *Oryzomys russatus* mostrou uma constância cariotípica, com relação aos $2n$ (=80) e NA (= 86), nas quatro localidades de coletas, sendo uma delas no Primeiro Planalto paranaense e as demais na porção Oriental da Serra do Mar. O cariótipo é constituído basicamente por 27 pares de cromossomos acrocêntricos, três de pequenos metacêntricos mais o par sexual, que pode apresentar diferentes tipos morfológicos. Este cariótipo já foi descrito para amostras populacionais de outras regiões do Brasil, como no Espírito Santo, em Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ANDRADES-MIRANDA et al. 2000), sendo que no Paraná o seu registro na literatura pertinente é muito restrito, pelo menos em termos cariológicos. Assim, a única publicação é de SBALQUEIRO et al. (1986), que descreve um cariótipo idêntico ao de *O. russatus* em quatro exemplares *O. intermedius* ($2n=80;NA=86$), coletados em Morretes, no Paraná. Neste caso, como já mencionado anteriormente, *O. intermedius* e *O. russatus* são consideradas como sinônimas tendo o segundo nome preferência por razões de antiguidade (MUSSER et al., 1998).

Outras espécies de *Oryzomys*, como *O. emmonsae* (no Pará) e *O. nitidus* (Peru e Bolívia), mostram um cariótipo muito similar ao descrito para *O. russatus* (MUSSER et al., 1998; GARDNER & PATTON, 1976 e VOLOBOUEV & ANISKIN, 2000). Este cariótipo é considerado como um dos mais primitivos neste gênero, no entanto a amplitude de variação cariotípica descrita para quase cinquenta espécies, com o $2n = 34$ a 80 e $NA = 56$ a 104, demonstra que este grupo possui uma das mais altas taxas de evolução cromossômica entre os vertebrados (ANDRADES-MIRANDA, 2000), com a ação de várias alterações estruturais cromossômicas atuando nesta diversidade tão intensa, destacando-se, entre outras, fusões-fissões cêntricas, fusões em tandem e inversões pericêntricas.

A variabilidade morfológica nos cromossomos X e Y, detectada em nossos exemplares responde pela multiformidade cariotípica observada nesta espécie.

Assim, a forma subtelocêntrica se mostrou mais freqüente que a submetacêntrica, sendo que nos machos ocorreu só a primeira. Conseqüentemente a combinação homozigota $X_{ST}X_{ST}$ prevaleceu sobre a heterozigota $X_{ST}X_M$, heteromorfismo observado em uma única fêmea. O cromossomo Y também revelou dois tipos, o mais freqüente em forma de acrocêntrico e o subtelocêntrico, observado em um único exemplar. As variações tanto no X como no Y, são decorrentes, provavelmente, de inversões pericêntricas, no entanto, não podemos descartar alterações na quantidade de heterocromatina constitutiva, seja por deleção ou duplicação deste material genético. Observações similares foram explicitadas por ANDRADES-MIRANDA *et al.* (2000), que descreveram quatro formas distintas ao cromossomo X: metacêntrico-submetacêntrico, submetacêntrico, subtelocêntrico-submetacêntrico e subtelocêntrico, em indivíduos do Espírito Santo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Estes autores, afirmaram ainda que o cromossomo pode ser submetacêntrico ou subtelocêntrico, sendo observado mosaico XX/XXX em uma fêmea $2n=80/81$. PERESQUE *et al.* (2004) encontrou este mesmo padrão cariotípico para *Oryzomys russatus* do Estado do Espírito Santo, porém com indivíduos apresentando três formas para o cromossomo X: submetacêntrico grande, subtelocêntrico grande e metacêntrico grande.

Os padrões de bandas C, conspícuos em todos os cromossomos, seja na região pericentromérica dos autossomos como no braço menor do X e em todo o Y, observada no presente trabalho, é uma marcação também já relatada por diversos autores como ANDRADES-MIRANDA *et al.* (2000) e PERESQUE *et al.* (2004), em exemplares de diferentes regiões brasileiras onde foram coletados.

A distribuição geográfica de *Oryzomys russatus* apesar de prevista como uma das duas espécies deste gênero para o Paraná, foi ampliada, tendo em vista que havia apenas uma citação deste cariótipo para a *Oryzomys intermedius* (= *russatus*) em Morretes (SBALQUEIRO *et al.*, 1986), agora estendida a mais três regiões paranaenses, duas do lado oriental da Serra do Mar (Antonina e Guaraqueçaba) e uma ocidental (S. José dos Pinhais).

Uma importante questão a ser discutida neste trabalho é quanto à identificação taxonômica de *Oryzomys russatus*, que é bastante polêmica e tem gerado muita confusão. Azara (1801, conforme MUSSER *et. al.*, 1998) descreveu uma “espécie” que denominou ‘Rat troisième ou Rat Angoya’ porém sua descrição é muito genérica e pode ser atribuída a indivíduos das espécies *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys nitidus*, *Oryzomys russatus* ou *Oryzomys ratticeps*, estes autores crêem que esta pode ser uma origem para os vários nomes citados para *Oryzomys russatus* (= *intermedius*), recebendo diferentes nomes - *legatus*, *lamia*, *intermedius* e *kelloggi* - em três regiões geográficas distintas em que foi amostrada, ou seja são todos sinônimos.

Na primeira região o táxon é denominado *legatus*. A referida área estende-se desde as florestas baixas dos Andes do Sul da Bolívia ao Norte da Argentina. CABRERA (1961) classificou *legatus* como subespécies de *O. capito*. GARDNER & PATTON (1976) consideram *legatus* como um provável sinônimo de *nitidus*. Foi considerada por MUSSER & CARLETON (1993) como espécie plena bem como por PATTON *et. al.* (2000), com distribuição proposta desde o leste dos Andes às regiões Centro e Sul da Bolívia (localidade-tipo) até o Noroeste da Argentina. O cariótipo de *O. legatus* não é conhecido. (ANDRADES-MIRANDA, 2000).

A segunda região, segundo MUSSER *et. al.* (1998), compreende desde o estado da Bahia, sudeste do Brasil ao leste do Rio Paraná e o estado do Rio Grande do Sul. As espécies desta área têm sido chamadas de *intermedius*. CABRERA (1961) também classificou *intermedius* como uma subespécie de *Oryzomys capito*. GARDNER & PATTON (1976) consideram *intermedius* como sinônimo de *nitidus*, levando em conta as relações próximas entre estas duas espécies. MUSSER & CARLETON (1993) propõem que *intermedius* seja uma espécie plena. Seu cariótipo foi descrito por SBALQUEIRO *et. al.* (1986) em exemplares coletados no Paraná e apresenta $2n=80$ e $NA=86$, igual ao descrito em *Oryzomys russatus*. *Oryzomys kelloggi* simplesmente identifica outra amostra brasileira de *Oryzomys russatus* nesta região.

A terceira região abrange o Sul do Cerrado do Brasil Central, ao longo do Rio Paranaíba (Araguari, Minas Gerais – localidade-tipo) e Anápolis (Goiás). Neste segmento os autores salientam que *Oryzomys russatus* tem sido denominada de *Oryzomys lamia*, mas BONVICINO *et. al.* (1998), corroborados por ANDRADES-MIRANDA (2000), sugerem a conservação do status de espécie para *Oryzomys lamia*, considerando seu cariótipo de $2n=58$ e $NA=84$, diferente do descrito para *Oryzomys russatus* ($2n=80$ e $NA=86$). *Oryzomys lamia* parece ser endêmica ao Cerrado do Brasil Central. HERSHKOVITZ (1966) relata que *Oryzomys lamia* ocorre no Sul do Brasil e em Missiones na Argentina e que, junto com *Oryzomys laticeps* e *Oryzomys intermedius*, são representantes de *Oryzomys capito* e *Oryzomys alfaroi* nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. HONACKI *et. al.* (1982) e MUSSER & CARLETON (1993) propõem que, de acordo com THOMAS (1901), esta espécie esteja associada a *Oryzomys intermedius* (incluída em *capito*); mas estes autores consideram *Oryzomys lamia* como uma espécie plena, cuja distribuição abrange a região sudeste do Brasil (localidade-tipo: Minas Gerais). MARES *et. al.* (1989) relataram a ocorrência de *Oryzomys lamia* no Cerrado.

6 CONCLUSÕES

A análise citogenética em coloração comum (Giemsa) bandamentos C e G em 17 exemplares (10 machos: 7 fêmeas), coletados em quatro regiões distintas do Paraná, permitiu as seguintes conclusões:

01 – Não foram observadas variações no $2n$ e NA dos espécimes analisados, corroborando com trabalhos anteriores

02 – A variabilidade encontrada nos cromossomos sexuais foi apenas quanto à morfologia

03 – A variabilidade morfológica em ambos cromossomos, pode ser atribuída a diferentes fatores, entre os quais, inversão pericêntrica e/ou alterações na quantidade de heterocromatina constitutiva;

04 – As técnicas de bandamento C e G, evidenciaram heterocromatina constitutiva e padrão de bandas respectivamente, sendo similares aos dados da literatura

05 –; Não foi possível relacionar um padrão cariotípico a uma determinada região de coleta

06 – Os dados citogenéticos do presente trabalho ampliam a distribuição geográfica das formas cariotípicas conhecidas para esta espécie no Estado do Paraná;

07 – A polêmica taxonômica existente na identificação e caracterização das diferentes espécies em *Oligoryzomys*, associada à ampla variabilidade cariotípica existente neste grupo, atestam o mérito na aplicação da citogenética como uma importante ferramenta citotaxonômica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, A. R. - **A Rodent as Big as a Buffalo**. Science 2003. 301, 1678.

ANDERSON, S. Introduction to the rodents. In: ANDERSON, S.; JONES JR., J. K. (Editors). **Recent Mammals of the World: A synopsis of families**. The Ronald Press Company, New York. 1967. 206-209

ANDERSON, S.; JONES JR., J. K. (Editors). **Recent Mammals of the World: A synopsis of families**. The Ronald Press Company, New York. 1967. 3-11

ANDRADES-MIRANDA, J. - **Os cariótipos dos Orizominos e Tomazominos do Cerrado e de outros locais do Brasil**. Porto Alegre, 2000. 252. Tese de doutorado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BARROS, M. A.; REIG, O. A.; PEREZ-ZAPATA, A. Cytogenetics and karyosystematics of South American oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). IV. **Karyotypes of Venezuelan, Trinidadian, and Argentinian water rats of the genus Nectomys**. Cytogenetics and Cell Genetics. 1992. 59: 34-38.

BIANCHI, N. O.; REIG, O. A.; MOLINA, O.; DULOUT, F. N. Cytogenetics of South American Akodon rodents (Cricetidae). In: **A progress report of Argentinian and Venezuelan forms**. Evolution. 1971. 25:724-736.

CARLETON, M. D. – **Phylogenetic relationships in Neotomine-Peromyscine rodents (muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within new world cricetinae**. Misc. Public. Mus. Zool. Univ. Mich., 1980. 157:1-145.

CATZEFLIS, F. M.; DICKERMAN, A. W.; MICHAUX, J.; KIRSCH, J. A. W. DNA hybridization and rodent phylogeny. In SZALAY, F. S.; NOVACEK, M. J.; MCKENNA,

M.C. (Editors). **Mammals Phylogeny: Placentals**. Springer-Verlag, New York, 1993. 159-172.

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

EMMONS, L. H.; FEER, F. - **Neotropical rainforest mammals a field guide**. The University of Chicago Press, Chicago e Londres, 1990. 281 p.

FORD, C.E.; HAMERTON, J. L. – **A cochicine hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosome**. *Stain Tech.*, 1956. v. 31, p. 247-51.

GARDNER, A. L.; PATTON, J. L. – **Karyotypic variation in Oryzomyne rodents (Cricetidae) with comments on chromosomal evolution in the Neotropical cricetine complex**. *Occ. Pap. Mus. Zool.*, 1976. 49:1-48.

GRAIPEL, M.E.; MILLER, P.R.M.; GLOCK, L. – **Padrão de atividades de *Akodon montensis* e *Oryzomys russatus* na reserva de Volta Velha, Santa Catarina, sul do Brasil**. *Mastozoologia Neotropical.*, 2003. v.10, n.2. Tucumán, p. 255- 260.

HERSHKOVITZ, P. – **South American swamp and fossorial rats of the Scapteromyine group (Cricetidae, Muridae) with comments on the glans penis in murid taxonomy**. *Z. Saugetierk*, 1966. 31:81-149.

HERSHKOVITZ, P. – The recent mammals of the Neotropical region: a zoogeographic and ecological review. In: KEAST, A.; ERK, F.C.; GLASS, B. (eds.). **Evolution, mammals and Southern continents**. Albany: State Univ. N. York. 1972. Pp. 311-431

HOOPER, E.T.; MUSSER, G. G. – **The glans pênis in Neotropical cricetines (family Muridae) with comments on classification of Muroid rodents.** Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Mich., 1964. 123:1-57

MARSHALL, L. G. – **A model for paleobiogeography of South American Cricetine rodents.** Paleobiology. 1979. 5: 126-132

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

MCKENNA, M. C. Toward a phylogenetic classification of the Mammalia. In: LUCKETT, W. P. & SZALAY, F. S. (Editors). **Phylogeny of the primates.** New York, Plenum Plub. Co., 1975. 21-46

MUSSER, G.G.; CARLETON, M.D. - Family Muridae. In: WILSON, D.E. **Mammal species of the world.** A taxonomic and geographic reference. Washington: Smithsonian. 1993.

MUSSER, G.G.; - **Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae)** : diagnoses and distributions of species formerly assigned to *Oryzomys "capito"*. Bulletin of the American Museum of Natural History; 1998. no. 236

NOWAK, R.M. – **Walker's Mammals of the world.** 5a. ed. p. Jonh Hopkins University. Baltimore e London. 1991. Vol.II 1629

OLIVEIRA, J. A.; BONVICINO, C. R., Ordem Rodentia, In: **Mamíferos do Brasil** Nélio R. dos Reis et al – Londrina,2006. 437 p. :il. ; 27 cm. CD-ROM.

PARDINAS, U.F.J; D'ELÍA, G.; ORTIZ, P.E. **Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Sigmodontinae) de América del Sur**: Estado Actual de su conocimiento y prospectiva. *Mastozoología Neotropical /J. Neotrop. Mammal.* 2000. 9(2): 209-252.

PATTERSON, B.; PASCUAL, R. The fossil mammal fauna of South America. In: KEAST, A.; ERK, F. C. ; GLASS, B., (Editors). **Evolution, Mammals and southern continents**. State University of New York Press, Albany. 1972. 247-309

REDFORD, K. H. & EISENBERG, J. F. (Editors). **Advances in Neotropical Mammalogy**. The Sandhill Crane Press, Florida. 1989.

REIG, O.A. – **A Proposed unified nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia)**. *J. Zool.*, 1977. 181:227-241.

REIG, O.A. - **A refreshed unorthodox view of paleobiogeography of South American Mammals** (Review of G.G. SIMPSON, 1980. *Splendid Isolation*. The curious history of South American Mammals. Yale, University Press, New Haven and London). *Evolution*, 1981. 35:1032-1035.

REIG, O.A. – **Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muroideos sul-americanos (Cricetidae: Sigmodontinae)**. *Ver. Bras. Gent.*, VII(2), 1984. 333-365.

REIG, O.A. – Diversity patterns and differentiation of high Andean rodents. In: VUILLEUMIER, F. E .; Monasterio (eds.) **High altitude tropical biogeography**, New York, OXFORD Univ, 1986. 404-439.

SBALQUEIRO, I.J; KIKU, M; LACERDA,M; ACHKAR, D.E. e ARNT, L.R. – **Estudos cromossômicos em roedores da família Cricetidae coletados no Paraná**. *Ciênc. Cult.* (supl.), 1986. 38:926.

SBALQUEIRO, I. J. - **Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da Região Sul.** Porto Alegre, 1989. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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

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

TULLBERG, T. - **Über das system der nagethiere:** eine phylogenetische studie. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis*, 1899. 3: 1-514.

VORONTZON, N. N. – **Evolutzia pishtchevaritelnoi sistemy gryzunov** (mysheo braznye) (Evolution of the digestive system of Muroid rodents). Novosibirsk: Izdatel'stvo "Nauka" Sib. Otd. Akad. Nauk SSSR, 1967. 1-234.

VOSS, R. S.; CARLETON, M. D. **A new Genus for *Hesperomys molitor* Wing and *Holochilus magnus* Hershkovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its phylogenetic relationship.** American Museum Novitates. 1993. 3085: 1-39.

VOSS, R. S.; LINZEY, A. V. – **Comparative Gross morphology of male accessory glands among Neotropical Muridae (Mammalia: Rodentia) with comments on systematic implications.** Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Mich., 1981. 159:1-41.

WEKSLER, M. – **Ten New Genera of Oryzomynine Rodents (Cricetidae: Sigmodontinae).** American Museum Novitates, 2006. 3537: 1-29

WILSON, D. E.; D. M. REEDER - **Mammal Species of the World.** Johns Hopkins University Press, 2005. 2,142 pp.

ANEXOS

Anexo 01: Dez novos gêneros propostos por WEKSLER *et.al.* (2006).

Aegialomys	Tipo	<i>O. xantheolus</i>	
	Contem	<i>galapagoensis</i>	incluindo <i>bauri</i>
		<i>xantheolus</i>	incluindo <i>baroni</i> e <i>ica</i>

Cerradomys	Tipo	<i>Hesperomys subflavus</i>	
	Contem	<i>maracajuensis</i>	
		<i>marinhus</i>	
		<i>scotti</i>	incluindo <i>andersoni</i>
		<i>subflavus</i>	Incluindo <i>vulpinoides</i> e <i>laticeps</i>

Eremoryzomys	Tipo	<i>O. polius</i>	
	Contem	<i>polius</i>	

Euryoryzomys	Tipo	<i>O. macconnelli</i>	
	Contem	<i>emmonsae</i>	
		<i>lamia</i>	
		<i>legatus</i>	
		<i>macconnelli</i>	Incluindo <i>incertus</i> e <i>mureliae</i>
		<i>nitidus</i>	incluindo <i>boliviae</i>
		<i>russatus</i> *(presente trabalho)	incluindo <i>physodes</i> , <i>intermedia</i> , <i>coronatus</i> , <i>kelloggi</i> e <i>moojeni</i>

Hylaeamys	Tipo	<i>Mus megacephalus</i>	
	Contem	<i>acritus</i>	
		<i>laticeps</i>	incluindo <i>saltator</i> e <i>seuanezi</i>
		<i>megacephalus</i>	incluindo <i>capito</i> , <i>cephalotes</i> , <i>velutinus</i> , <i>goeldii</i> e <i>modestus</i>
		<i>oniscus</i>	
		<i>perenensis</i>	
		<i>tatei</i>	
		<i>yunganus</i>	

Mindomys	Tipo	<i>Nectomys hammondi</i>
	Contem	<i>hammondi</i>

Nephelomys	Tipo	<i>Hesperomys albigularis</i>	
	Contem	<i>albigularis</i>	
		<i>auriventer</i>	
		<i>caracolus</i>	
		<i>childi</i>	incluindo <i>oconnelli</i>
		<i>devius</i>	
		<i>keaysi</i>	incluindo <i>obtusirostris</i>
		<i>levipes</i>	
		<i>maculiventer</i>	
		<i>meridensis</i>	
		<i>moerex</i>	
		<i>nimbosus</i>	
		<i>pectoralis</i>	
		<i>pirrensis</i>	

Oreoryzomys	Tipo	<i>O. balneator</i>	
	Contem	<i>balneator</i>	incluindo <i>hesperus</i>

Sooretamys	Tipo	<i>Mus angouya</i>	
	Contem	<i>angouya</i>	incluindo <i>buccinatus</i> , <i>angouya</i> , <i>leucogaster</i> , <i>ratticeps</i> , <i>rex</i> , <i>paraganus</i> e <i>tropicus</i>

Transandinomys	Tipo	<i>O. talamancae</i>	
	Contem	<i>bolivaris</i>	incluindo <i>castaneus</i> , <i>rivularis</i> , <i>bombycinus</i> , <i>alleni</i> e <i>orinus</i>
		<i>talamancae</i>	incluindo <i>mollipilosus</i> , <i>magdalenae</i> , <i>villosus</i> , <i>sylvaticus</i> , <i>panamensis</i> , <i>medius</i> e <i>carrikeri</i>

ANEXO 02: Discriminação dos achados cromossômicos por protocolo de coleta.

	Protocolo	Espécie	2n	NF/NA	Sexo	Local
1	P88	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	São José dos Pinhais (Guaricana)
2	P93	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	São José dos Pinhais (Guaricana)
3	P97	<i>Oryzomys intrmedius</i>	2n=80	NA=86	M	São José dos Pinhais (Guaricana)
4	P101	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	São José dos Pinhais (Guaricana)
5	P173	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	Antonina (Bacia do Rio Nunes)
6	P178	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Antonina (Bacia do Rio Nunes)

7	P189	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Morretes(Mãe Catira/Marumby)
8	P276	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	Guaraqueçaba
9	P348	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	São José dos Pinhais (Guaricana)
10	P743	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba
11	P753	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba
12	P759	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	Guaraqueçaba
13	P763	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba
14	P767	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba
15	P770	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	F	Guaraqueçaba
16	P772	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba
17	P774	<i>Oryzomys intermedius</i>	2n=80	NA=86	M	Guaraqueçaba