

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ESTUDOS CITOGENÉTICOS E  
EVOLUTIVOS NAS ESPÉCIES  
BRASILEIRAS E ARGENTINAS DO  
GÊNERO *Alouatta* LACÉPÈDE 1799  
( PRIMATES, ATELIDAE )

EDIVALDO HERCULANO CORRÊA DE OLIVEIRA

CURITIBA  
1996

**EDIVALDO HERCULANO CORRÊA DE OLIVEIRA**

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS E EVOLUTIVOS NAS  
ESPÉCIES BRASILEIRAS E ARGENTINAS DO GÊNERO  
*Alouatta* LACÉPÈDE, 1799 (PRIMATES, ATELIDAE)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-  
Graduação em Genética da Universidade Federal  
do Paraná, para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências.

Orientador: Ives José Sbalqueiro

**CURITIBA**

**1996**

**Aos meus pais, Pedro e Rosineide, e  
irmãos, Eliana, Elizate, Edilson e Elineide,  
pela compreensão e pelo apoio sempre  
presentes.**

**“Deus concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta. “**

**Emanuel**

Psicografia de F. C. Xavier

## AGRADECIMENTOS

Meu interesse no campo da genética de primatas iniciou ainda na graduação, graças principalmente ao apoio vindo da Dra. Iracilda Sampaio. Além disso, pude contar com o encorajamento da Prof<sup>a</sup>. Margarida M. C. de Lima, que me instruiu como seu estagiário, dando-me um excelente treinamento em citogenética de primatas.

Como qualquer projeto envolvendo amostras de lugares tão distantes entre si, as pesquisas aqui incluídas só foram possíveis graças à colaboração de muitas pessoas. Dentre elas, gostaria de agradecer especialmente a todos aqueles que permitiram a coleta de material de animais mantidos em cativeiro: Sr. Alcides Pissinati (CPRJ), Sr. Emerson Suemitsu (Itaipu Binacional), Sra. Maria Lúcia Gomes e Sra. Ana Fischer da Silva (Passeio Público de Curitiba), Sr. Julio Ruiz (CAPRIM) e Sr. Carlos Eduardo Esbèrard (Fundação Rio-zoo). Gostaria também de agradecer aos professores e funcionários do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná, principalmente Prof. Lodércio Culpi, Prof<sup>a</sup>. Eleidi Freire-Maia, Prof. Elias Karam Júnior, Prof<sup>a</sup>. Maria Luíza Pertz-Erler, e aos professores responsáveis pelo Laboratório de Citogenética Humana, Prof. Iglénir João Cavalli e Prof<sup>a</sup>. Enilze Ribeiro, por todo o apoio que me deram, tanto moral como material, e por sempre permitirem que eu usasse o Laboratório de Citogenética Humana durante o desenvolvimento desta dissertação.

Tenho que expressar aqui minha amizade e carinho à equipe do

Laboratório de Citogenética Animal, por toda a ajuda, contribuição e pelo convívio harmonioso que tivemos: Izonete Kasmieczark, Celma Regina Baggio, André Paulo Nascimento, Raquel Castro, Marion da Silva, Iris Hass, Gláucia Dalabona e Prof<sup>ª</sup>. Marta Margarete Cestari.

A qualidade da arte-final dessa dissertação só foi possível graças às sugestões, talento e paciência de Maurício Floriano, a quem sou muito grato. Algumas ilustrações foram gentilmente cedidas por Wilsea Figueiredo (UFPA) que, juntamente com Renato Gregorin (USP), complementaram o conteúdo com muitas sugestões, informações e discussões: meus sinceros agradecimentos.

Graças à Profa. Dilma Solange Napp e à Marinez Isaac Marques, que me instruíram no uso do programa PAUP e trouxeram muitas sugestões e correções, pude incluir nesse trabalho os estudos cladísticos.

Expresso especial agradecimento aos professores que me orientaram neste trabalho, ao meu orientador, Prof. Ives José Sbalqueiro, por sua instrução, apoio e amizade, e por tantos comentários e discussões tão valiosas em diversos assuntos incluídos nesta dissertação, e à Prof<sup>ª</sup>. Margarida M. C. de Lima, colaboradora, não só pelo carinho, paciência e profunda amizade, mas também pela conceção de dados e amostras.

Finalmente, aos meus amigos e à minha família, por seu encorajamento. Sem o apoio e ajuda de meus pais e irmãos essa dissertação estaria longe de ser concluída.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUÇÃO.....	01
1. ORDEM: PRIMATES.....	01
1. Considerações gerais.....	01
2. Infraordem Platyrrhini.....	02
3. Registros fósseis de Primatas do Novo Mundo.....	12
4. Sistemática de <i>Alouatta</i> .....	16
5. Relações filogenéticas das espécies de <i>Alouatta</i> .....	24
2. ALTERAÇÕES NA ESTRUTURA E NÚMERO DE CROMOSSOMOS.....	27
1. Considerações gerais.....	27
2. Principais alterações na estrutura dos cromossomos.....	28
3. Heterocromatina constitutiva.....	31
3. REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLO.....	33
4. CROMOSSOMOS SUPERNUMERÁRIOS.....	34
5. REARRANJOS CROMOSSÔMICOS E ESPECIAÇÃO EM PRIMATAS.....	36
1. Considerações gerais.....	36
2. Variação cromossômica em Primatas do Novo Mundo.....	45
3. Estudos cromossômicos em <i>Alouatta</i> .....	48
6. OBJETIVOS.....	52
II. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	53
2. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA.....	55
3. MÉTODOS CITOGENÉTICOS.....	58
1. Coleta de Sangue.....	58
2. Cultura de Linfócitos.....	61
3. Preparo das Lâminas.....	62
4. Técnicas de Coloração.....	63
4. ANÁLISE CROMOSSÔMICA.....	65
1. Coloração Convencional.....	65
2. Análise de Bandas.....	65
3. Análise das RONS.....	66
4. Fotomicrografias.....	66
5. Montagem dos Cariogramas.....	67
5. ESTUDOS CLADÍSTICOS.....	67
1. Métodos cladísticos numéricos.....	67
2. Polarização.....	69
3. Análises.....	70

III RESULTADOS.....	74
1. CARACTERIZAÇÃO DO CARIÓTIPO.....	74
1. <i>Alouatta fusca</i> .....	74
2. <i>Alouatta caraya</i> .....	89
3. <i>Alouatta belzebul</i> .....	97
4. <i>Alouatta seniculus</i> .....	103
5. <i>Cebus apella</i> .....	112
2. ESTUDOS CLADÍSTICOS.....	112
IV DISCUSSÃO.....	122
1. O CARIÓTIPO DE <i>Alouatta fusca clamitans</i> .....	122
2. O CARIÓTIPO DE <i>Alouatta caraya</i> .....	129
3. O CARIÓTIPO DE <i>Alouatta belzebul</i> .....	130
4. O CARIÓTIPO DE <i>Alouatta seniculus</i> .....	132
5. O SISTEMA DE DETERMINAÇÃO SEXUAL EM <i>Alouatta</i> .....	136
6 OS CROMOSSOMOS SUPERNUMERÁRIOS EM <i>Alouatta</i> .....	140
7. ESTUDOS CLADÍSTICOS E A EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA EM <i>Alouatta</i> .....	140
V. CONCLUSÕES.....	145
1 <i>Alouatta fusca</i> .....	145
2 <i>Alouatta caraya</i> .....	146
3 <i>Alouatta belzebul</i> .....	147
4 <i>Alouatta seniculus</i> .....	148
5 ESTUDOS CLADÍSTICOS.....	149
VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 01 Arranjo proposto para os gêneros atuais de Primatas, segundo Hershkovitz, 1977.
- Fig. 02 Arranjo cladístico apresentado por ROSENBERGER (1981) para os gêneros atuais de Platyrrhini.
- Fig. 03 Arranjo cladístico proposto por FORD (1986) para os gêneros atuais de Platyrrhini.
- Fig. 04 Arranjo cladístico proposto por KAY (1990) para os gêneros atuais de Platyrrhini.
- Fig. 05 Arranjo cladístico proposto por SCHNEIDER *et al.*(1993) para os gêneros atuais de Platyrrhini.
- Fig. 06 Mapa de distribuição geográfica das espécies do gênero ***Alouatta*** na América Central, segundo HILL (1962) e HIRSCH *et al.* (1991).
- Fig. 07 Mapa de distribuição geográfica das espécies do gênero ***Alouatta*** na América do Sul, segundo HILL (1962) e HIRSCH *et al.* (1991).
- Fig. 08 Aparelho hióide de algumas espécies de ***Alouatta***
- Fig. 09 Exemplos de ***Alouatta fusca clamitans***: a. macho; b. fêmea.
- Fig. 10 Exemplos de ***Alouatta caraya***.
- Fig. 11 Exemplo de ***Alouatta belzebul***
- Fig. 12 Exemplo de ***Alouatta seniculus***.
- Fig. 13 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, macho, 2n=52, em coloração convencional
- Fig. 14 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, macho, 2n=49, em coloração convencional.
- Fig. 15 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, 2n=45 e 46, em coloração convencional.
- Fig. 16 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, macho, 2n=49, em bandamento G.
- Fig. 17 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, 2n=45 e 46, em bandamento G.
- Fig. 18 Rearranjos observados entre os dois citótipos de ***A. fusca***
- Fig. 19 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, macho, 2n=52, em bandamento C.
- Fig. 20 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, macho, 2n=49, em bandamento C.
- Fig. 21 Cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans***, 2n=45 e 46, em bandamento C.
- Fig. 22a Regiões Organizadoras de Nucléolo em ***Alouatta fusca clamitans***, 2n=49.
- Fig. 22b Regiões Organizadoras de Nucléolo em ***Alouatta fusca clamitans***, 2n=45 e 46.
- Fig. 23 Cariótipo de ***Alouatta caraya***, 2n=52, em coloração convencional.
- Fig. 24 Cariótipo de ***Alouatta caraya***, 2n=52, em bandamento G.
- Fig. 25 Inversão pericêntrica no par 8 de ***Alouatta caraya***, fêmea.
- Fig. 26 Cariótipo de ***Alouatta caraya***, 2n=52, em bandamento C.
- Fig. 27 Regiões Organizadoras de Nucléolo no cariótipo de ***Alouatta***

- caraya.**
- Fig. 28 Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*, 2n=49 e 50, em coloração convencional.
- Fig. 29 Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*, 2n=49 e 50, em bandamento G.
- Fig. 30 Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*, 2n=49 e 50, em bandamento C.
- Fig. 31 Regiões Organizadoras de Nucléolo no cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*.
- Fig. 32 Cariótipo de *Alouatta seniculus stramineus* em coloração convencional.
- Fig. 33 Cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*, em bandamento G.
- Fig. 34 Cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*, em bandamento C.
- Fig. 35 Regiões Organizadoras de Nucléolo no cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*.
- Fig. 36 Cariótipo de *Cebus apella*, macho, em bandamento G.
- Fig. 37 Matriz básica de dados, usada no estudo cladístico.
- Fig. 38 .Cladograma representativo das espécies de *Alouatta*
- Fig. 39 Distribuição dos diferentes citótipos de *A. fusca*.
- Fig. 40 Representação esquemática do rearranjo envolvendo o cromossomo Y e um para de autossomos em *Alouatta fusca clamitans*, 2n=49.
- Fig. 41 Distribuição dos diferentes citótipos de *Alouatta seniculus*.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Variação cariotípica em alguns gêneros de Platyrrhini.  
Tabela 2 Variação cariotípica no gênero ***Alouatta***.  
Tabela 3 Caracterização da amostra.  
Tabela 4 Taxa usados nos estudos cladísticos.  
Tabela 5 Caracterização do cariótipo de ***Alouatta fusca clamitans*** da amostra  
Tabela 6 Caracterização do cariótipo de ***Alouatta caraya*** da amostra  
Tabela 7 Caracterização do cariótipo de ***Alouatta belzebul belzebul*** da amostra  
Tabela 8 Caracterização do cariótipo de ***Alouatta seniculus*** da amostra.

## RESUMO

Foram analisadas citogeneticamente amostras de 34 indivíduos pertencentes às quatro espécies do gênero *Alouatta* encontradas no Brasil (*A. caraya*, *A. fusca*, *A. seniculus* e *A. belzebul*), sendo que alguns indivíduos de *A. caraya* eram provenientes da Argentina. Os cromossomos metafásicos foram obtidos através de cultura de sangue total, e submetidos à coloração convencional e técnicas de bandamento.

*Alouatta fusca clamitans* foi o taxon que se mostrou mais polimórfico, com quatro citótipos distintos ( $2n=45$ , 46, 49 e 52). Os números ímpares devem-se a translocações do tipo Y-autossomo, como comprovado pelo padrão de bandamento G. Desta forma, o sistema cromossômico de determinação sexual é do tipo múltiplo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ . Análises comparativas do padrão de bandamento G associadas ao estudo cladístico e à distribuição geográfica de cada citótipo sugerem que as populações com  $2n=45/46$  e  $2n=49$  estejam isoladas reprodutivamente entre si, devido às implicações meióticas decorrentes das diferenças cromossômicas observadas. Os segmentos de heterocromatina constitutiva concentraram-se na região pericentromérica em todos os cromossomos. Além destes, observou-se a presença de segmentos teloméricos e intercalares. As RONS localizaram-se em dois pares de pequenos acrocêntricos.

O cariótipo mais constante foi observado em *A. caraya*, no qual todos os indivíduos apresentaram  $2n=52$ . O sistema de determinação sexual observado foi do tipo XY/XX. Apenas duas inversões pericêntricas foram observadas, envolvendo o cromossomo 8 de uma fêmea e o Y de um macho,

ambos provenientes de Santa Catarina. Os segmentos heterocromáticos localizaram-se na região pericentromérica de todos os cromossomos, enquanto dois pequenos acrocêntricos apresentaram-se marcados no bandamento RON.

A variação no número diplóide de *A. belzebul belzebul* deve-se a uma translocação do tipo Y-autossomo, modificando o  $2n$  dos machos de 50 para 49. Assim, o sistema cromossômico de determinação sexual é do tipo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ . Além dos segmentos heterocromáticos pericentroméricos observados em todos os cromossomos, um par de submetacêntricos e dois pares de acrocêntricos apresentaram blocos teloméricos e intercalares, respectivamente. As RONS localizaram-se no braço curto de um par de submetacêntricos e no braço longo de um par de acrocêntricos.

As duas subespécies analisadas de *A. seniculus* (*A. s. macconelli* e *A. s. stramineus*) apresentam cariótipos semelhantes, com  $2n=46$  a 49, variação devida à presença de zero a três cromossomos supernumerários. Através do bandamento G, constatou-se a ocorrência de uma translocação do tipo Y-autossomo, a qual modificou o sistema cromossômico de determinação sexual para o tipo múltiplo,  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ . Dois pares de cromossomos não apresentaram blocos heterocromáticos, enquanto o restante apresentou blocos pericentroméricos, inclusive os supernumerários. As RONS localizaram-se no braço curto de um par de submetacêntricos, como duas fortes marcações em cada braço.

A análise cladística, baseada no padrão de bandamento G dos braços cromossômicos, e envolvendo *A. palliata* e *A. belzebul nigerrima* além

das espécies do presente estudo, divide o gênero em cinco grupos distintos: Grupo SENICULUS (*A. seniculus* e *A. belzebul nigerrima*), Grupo FUSCA (*A. fusca*), Grupo CARAYA (*A. caraya*), Grupo BELZEBUL (*A. belzebul belzebul*) e Grupo PALLIATA (*A. palliata*). De acordo com o cladograma obtido, *A. palliata* apresenta o cariótipo menos derivado, enquanto *A. fusca* com  $2n=45$  e *A. seniculus* apresentam os cariótipos mais derivados.

## ABSTRACT

A sample of thirty-four specimens belonging to four different species of *Alouatta* found in Brazil (*A. caraya*, *A. fusca*, *A. belzebul* and *A. seniculus*) was analyzed cytogenetically. Some specimens of *A. caraya* were from Argentina. Metaphasic chromosomes were obtained through whole blood cultures, and analyzed with conventional staining and banding techniques.

The most polymorphic taxon was *A. fusca clamitans*, with four different cytotypes ( $2n=45$ , 46, 49 and 52). The odd numbers were results of a Y-autosome translocation, as confirmed by the G-band patterns. Hence, the chromosomal sex-determination system is multiple,  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ . The comparative analysis using G-band patterns, with the results of the cladistic studies and the geographic distribution of each cytotype suggests that the populations with  $2n=45/46$  and  $2n=49$  are reproductively isolated due to meiotic implications resulted from the observed chromosomal differences. Heterochromatic segments were found in the pericentromeric region of all the chromosomes. Moreover, telomeric and intercalary segments were also identified. NORs were found in two pairs of small acrocentric chromosomes.

The most constant karyotype was found in *A. caraya*, with  $2n=52$ . The chromosomal sex-determination mechanism was simple, XY/XX. Only two pericentric inversions were observed, one in a female and the other in the Y chromosome of the male, both animals from Santa Catarina State. The heterochromatic segments were distributed in the pericentric region of all the chromosomes, while two small acrocentric pairs possessed NORs.

The variation in the diploid number of *A. belzebul belzebul* was due to a Y-autosome translocation, which resulted in  $2n=49$  in the males. Hence, the chromosomal sex determining system was multiple, similar to the one found in *A. fusca*. All chromosomes had pericentric heterochromatic segments, while a submetacentric pair and two acrocentric pairs showed telomeric and intercalary blocks, respectively. NORs were observed in the short arm of a submetacentric pair and in the long arm of an acrocentric one.

The two subspecies of *A. seniculus* analyzed (*A. s. macconelli* and *A. s. stramineus*) showed similar karyotypes, with  $2n=46$  to  $49$ , due to the presence of zero to three supernumerary chromosomes. Through G-band patterns, a Y-autosome translocation was identified, with a multiple chromosomal sex determining system,  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ . Four chromosomes did not possess heterochromatic segments, while the rest, including the supernumerary ones, showed pericentromeric heterochromatic blocks. Two NORs were found in each short arm of a submetacentric pair.

The cladistic analysis, based in the G-band pattern of the chromosomal arms, and involving *A. palliata* and *A. belzebul nigerrima* in addition to the species of this study, divided *Alouatta* in four different groups: Group SENICULUS (*A. seniculus* and *A. belzebul nigerrima*), Group FUSCA (*A. fusca*), Group CARAYA (*A. caraya*), Group BELZEBUL (*A. belzebul belzebul*) and Group PALLIATA (*A. palliata*). According to the obtained cladogram, *A. palliata* has the less derived karyotype, while *A. fusca* with  $2n=45$  and  $46$  and *A. seniculus* have the most derived ones.

# I. INTRODUÇÃO

## 1. ORDEM PRIMATES (LINNAEUS, 1758)

### 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A ordem Primates agrupa muitas formas diferentes que vivem em uma grande variedade de habitats da Ásia, África, Madagascar, América Central e América do Sul. Restos fósseis de primatas já foram encontrados na Europa e América do Norte, assim como em áreas habitadas por formas atuais. Apenas certas ilhas do Pacífico e Oceania não mostram nenhuma evidência da ocupação de primatas antes da chegada do *Homo sapiens*.

Desde a definição da ordem Primates, muitas propostas taxonômicas foram feitas na tentativa de organizar os diferentes gêneros, baseadas principalmente em caracteres morfológicos. BUFFON (1767, cf. FORD, 1986) foi o primeiro a dividi-los em Primatas do Novo Mundo e Primatas do Velho Mundo, designados posteriormente por Platyrrhini e Catarrhini, respectivamente. Mais tarde, POCOCK (1925, cf. FORD, 1986) dividiu essa ordem nas subordens Strepsirrhini (Lemuroidea, Daubentoidea, Lorisioidea e Adapoidea, sendo esta última já extinta) e Haplorrhini (Tarsiiformes, Platyrrhini e Catarrhini). SIMPSON (1945) modificou a proposta de POCOCK (1925, cf. FORD, 1986), dividindo os Primatas em Strepsirrhini ou Prosimii (Lemuridae, Galagidae, Lorisidae, Indriidae e Daubentonidae), e Haplorrhini ou Anthropoidea, que compreende quatro subdivisões: Tarsioidea, Ceboidea ou Platyrrhini, Cercopithecoidea ou Catarrhini e Hominoidea. Os representantes da subordem Prosimii e das subdivisões Catarrhini e Hominoidea distribuem-se pela África,

Madagascar e Ásia (à exceção de *Homo sapiens*), enquanto os Platyrrhini ocorrem na América do Sul e América Central.

Uma das propostas mais utilizadas atualmente é a proposta por HERSHKOVITZ (1977), no qual Catarrhini e Platyrrhini são consideradas infra-ordens, e as espécies anteriormente incluídas em Hominoidea por Simpson são agrupadas dentro de Catarrhini, que passa a apresentar quatro famílias distintas: Cercopithecidae, Hominidae, Pongidae e Hlorbatidae (fig. 1).

## 1.2. INFRA-ORDEM PLATYRRHINI

As primeiras classificações para os primatas do Novo Mundo foram baseadas em um número restrito de caracteres externos, de fácil visualização. Em 1767, BUFFON (cf. FORD, 1986), ao distinguir os macacos do Novo Mundo e os do Velho Mundo, dividiu os primeiros em dois grupos: animais com unhas e cauda preênsil e aqueles com garras e cauda não preênsil.

Essa classificação foi modificada em 1812 por SAINT HILAIRE (cf. FORD, 1986), que dividiu os platirrininos em três grupos principais: Arctopithecini, caracterizado pela presença de garras e de dois dentes molares (*Callithrix*, *Saguinus* e *Leontopithecus*), Heliopithecini, constituído pelas espécies maiores e de cauda preênsil (*Cebus*, *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles*, *Lagothrix*) e Geopithecini, caracterizado pela retenção de três molares e cauda não preênsil (*Saimiri*, *Callicebus*, *Aotus*, *Pithecia*, *Chiropotes* e *Cacajao*).

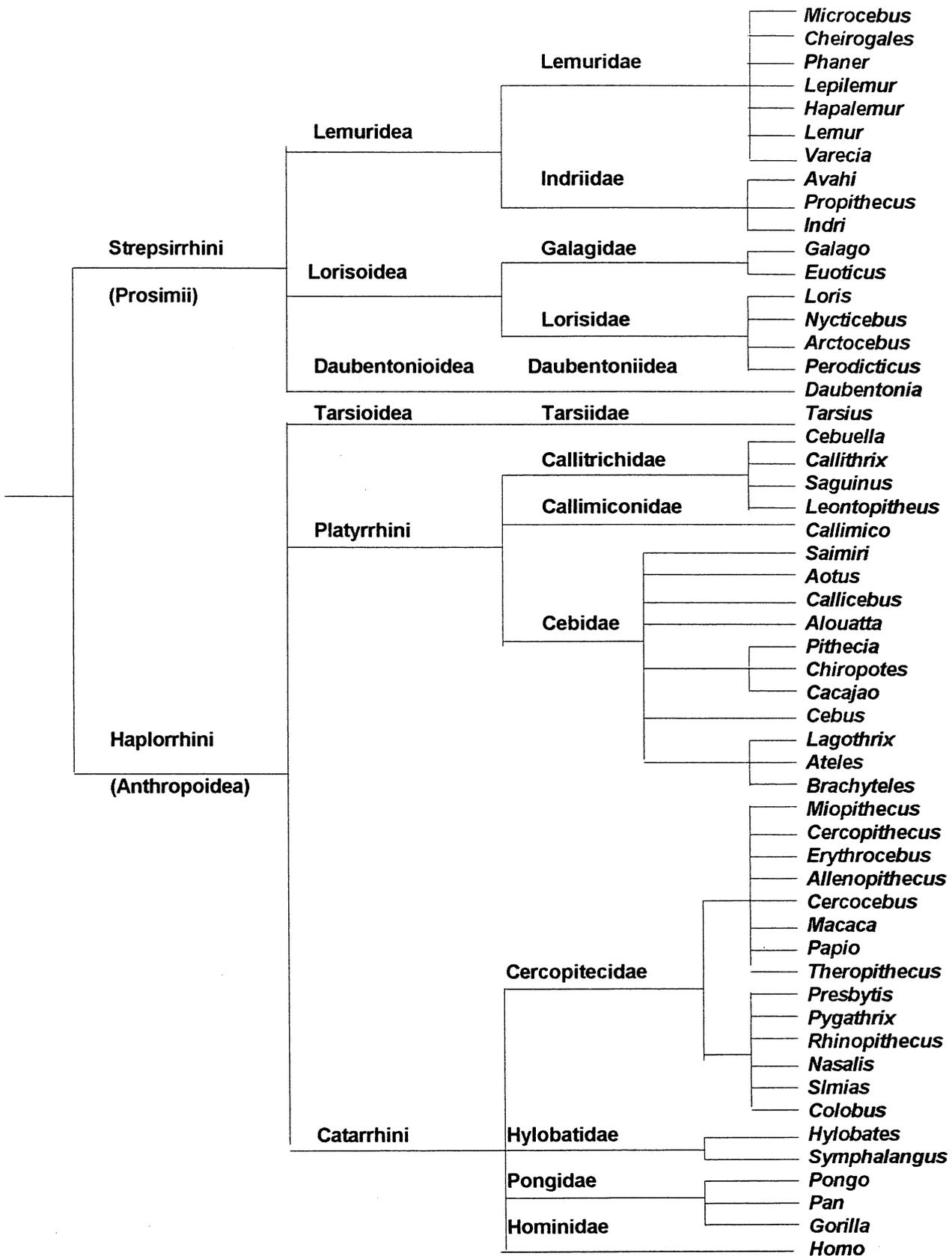


Fig. 1 - Cladograma para os gêneros atuais de Primates (HERSHKOVITZ, 1977).

Em 1821, GRAY (cf ROSENBERGER, 1981) reduziu a classificação dos platirrinos, considerando apenas duas subdivisões principais e ressaltando maior distinção entre as formas com garras e aquelas com unhas. Essa dicotomia proposta por GRAY é essencialmente a mesma considerada pela maioria das classificações atuais, nas quais as duas famílias são denominadas Callitrichidae (ou Hapalidae) e Cebidae (SIMPSON, 1945; HILL, 1962; NAPIER & NAPIER, 1967; SIMONS, 1972).

Os Callitrichidae incluem primatas de pequeno porte, com os molares com tricúspides, terceiro molar ausente, presença de garras em todos os dedos com exceção do polegar, e partos muitas vezes gemelares (HERSHKOVITZ, 1977), enquanto a família Cebidae agrupa animais de aparência mais simiesca, unhas achatadas ou curvas, cauda longa (exceto **Cacajao**), três dentes molares com tetracúspides quadrangulares e dando à luz um filho por parto (HILL, 1962).

A descoberta de um novo gênero, denominado **Callimico**, teve um grande impacto na classificação e interpretação da história evolutiva dos Platyrrhini. **Callimico** combina, em uma só espécie, as características morfológicas e funcionais tradicionalmente usadas para distinguir os Cebidae e Callitrichidae: presença de garras ao invés de unhas, três dentes molares e partos gemelares. Em função disso, alguns autores propõem uma terceira família (Callimiconidae) para abrigar este gênero (DOLMAN, 1933; HERSHKOVITZ, 1977).

As filogenias mais recentes dos primatas do Novo Mundo, baseados em dados de distância imunológica (CRONIN & SARICH, 1975; BABA *et al.*, 1979), de morfologia (ROSENBERGER, 1981; KAY, 1990), de cariótipo (DE BOER, 1974; DUTRILLAUX, 1988a), de síntese abrangendo as informações disponíveis (FORD, 1986) e de abordagem molecular (SCHNEIDER *et al.*, 1993), propõem a ocorrência de

cinco a sete grupos, e apresentam ainda muitas discordâncias sobre as afinidades filogenéticas entre as linhagens e resolução de alguns clados (SAMPAIO, 1993).

Dados de distância imunológica de albumina e transferrina de 14 gêneros de platirrinos, obtidos por CRONIN & SARICH (1975) sugerem que após a divergência Platyrrhini-Catarrhini, em torno de 35 milhões de anos atrás, seguiu-se uma única radiação primária, e posteriormente três radiações secundárias que levaram às formas modernas, distribuídas em sete linhagens: (i) ***Callicebus***; (ii) ***Ateles***, ***Lagothrix*** e ***Alouatta***; (iii) ***Cebus***; (iv) ***Pithecia*** e ***Cacajao***; (v) ***Saimiri***; (vi) ***Leontopithecus***, ***Callimico***, ***Cebuella***, ***Callithrix*** e ***Saguinus***; (vii) ***Aotus***.

Por outro lado, os dados obtidos por imunodifusão (BABA *et al.*, 1979) em 31 gêneros de primatas, dez dos quais platirrinos, dividem os platirrinos em pelo menos quatro grupos diferentes: (i) ***Cebus***, ***Saimiri***; (ii) ***Chiropotes***, ***Cacajao***; (iii) ***Ateles***, ***Alouatta*** e ***Lagothrix***; (iv) ***Aotus***, ***Callimico*** e ***Saguinus***.

Já a classificação taxonômica proposta por ROSENBERGER (1981), baseando-se na análise de caracteres dentais, cranianos e medidas corporais, arranja os 16 gêneros em duas famílias (fig. 2) - Cebidae, com sete gêneros, e Atelidae, com nove. A família Cebidae encontra-se dividida por esse autor em duas subfamílias distintas - Callitrichinae, com os gêneros ***Saguinus***, ***Leontopithecus***, ***Cebuella***, ***Callithrix*** e ***Callimico***, e Cebinae, com ***Cebus*** e ***Saimiri***. Na família Atelidae são incluídos os demais gêneros, divididos nas subfamílias Atelinae (***Ateles***, ***Brachyteles***, ***Lagothrix*** e ***Alouatta***) e Pitheciinae (***Pithecia***, ***Chiropotes***, ***Cacajao***, ***Callicebus*** e ***Aotus***).

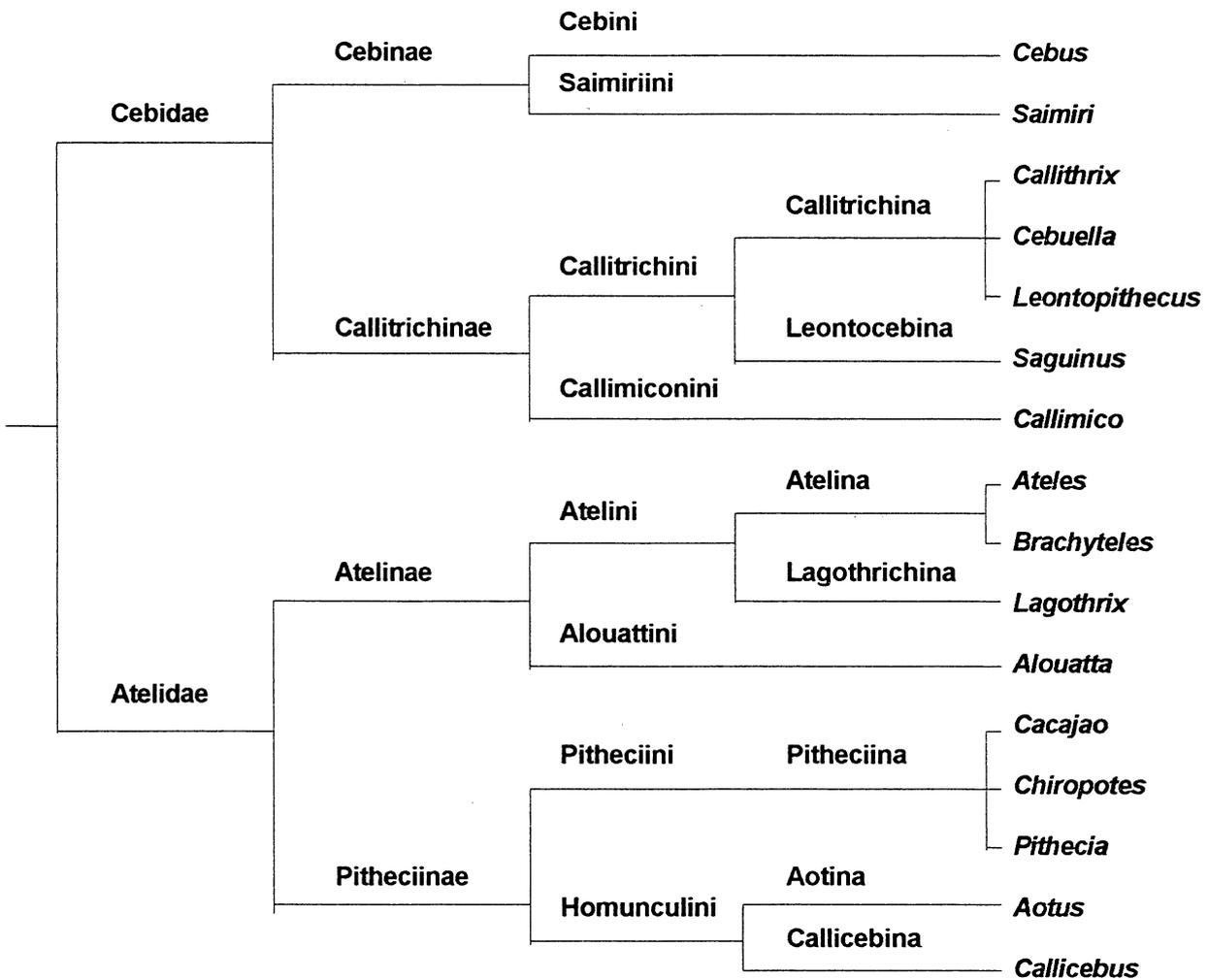


Fig. 2 - Cladograma proposto por ROSENBERGER (1981) para os gêneros atuais de Platyrrhini.

FORD (1986), fundamentando-se na análise de uma variedade de caracteres, como medidas morfológicas, polimorfismos bioquímicos e imunológicos e dados cromossômicos, entre outros, inclui uma terceira família em relação à proposta de ROSENBERGER (1981), considerando Callitrichidae como uma família plena e mais próxima filogeneticamente de Atelidae (fig. 3). Além disso, coloca **Aotus** e **Callicebus** dentro de Cebidae.

O arranjo proposto por KAY (1990), baseado na análise de 117 caracteres dentais e em uma nova análise de alguns caracteres já analisados por ROSENBERGER (1981) e FORD (1986) em suas respectivas propostas taxonômicas, difere bastante das propostas anteriores, incluindo **Saimiri** em Callitrichinae, e considerando estes, ao invés dos Pithecinae, como grupo-irmão dos Atelinae (fig. 4).

A proposta de SCHNEIDER *et al.*(1993) e SAMPAIO (1993) (fig. 5) baseada em dados moleculares dos 16 gêneros de Platyrrhini, assemelha-se ao arranjo apresentado por ROSENBERGER (1981) e FORD (1986), diferindo quanto à inclusão de **Cacajao**, **Chiropotes**, **Callicebus** e **Pithecia** em uma família à parte (Pithecidae), inclusão do gênero **Aotus** na família Cebidae e de **Callicebus** na subfamília Callicebinae, dentro de Pithecidae.

Poucos são os estudos cromossômicos que têm sido feitos na tentativa de esclarecer as relações filogenéticas dos platirrininos. DE BOER (1974), analisando a morfologia e número cromossômico em doze gêneros de primatas do Novo Mundo, sugeriu uma evolução cariotípica a partir de um número diplóide ancestral  $2n=62$ , através de fusões.

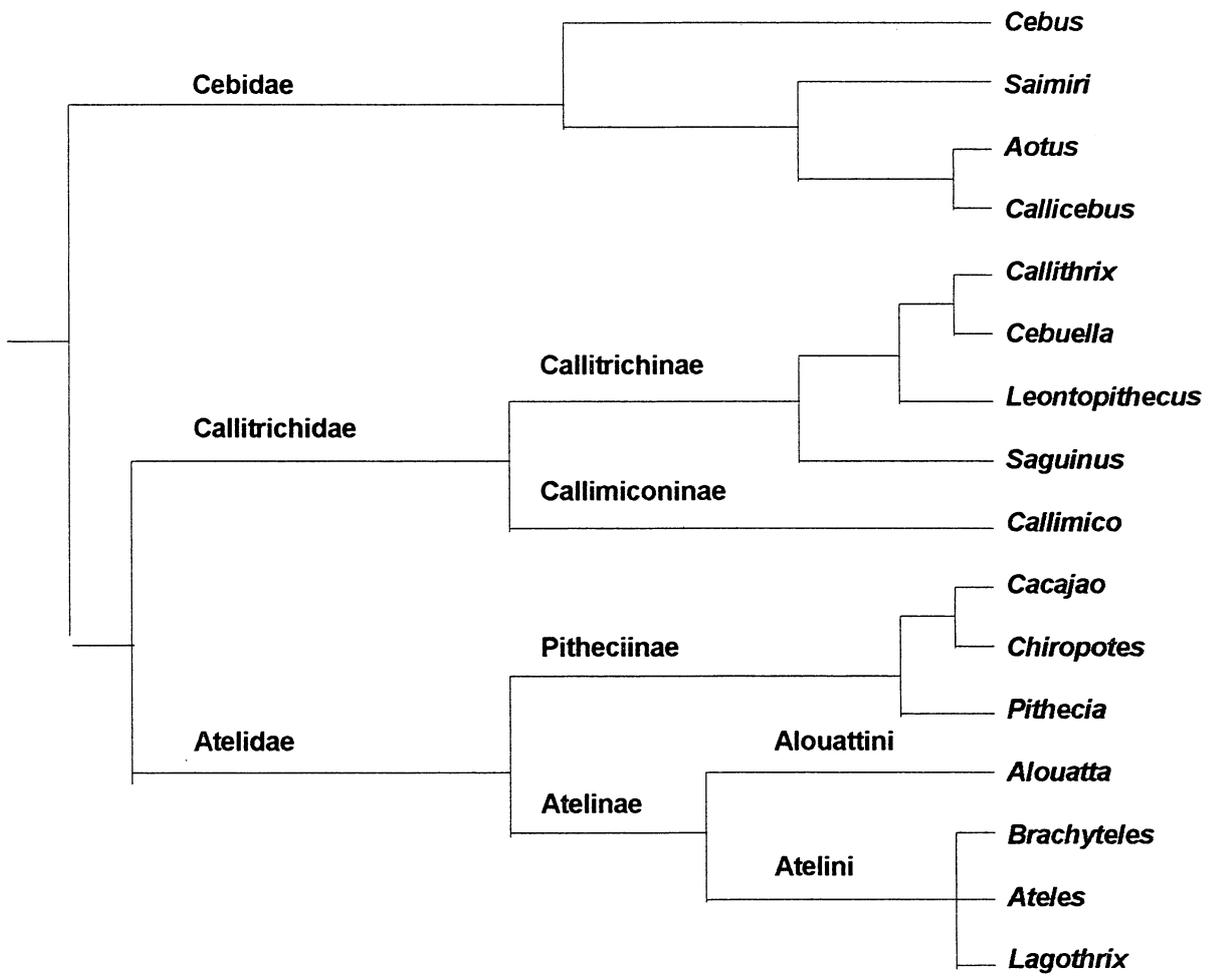


Fig. 3 - Cladograma apresentado por FORD (1986) para os gêneros atuais de Platyrrhini.

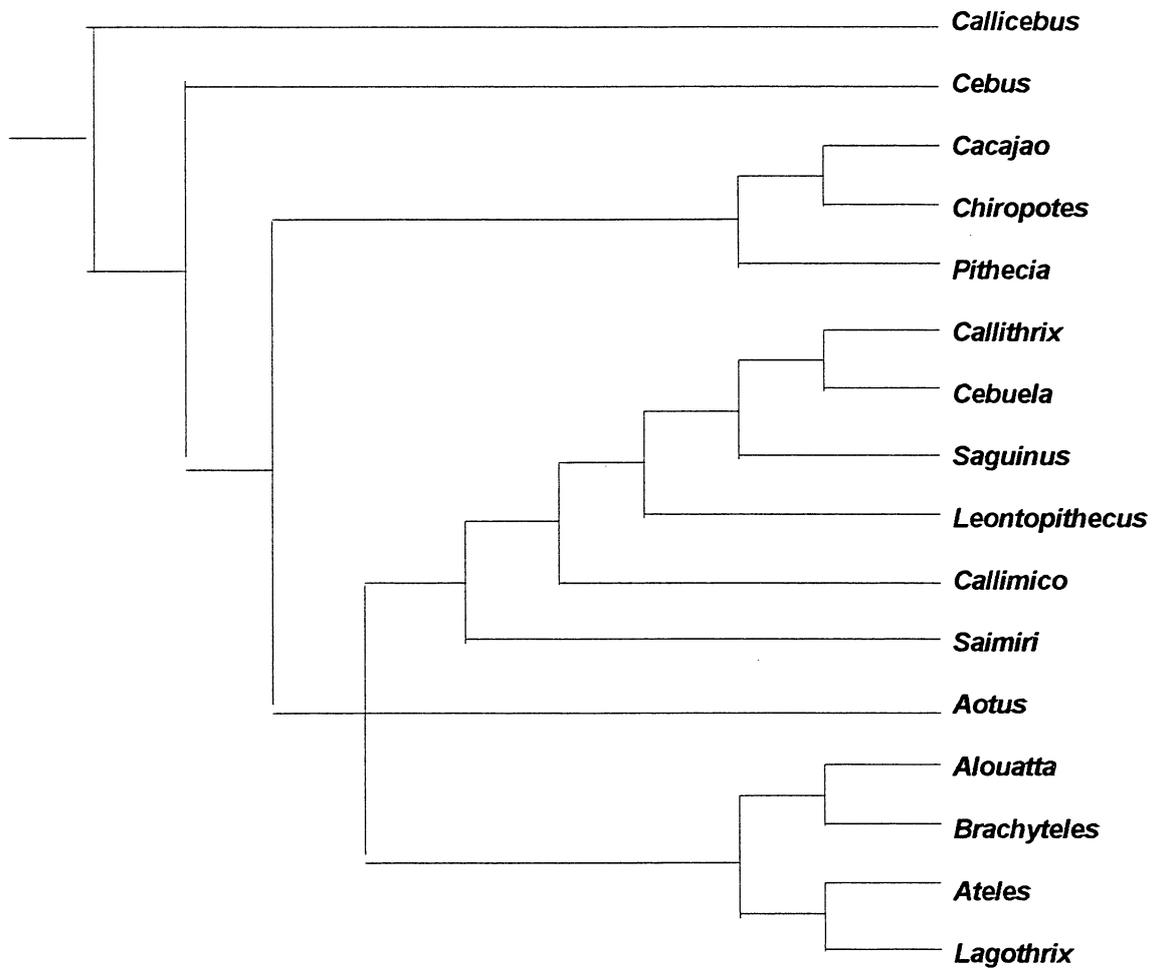


Fig. 4 - Cladograma para os gêneros atuais de Platyrrhini apresentado por KAY (1990) A classificação a nível de famílias, subfamílias, tribos, etc. não é sugerida pelo autor.

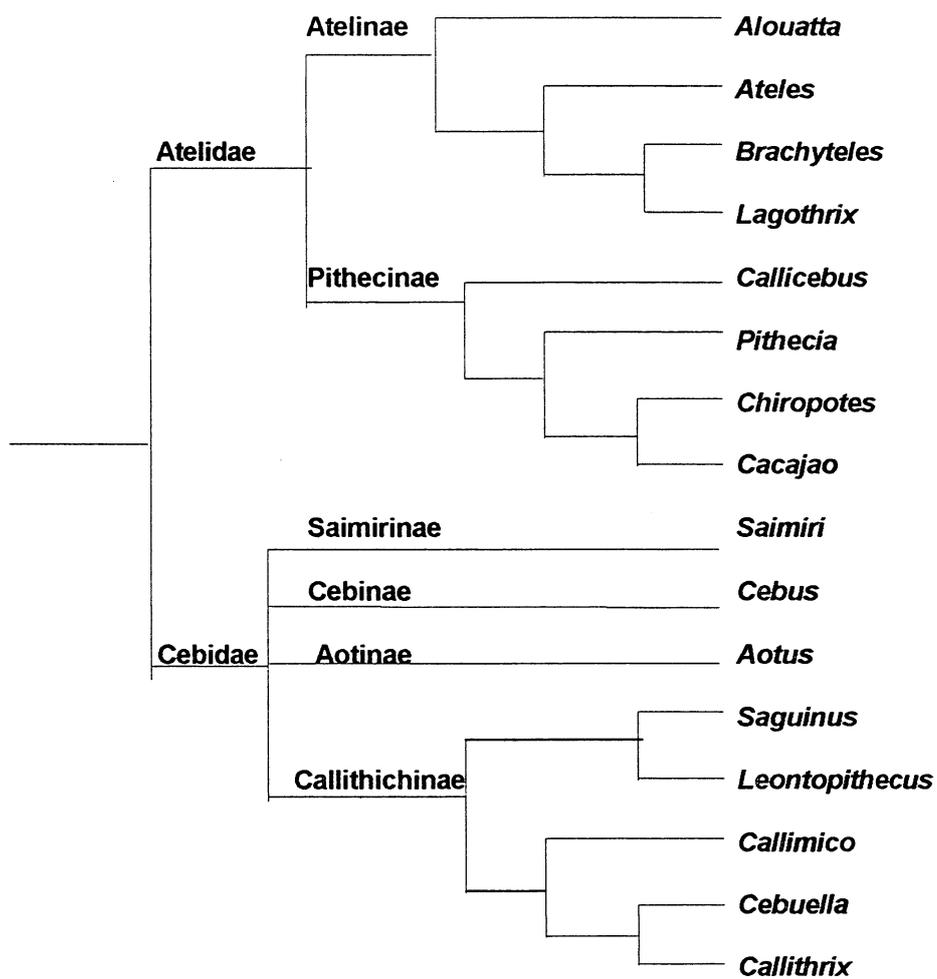


Fig. 5 - Cladograma proposto por SCHNEIDER *et al.* (1993) para os gêneros atuais de Platyrrhini, baseando-se em dados moleculares.

Em Callitrichidae, pelo menos duas reduções do número diplóide, através de fusões, teriam originado duas linhagens independentes, uma com  $2n=44$  a 46 (*Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callithrix* e *Cebuella*) e outra com  $2n=48$  (*Callimico*).

Na tentativa de explicar a grande variação no número diplóide de Cebidae ( $2n=20$  a 62), DE BOER sugere uma série de eventos de redução em dois ramos principais, uma originando *Aotus* ( $2n=46$  a 58), *Pithecia* ( $2n=46$ ), *Cacajao* ( $2n=45/46$ ), *Chiropotes* ( $2n=54$ ) e *Callicebus* ( $2n=20$  a 50), e o outro ancestral dos Atelinae ( $2n=32$  a 62) e *Alouatta* ( $2n=43$  a 54) e *Cebus* ( $2n=52$  a 54).

DUTRILLAUX (1988a) analisou comparativamente os cariótipos bandeados de mais de 30 gêneros de primatas, propondo relações evolutivas. Para isso, baseou-se na ocorrência de seqüência de rearranjos cromossômicos, a partir de um cariótipo ancestral com  $2n=56$ . De acordo com o autor, Platyrrhini e Catarrhini derivam do mesmo grupo de Prosimii, que provavelmente apresentava um cariótipo similar ao de *Microcebus murinus*. Ainda segundo esse autor, os Platyrrhini apresentam alguns cariótipos relativamente mais primitivos que Catarrhini, sendo que o cariótipo de Platyrrhini que mais se assemelha ao do último ancestral comum entre as duas subdivisões seria o de *Cebus capuccinus*, se não considerarmos os blocos heterocromáticos nele observados. Desta forma, os 11 gêneros de primatas do Novo Mundo incluídos teriam surgido a partir de quatro linhagens originadas independentemente do ancestral platirrino. Três delas seriam representadas atualmente por *Aotus*, *Cebus* e *Callitrichidae*, e a quarta linhagem teria originado os Atelidae, Pitheciidae e *Saimiri* em uma radiação posterior.

Mesmo com a grande controvérsia acerca da classificação das diferentes linhagens de primatas do Novo Mundo, alguns pontos em comum podem ser notados nas classificações apresentadas. Um dos aspectos mais importantes é o monofiletismo de *Ateles*, *Brachyteles*, *Lagothrix* e *Alouatta* (família Atelidae). Além disso, Pitheciini (*Cacajao*, *Chiropotes* e *Pithecia*) é considerado monofilético e grupo-irmão de Atelinae (exceto KAY, 1990). Já a família Callimiconidae não é considerada em nenhuma das propostas atuais, sendo o gênero *Callimico* agrupado dentro da subfamília Callitrichinae.

### 1.3. REGISTROS FÓSSEIS DE PRIMATAS DO NOVO MUNDO

Dado que os primatas constituem um grupo animal ligado fundamentalmente à selva tropical, e sendo esta um meio pouco favorável para a fossilização, a documentação paleontológica útil aos estudos de suas origens encontra-se fragmentada. Somente no continente norte-americano tem-se uma informação satisfatória, havendo grandes vazios em outros continentes (HOFFSTETTER, 1977). Além disso, o estudo da origem e filogenia dos Platyrrhini tem sido dificultado não só pela falta de registros fósseis adequados, mas também pela ausência de análises filogenéticas apropriadas das espécies atuais (ORLOSKY & SWINDLER, 1975).

Segundo SIMPSON (1945) e STIRTON (1951, cf. HERSHKOVITZ, 1977), os platirrininos teriam surgido de uma das linhas de prossímios primitivos do Paleoceno ou Eoceno da América do Norte, tendo o seu desenvolvimento ocorrido nas regiões mais tropicais da América do Sul, onde fósseis terciários são extremamente raros. O ancestral prossímio teria surgido há cerca de 30 ou 40 milhões de anos, e as

características anatômicas semelhantes encontradas entre Platyrrhini e Catarrhini foram atribuídas ao paralelismo evolutivo (ORLOSKY & SWINDLER, 1975). HERSHKOVITZ (1977) critica esta hipótese, afirmando que os fósseis de prossímios encontrados na América do Norte já se encontravam altamente especializados, diferenciando-se das características que poderiam dar origem aos símios.

A teorias sobre o deslocamento dos continentes (DIETZ & HOLDEN, 1970) possibilitaram a proposta de outras rotas de origem para os platirrininos. Segundo HERSHKOVITZ (1972), grupos de prossímios ou pré-símios que viviam na massa continental formada pelos continentes sul-americano e africano em vias de separação durante o Cretáceo, espalharam-se por ambos os continentes. Depois do processo de isolamento, as facções sul-americana e africana originaram, respectivamente, platirrininos e catarrininos. Uma variante dessa hipótese (HERSHKOVITZ, 1972) afirma que a linhagem originária desses dois grupos já se encontrava distintamente diferenciada em símios quando os continentes iniciaram a separação.

Uma teoria proposta quase simultaneamente por HOFFSTETTER (1972), difere da anterior principalmente quanto ao mecanismo de dispersão e datação dos eventos. Segundo o autor, a América do Sul já se encontrava a bastante tempo separada da África quando as primeiras linhagens de primatas a alcançaram, provavelmente no Eoceno médio ou no superior.

Pesquisas em imunologia comparada dos primatas (CRONIN & SARICH, 1975) indicam que os macacos do Novo Mundo tiveram um longo período de ancestralidade comum com os Catarrhini, subsequente às divergências de outras linhagens de primatas. A divergência Platyrrhini-Catarrhini é calculada em cerca de 35 milhões de anos, reforçando a hipótese de origem africana dos macacos do Novo

Mundo. Registros fósseis mostram que, no Oligoceno da África, há vários gêneros de antropóides; pelo menos um deles (*Parapithecus*) tem uma fórmula dentária semelhante à encontrada nos modernos platirrinos. Porém nenhum fóssil norte-americano foi classificado como antropóide (CRONIN & SARICH, 1975).

Evidências fósseis mostram também que as fases posteriores da evolução de Platyrrhini ocorreram na América do Sul e que a diferenciação de no mínimo três das cinco subfamílias atuais (Alouattinae, Pitheciinae, Cebinae) ocorreu no final do Mioceno (ORLOSKY & SWINDLER, 1975).

Segundo FLEAGE (1988), os fósseis de platirrinos podem ser divididos em quatro grupos, de acordo com a idade e origem: ( i ) os mais primitivos do Oligoceno Superior, encontrados na Bolívia; ( ii ) vários gêneros do Mioceno Inferior e Médio, do sul da Argentina; ( iii ) fósseis do Mioceno Médio, da Colômbia; e ( iv ) gêneros do Pleistoceno ou mais recentes, encontrados no Caribe.

O fóssil mais antigo de primata sul-americano, *Branisella*, é oriundo dos sedimentos do Oligoceno Inferior da localidade de Salla, nos Andes Bolivianos. Vários fragmentos ósseos contendo dentições parciais têm sido recuperados desse sítio arqueológico, e vários autores reconhecem *Branisella* como a forma platirrina mais primitiva encontrada até o presente (SZALEY & DELSON, 1979; ROSENBERGER, 1981; FORD, 1986).

HERSHKOVITZ (1983) descarta a possibilidade de *Branisella* ser um representante dos platirrinos ou mesmo ancestral destes, ressaltando alguns caracteres dentários que sugerem afinidades com outro grupo de primatas extinto, os omomídeos. Entretanto, devido à localização geográfica do fóssil e semelhança geral de seus caracteres com *Cebus* e *Saimiri*, SZALEY & DELSON (1979) consideram-no

representante da subfamília Branisellinae, estreitamente relacionada aos Cebidae.

Embora considerem *Branisella* um platirrino, DELSON & ROSENBERGER (1984) sugerem que essa forma fóssil represente uma linhagem à parte daquela ancestral dos macacos do Novo Mundo, porém, mais tarde, aceitam a sugestão de SZALEY & DELSON (1979) para esse fóssil em ROSENBERGER *et al.*, (1991) e ROSENBERGER (1992). Na opinião de FORD (1986), essa forma fóssil parece ser muito especializada para ser representante da linhagem ancestral de todos os platirrinos.

Recentemente, ROSENBERGER *et al.* (1991) descreveram outra forma fóssil, *Szalatavus attricuspis*, proveniente dos depósitos de Salla, a partir principalmente da reavaliação do material anterior descrito por WOLF (1984) como *Branisella*, reconhecendo entretanto que poderia representar outra forma distinta. Os autores ressaltam que a combinação de caracteres que distinguem essa nova forma dos espécimes atribuídos a *Branisella boliviana* garante a existência há pelo menos 26 milhões de anos de no mínimo dois gêneros diferentes de primatas do Novo Mundo.

De acordo com ROSENBERGER (1992), somente dois gêneros, *Stirtonia* e *Paralouatta*, têm sido relacionados aos atuais *Alouatta*. Dentes de duas espécies de *Stirtonia*, *S. tatacoensis* e *S. victoriae*, foram encontrados em La Venta, Colômbia, em sedimentos do Mioceno Médio.

O gênero *Stirtonia* parece não apresentar uma única característica bem definida que possa claramente diferenciá-la a nível de subfamília das espécies atuais de *Alouatta* (SZALEY & DELSON, 1979). De fato, HERSHKOVITZ (1983), em sua descrição de *Stirtonia*, não pôde citar nenhuma característica que pudesse separar significativamente esse gênero do Mioceno de seus indubitáveis parentes

atuais, os bugios, com os quais dividem muitas características em comum, como a mandíbula em forma de V e a orientação das fileiras de dentes.

Segundo SZALEY & DELSON (1979), considerar *Stirtonia* como pertencente a uma subfamília diferente de *Alouatta* iria não só piorar a sistemática atual dos Platyrrhini, com o aumento excessivo de taxa, mas também obscurecer os claros laços filogenéticos e patrísticos entre esses primatas do Mioceno e os representantes atuais do gênero *Alouatta*.

Para ROSENBERGER (1992), as espécies pertencentes ao gênero *Stirtonia* são morfologicamente e funcionalmente similares a *Alouatta*, sendo questionada a colocação desses exemplares em um gênero diferente. Já a outra forma, *Paralouatta varonai*, encontrada em sedimentos do Pleistoceno, em Cuba, também é relacionada a *Alouatta*, mas não com o mesmo grau de similaridade observado em *Stirtonia*. De acordo com ROSENBERGER (1992), *Paralouatta* pode ser uma forma recentemente extinta, descendente de um grupo proto-alouatíneo.

#### 1.4. SISTEMÁTICA DE *Alouatta*

O gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 possui a maior distribuição geográfica dentre todos os gêneros de primatas neotropicais (HILL, 1962; NAPIER & NAPIER, 1967). As espécies desse gênero distribuem-se na América do Sul e América Central (JAMES & HORWICH, 1993). No Brasil, as espécies desse gênero são conhecidas vulgarmente como guaribas, barbados ou bugios, estando entre os maiores primatas platirrinos, chegando a 91 cm de comprimento cabeça-corpo, e a cauda preênsil varia de 58 a 92 cm. O peso dos machos adultos varia de 6,5 a 8,6 Kg (REDFORD & EISENBERG, 1981). Apresentam dimorfismo sexual, com os machos

sempre maiores que as fêmeas. Em *Alouatta caraya* e na subespécie *Alouatta fusca clamitans*, há também um dimorfismo sexual na cor da pelagem, sendo que os machos mudam de cor na puberdade. Na primeira, o macho apresenta-se com coloração negra, e a fêmea, com tons bege-acinzentados, enquanto em *A. fusca clamitans* o macho é castanho-avermelhado e a fêmea castanho-escura.

Uma importante peculiaridade desse gênero é a presença do osso hióide bastante aumentado em ambos os sexos, que atua como ressonador e amplificador quando esses animais emitem suas longas e características chamadas. O hióide é maior no macho, e seu tamanho varia de acordo com a espécie. Os bugios são vegetarianos, alimentando-se de frutas e folhas. Apresentam hábitos diurnos, com pouca atividade noturna (NEVILLE, 1972). Vivem em grupos de tamanhos variáveis, de 5 a 20 indivíduos, de acordo com a espécie. A maioria dos grupos apresenta-se formada por um ou poucos machos adultos e várias fêmeas e imaturos (filhotes e sub-adultos). Entretanto, nos grupos com mais de um macho adulto, nem todos os machos têm igual acesso a fêmeas receptivas (SMUTS et al., 1986), parecendo que apenas um macho dominante copula com mais de 90% das fêmeas (CLARKE, 1983; SEKULIK, 1983). Apresentam um complexo comportamento social, que tem sido bastante estudado, principalmente em *Alouatta palliata*.

A estreita similaridade entre *Alouatta* e os gêneros *Ateles*, *Brachyteles* e *Lagothrix* tem sido sugerida pela maioria dos autores baseados em caracteres morfológicos, mas o relacionamento entre esses grupos, em termos de categoria taxonômica, tem sido motivo de ampla discussão (SAMPAIO, 1993). A maioria dos autores clássicos defende que *Alouatta* deve pertencer a uma subfamília própria (Alouattinae), argumentando que este gênero apresenta algumas

características bastante peculiares, tais como alargamento do osso hióide, baixo nível de organização cerebral e especializações cranianas, dentais, alimentares e de organização social (SIMPSON, 1945; CABRERA, 1958; HILL, 1962; NAPIER & NAPIER, 1967; ZINGESER, 1968; SIMONS, 1972; HERSHKOVITZ, 1977). Outros autores porém identificam muitas similaridades entre *Alouatta*, *Brachyteles*, *Ateles* e *Lagothrix*, propondo o agrupamento dos quatro na mesma subfamília (CRONIN & SARICH, 1975; FALK, 1979; BABA *et al.*, 1979; ROSENBERGER, 1981; FORD, 1986).

O número de espécies do gênero *Alouatta* é bastante contraditório, sendo igual a cinco para HERSHKOVITZ (1949); CABRERA, (1958); e NAPIER & NAPIER (1967) e seis para HILL (1962); SMITH (1972); EISENBERG (1989), e JAMES & HORWICH (1993). Essa polêmica deve-se às espécies *A. pigra* e *A. palliata*, consideradas ora espécies distintas por alguns autores, ora pertencentes à mesma espécie por outros. Segundo JAMES & HORWICH (1993), estudos de seqüenciamento de DNA mitocondrial apoiam a proposta de SMITH (1972), de que *A. pigra* seja uma espécie distinta de *A. palliata*, apesar da estreita relação entre estes dois grupos.

Além disso, há também uma grande controvérsia na nomenclatura da sexta espécie proposta por SMITH (1972). Segundo NAPIER (1976), baseada em estudos de registros em museus, a espécie deveria ser descrita como *villosa*. HORWICH (1983) e JAMES (1992), revisando a história da taxonomia da espécie, recomendam o uso de *Alouatta pigra*. No presente trabalho, utilizaremos a nomenclatura proposta por HORWICH (1983) e JAMES (1992), considerando seis espécies de *Alouatta*: *A. pigra*, *A. palliata*, *A. seniculus*, *A. fusca*, *A. belzebul* e *A. caraya*.

As espécies desse gênero são encontradas essencialmente em distribuições alopátricas (SMUTS *et al.*, 1986). Entretanto, pequenas áreas de simpatria têm sido descritas para *A. palliata* e *A. pigra* no México (SMITH, 1972), *A. palliata* e *A. seniculus* na Colômbia (HERNANDEZ-CAMACHO & COOPER, 1976), e *A. caraya* e *A. fusca* no nordeste argentino (CRESPO, 1954).

*Alouatta* apresenta uma ampla distribuição geográfica na América Central (fig. 6) e América do Sul (fig. 7) e a maior variação gama de habitats dentre os gêneros de primatas neotropicais. A distribuição das espécies e suas principais características morfológicas são as seguintes (HILL, 1962; HIRSCH *et al.*, 1991):

**-*Alouatta pigra* Lawrence, 1933**

Espécie distinguível das outras pela pelagem uniformemente escura em todas as idades e em ambos os sexos e textura mais suave dos pelos, que apresentam a base avermelhada. Fêmeas menores do que os machos. Distribui-se na costa atlântica da Guatemala, estendendo-se até Belize, ao nordeste. Não apresenta subespécies.

**-*Alouatta palliata* Gray, 1849**

Distribui-se do norte do México ao norte da América do Sul, chegando a Colômbia e Equador. Tanto machos como fêmeas apresentam pelagem uniformemente negra ou parda muito escura, com pelos amarelados nos flancos. O hióide é de pequeno tamanho, se comparado com o de outras espécies, atingindo no macho a dimensão aproximada do hióide de uma fêmea de *A. seniculus*.

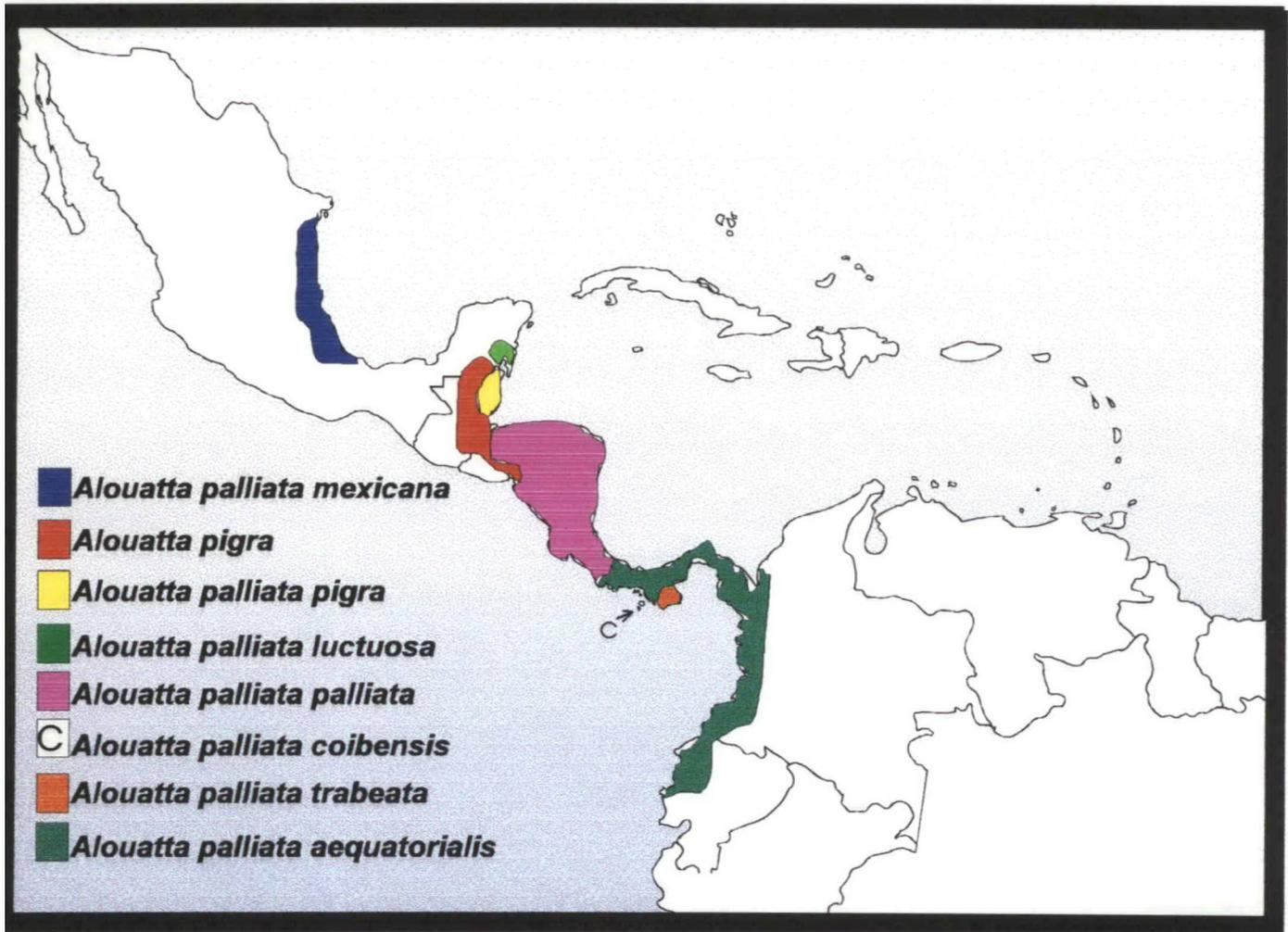


Fig. 06 - Mapa de distribuição geográfica das espécies de *Alouatta* na América Central, segundo HILL (1962) e HIRSH *et al.* (1991).



Apresenta sete subespécies: ***A. p. mexicana*** (sudeste do México), ***A. p. pigra*** (norte da Guatemala, Yucatan e Chiapas), ***A. p. luctuosa*** (Honduras Britânicas), ***A. p. palliata*** (Nicarágua, Honduras, Costa Rica, e extremo oeste do Panamá), ***A. p. coibensis*** (Ilha de Coiba), ***A. p. trabeata*** (Península de Azuero, no Panamá) e ***A. p. aequatoriais*** (do sul do Panamá ao norte da América do Sul).

***-Alouatta seniculus*** Linnaeus, 1766

Distingue-se de ***A. palliata***, com a qual apresenta simpatria em algumas áreas, por ser maior e possuir coloração geral ruivo-escuro e brilhante, que pode variar na intensidade de acordo com a subespécie, e pêlos ruivo-dourados ao redor das orelhas. A barba apresenta-se mais escura que o restante do corpo. Fêmeas são menores e com barba menos desenvolvida, sem diferença de coloração. Essa espécie habita o norte da América do Sul, chegando até a margem norte do Rio Madeira.

É uma espécie politípica, com suas oito subespécies apresentando a seguinte distribuição: ***A. s. seniculus*** (norte e leste da Colômbia e partes adjacentes da Venezuela, chegando ao Equador, norte do Peru e noroeste do Brasil, no Acre e Amazonas), ***A. s. arctoida*** (norte da Venezuela, até a margem norte do Orinoco), ***A. s. stramineus*** (sul da Venezuela, norte do Brasil até a margem norte do Rio Japurá), ***A. s. macconnelli*** (Guianas e norte do Brasil, no Amapá), ***A. s. insulanus*** (Trinidad), ***A. s. amazonica*** (centro do Estado do Amazonas, próximo à confluência dos rios Negro e Solimões), ***A. s. juara*** (oeste do Brasil, ao longo do Rio Juruá), ***A. s. puruensis*** (ao longo do Rio Purus) e ***A. s. sara*** (Bolívia Central).

**-*Alouatta belzebul*** Linnaeus, 1766

Os representantes dessa espécie apresentam pelagem típica negra ou marrom escura, com patas e porção terminal da cauda coberta com pêlos avermelhados ou dourados. Entretanto, há descrições de espécimes com a pelagem totalmente negra ou totalmente avermelhada, de acordo com o local de coleta. A subespécie ***A. b. ululata*** apresenta a pelagem uniformemente marrom médio. O híóide assemelha-se ao de ***A. seniculus***, sendo entretanto de menor tamanho e menos especializado. Suas quatro subespécies distribuem-se da margem sul do Rio Amazonas até a costa do Maranhão: ***A. b. belzebul*** (nordeste do Pará, incluindo a Ilha de Marajó e noroeste do Maranhão), ***A. b. mexiana*** (Ilha de Mexiana), ***A. b. discolor*** (sul do Rio Amazonas, no Pará, entre os rios Tapajós e Tocantins), ***A. b. ululata*** (norte do Maranhão) e ***A. b. nigerrima*** (sul do Amazonas, entre os rios Tapajós e Madeiras).

**-*Alouatta caraya***, Humboldt, 1812

Uma das maiores espécies desse gênero, notável pelo contrastante dimorfismo sexual, sendo os machos negros e as fêmeas bege-acinzentadas, com pêlos mais escuros no dorso. Os imaturos apresentam coloração semelhante à das fêmeas, sendo nos machos gradualmente substituída pela cor negra.

Não se reconhecem subespécies de ***A. caraya***, que se distribui no centro da América do Sul, atingindo Brasil, Paraguai, Bolívia e Argentina. No Brasil, distribui-se nos Estados do Mato Grosso do Sul, Tocantins, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina.

**-*Alouatta fusca*** Humboldt, 1812

Animais de pelagem longa e densa, uniformemente marrom escura, com reflexos dourados no dorso. A face é circundada por uma densa barba. Distribui-se na costa atlântica do Brasil, do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul, chegando ao norte da Argentina. A oeste, ocorre nos Estados da Bahia e Minas Gerais.

Apresenta duas subespécies: ***Alouatta fusca fusca*** que habita o norte da área de distribuição da espécie, no Espírito Santo, Bahia e Minas Gerais, e ***Alouatta fusca clamitans***, encontrada do Espírito Santo ao limite sul, na qual observamos um dimorfismo sexual, sendo os machos castanho-avermelhados e as fêmeas marrom-escuras.

### 1.5. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DAS ESPÉCIES DE *Alouatta*

A filogenia de ***Alouatta*** foi completamente ignorada desde o trabalho publicado por HERSHKOVITZ (1949). Baseando-se no desenvolvimento do osso hióide nas espécies desse gênero, o autor situou ***A. villosa*** e ***A. caraya*** no início e ***A. seniculus*** no final de uma série progressiva de especialização, agrupando as espécies em três divisões: o grupo ***A. seniculus***, com três espécies (***A. seniculus***, ***A. belzebul*** e ***A. fusca***), o grupo ***A. caraya***, com apenas uma (***A. caraya***), e o grupo ***A. palliata***, que inclui ***A. palliata***.

Segundo o autor, o mais especializado aparelho hióide é encontrado nos machos de ***A. seniculus***. O hióide das fêmeas de ***A. palliata*** são os menos modificados e podem ser os mais próximos do ancestral do gênero. O hióide do macho de ***A. caraya*** parece intermediário, com um tentório rudimentar, do qual o hióide de ***A.***

*belzebul* pode ter se originado. O hióide do macho de *A. fusca* é mais especializado, com o tentório mais inflado, e mostra uma tendência à formação de trabéculas e divisões na parte interna da bula, característica notada em *A. seniculus* (fig.8).

Com os resultados deste estudo, HERSHKOVITZ (1945) sugeriu que o gênero *Alouatta* poderia ter evoluído na América Central, baseando-se no desenvolvimento do osso hióide de *A. palliata*. Entretanto, os restos fósseis de *Stirtonia*, espécie relacionada com *Alouatta*, na Colômbia, indica que os bugios devem ter evoluído na América do Sul e que, mais tarde, um grupo com características primitivas estendeu sua distribuição à América Central, originando *A. palliata*. (ORLOSKY & SWINDLER, 1975).

DE BOER (1974), comparando os vários números diplóides das espécies desse gênero, considera o número cromossômico de *A. villosa* ( $2n=54$ ) como básico do gênero, do qual se originaram os números diplóides de *A. caraya* ( $2n=52$ ), *A. fusca* ( $2n=50$ ) e *A. seniculus* ( $2n=44$ ).

KOIFFMANN (1977), sugere que os cariótipos de *A. caraya* e *A. fusca clamitans* diferem entre si devido aos resultados de translocações robertsonianas e inversões pericêntricas.

Poucos estudos citogenéticos foram realizados em espécies de *Alouatta* até o momento. Além disso, apesar de cinco das seis espécies já terem seus complementos cromossômicos analisados por técnicas de bandamento cromossômico, as informações obtidas ainda não foram utilizadas ainda no esclarecimento das relações interespecíficas do grupo.

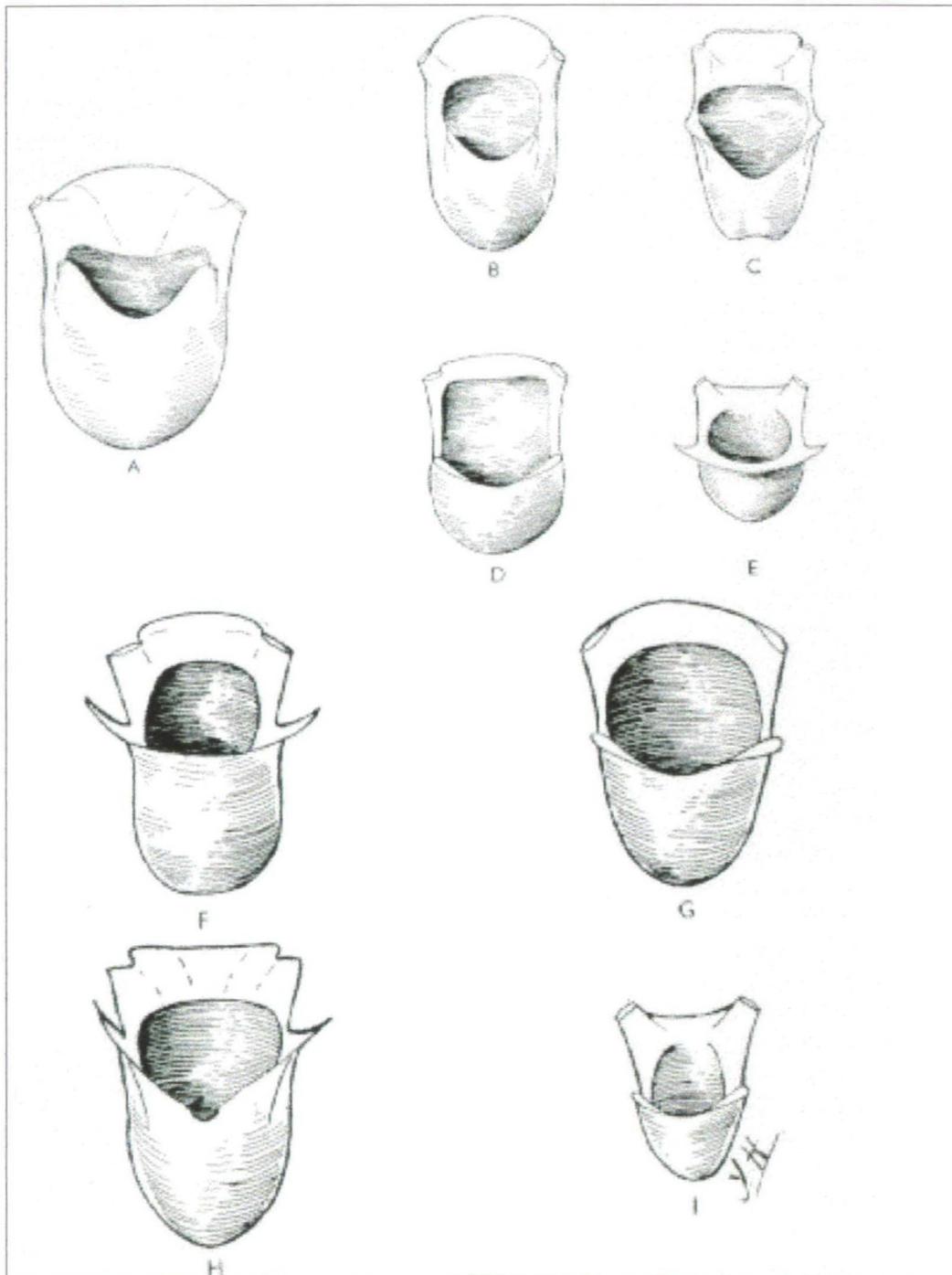


Fig. 08 - Diferenças observadas no osso hióide de algumas espécies de *Alouatta*, segundo HERSHKOVITZ (1945): A) *A. seniculus*, macho; B) *A. fusca clamitans*, macho; C) *A. belzebul belzebul*, macho; D) *A. palliata*, macho; E) *A. caraya*, macho; F) *A. seniculus*, fêmea; G) *A. fusca clamitans*, fêmea; H) *A. belzebul nigerrima*, fêmea; H) *A. palliata*, fêmea.

## 2. ALTERAÇÕES NA ESTRUTURA E NÚMERO DE CROMOSSOMOS

### 2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As diferenças existentes entre cariótipos de diferentes espécies e, quando presentes, de diferentes indivíduos em espécies cromossomicamente polimórficas, dependem de rearranjos cromossômicos que ocorreram em um passado recente ou mais remoto. As últimas pesquisas levaram à classificação das mutações em três tipos principais: **a.** mutações de ponto, que ocorrem por rearranjos ou substituições de nucleotídeos na molécula do DNA; **b.** duplicação gênica; e **c.** rearranjos na estrutura dos cromossomos, em segmentos microscopicamente visíveis.

KING (1993) afirma que os principais rearranjos envolvidos nos processos de isolamento reprodutivo e conseqüente especiação podem ser classificados em mudanças com heterose potencialmente negativa ( fusões *in tandem*, translocações robertsonianas, translocações recíprocas e inversões) e mudanças adaptativas ou neutras (adição ou deleção de heterocromatina e polimorfismos cromossômicos que estejam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ).

Rearranjos cromossômicos podem envolver um, dois ou mais cromossomos simultaneamente. Estes processos parecem depender de dois eventos: quebra dos cromossomos e inserção do segmento de maneira a diferir da posição original.

Em primatas, os mecanismos de evolução cariotípica não diferem daqueles propostos para a maioria dos grupos de mamíferos, incluindo principalmente fusões e fissões cêntricas e inversões pericêntricas.

## 2.2. PRINCIPAIS ALTERAÇÕES NA ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS

### INVERSÕES

Nesse rearranjo, o segmento cromossômico intersticial resultante de duas quebras une-se ao restante do cromossomo de uma maneira invertida. Se este segmento incluir o centrômero - inversão pericêntrica - poderão ocorrer modificações na morfologia cromossômica, alterando ou não o número de braços. Caso contrário - na inversão paracêntrica - a morfologia do cromossomo permanece inalterada, assim como o número de braços. De qualquer modo, em ambos os casos, o padrão de bandas cromossômicas sempre será modificado.

As inversões podem provocar a diminuição da fertilidade em heterozigotos, já que, durante o pareamento na meiose, há a formação de alças de inversão, com a possibilidade de ocorrer "crossing-overs" desiguais dentro da região dessas alças, o que origina cromátides com deleções ou duplicações, e conseqüentemente, gametas desequilibrados.

Inversões pericêntricas parecem ter tido um importante papel na evolução de mamíferos, sendo o principal mecanismo de evolução cromossômica em alguns grupos de roedores (LEAL-MESQUITA, 1991); em primatas, parecem ter sido importantes na evolução de pongídeos (DUTRILLAUX *et al.*, 1979) e platirrinos (GROUCHY *et al.*, 1978; DUTRILLAUX *et al.*, 1978; DUTRILLAUX, 1988a). Em Callitrichidae, as inversões paracêntricas são bastante comuns (BEDARD *et al.*, 1978; NAGAMACHI & PIECZARKA, 1988; NAGAMASHI *et al.*, 1990; BARROS *et al.*, 1990).

## FUSÕES E FISSÕES CÊNTRICAS

As fusões cêntricas caracterizam-se pela união de dois cromossomos acrocêntricos por suas regiões centroméricas, formando um cromossomo de dois braços, meta ou submetacêntrico. O processo oposto denomina-se fissão cêntrica, no qual há a quebra de um cromossomo de dois braços na região centromérica, originando dois cromossomos acrocêntricos. Em ambos os casos, ocorre variação do número diplóide, mantendo-se porém o mesmo número de braços.

Algumas vezes, esse rearranjo interfere na fertilidade de híbridos: gametas aneuplóides podem ser produzidos devido a problemas de segregação na meiose. Segundo WHITE (1973), a presença ou não de gametas aneuplóides dependerá, em parte, das dimensões relativas dos cromossomos envolvidos e do número e posição dos quiasmas.

Apesar de aceito por todos os citogeneticistas, a origem destes processos ainda é muito questionada. A questão principal refere-se à ocorrência ou não de cromossomos telocêntricos funcionais em populações naturais de organismos superiores.

Entre os mamíferos, esses tipos de rearranjo parecem ser predominantes (DUTRILLAUX, 1988a). Nos primatas, teve papel importante na evolução dos prossímios (EGOZCUE, 1977; MINEZAWA & BORDA, 1984; RUMPLER *et al.*, 1988).

## TRANSLOCAÇÕES

A translocação é a transferência de um segmento de um cromossomo para outro não-homólogo. A translocação pode ser simples ou não-recíprocas, quando

apenas um segmento é translocado de um cromossomo para o outro, ou recíproca, quando dois cromossomos trocam partes entre si. No caso das translocações não-recíprocas, pode ocorrer ou não uma redução no número de cromossomos de acordo com o tamanho do segmento transferido: se o segmento restante for acêntrico ou de tamanho reduzido, é perdido em divisões celulares sucessivas.

Durante o “crossing-over” de cromossomos translocados, pode ocorrer a formação de gametas desequilibrados, portadores de deleções e duplicações. Em translocações recíprocas, a meiose de heterozigotos apresenta a formação de agrupamentos em anéis, que, dependendo da orientação do centrômero durante a migração na anáfase I, poderá ou não provocar a diminuição da fertilidade do híbrido (WHITE, 1973).

A fusão cêntrica é também considerada um tipo especial de translocação, sendo também denominada de translocação robertsoniana. Embora em muitos casos a fusão cêntrica possa ocorrer como consequência de uma translocação recíproca, em muitos outros casos parece ocorrer simplesmente uma fusão de telocêntricos (GUERRA, 1988).

Em primatas, as translocações foram observadas em alguns platirrinos, principalmente o processo não-recíproco envolvendo o cromossomo Y e um autossomo, como em *Callimico*, *Aotus*, *Cacajao* e *Alouatta* (HSU & HAMPTON, 1970; MA *et al.*, 1975; KOIFFMANN, 1977; ARMADA *et al.*, 1987; LIMA & SEUÀNEZ, 1991; DUTRILLAUX *et al.*, 1981; PEQUIGNOT *et al.*, 1985; PIECZARKA & NAGAMASHI, 1988).

### 2.3. HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA

O termo heterocromatina foi proposto por HEITZ (1928, cf. DANTAS, 1994) para denominar regiões do cromossomo que permanecem condensadas durante todo o ciclo celular. BROWN (1966) reconheceu dois tipos de heterocromatina. A heterocromatina constitutiva permanece condensada durante todo o ciclo celular e em todas as células do indivíduo, concentrando-se geralmente em blocos nos cromossomos. Aparece em ambos os homólogos, na mesma posição, e não contém genes estruturais. O segundo tipo, a heterocromatina facultativa é por definição um tipo de heterocromatina que ora se comporta como heterocromatina (mantém-se condensado durante a intérfase), ora como uma típica eucromatina. Além disso, aparece em apenas um dos homólogos de cada par, envolvem cromossomos inteiros e não apenas blocos, e não possui nenhuma particularidade quanto à composição do DNA.

A função da heterocromatina constitutiva é ainda obscura. Inúmeras propriedades são atribuídas à heterocromatina constitutiva, como facilitar a ocorrência de rearranjos cromossômicos, manter a estrutura do núcleo celular, favorecer o pareamento na meiose e proteger regiões geneticamente ativas (HSU *et al.*, 1975; BIANCHI, 1978; BABU & VERMA, 1986), porém nem todas são constantes ou exclusivas. Frequentemente, a mesma caracteriza-se por apresentar-se em estado condensado, com replicação tardia, composta em grandes extensões por seqüências curtas e altamente repetitivas de nucleotídeos, chamadas de ADN satélite. Essas seqüências não transcrevem, sendo por isso geneticamente inativas; localizam-se em regiões específicas do cromossomo, com tendência a associar-se com outras regiões heterocromáticas (HSU, 1975; BIANCHI, 1978).

Para BABU & VERMA (1986), a variação qualitativa da heterocromatina constitutiva ocorre por mutações em pequenas seqüências repetidas, seguidas de amplificação. Por outro lado, as variações quantitativas são consideradas como eventos que ocorrem durante a divisão de células somáticas a partir de permutas desiguais.

Outros autores (DUTRILLAUX, 1979; DUTRILLAUX *et al.*, 1981; CLEMENTE *et al.*, 1990) acreditam que a variabilidade da heterocromatina não ocorre ao acaso nos cromossomos, visto que é normalmente encontrada na mesma região dependendo da espécie ou gênero analisado. Esse fato sugere a existência de regiões com um potencial maior para aumentar o conteúdo de heterocromatina, talvez um mecanismo de amplificação do ADN (CLEMENTE *et al.*, 1990). Entretanto, os limites das regiões heterocromáticas observadas em alguns representantes de primatas, como por exemplo gêneros das famílias Cebidae, Cercopithecidae e Hominidae, são freqüentemente envolvidos em rearranjos cromossômicos, indicando que estas regiões são mais propensas a quebras e reorganizações, podendo estar envolvidas com muitos rearranjos produzidos durante a evolução cromossômica (CLEMENTE *et al.*, 1990).

Nos cromossomos de mamíferos, os segmentos heterocromáticos encontram-se preferencialmente nas regiões centroméricas e, menos freqüentemente, em posição intercalar, terminal ou em toda a extensão de um braço. Em primatas, essa variabilidade vem sido notada em muitos gêneros, tanto em Catarrhini como em Platyrrhini. Nos macacos do Novo Mundo, a variabilidade da distribuição e quantidade de heterocromatina constitutiva foi observada em muitos gêneros, como **Cebus** (DUTRILLAUX, 1979; CLEMENTE *et al.*, 1987, OLIVEIRA & LIMA, 1993), **Lagothrix**

(CLEMENTE *et al.*, 1987), ***Aotus*** (PIECZARKA *et al.*, 1993), ***Ateles*** (PIECZARKA *et al.*, 1989; BARROS *et al.*, 1990; MEDEIROS, 1994), ***Callithrix*** (NAGAMASHI *et al.*, 1993), ***Saguinus*** (BEDART *et al.*, 1978; NAGAMASHI & PIECZARKA, 1988; NAGAMASHI *et al.*, 1990) e ***Alouatta*** (LIMA & SEUÀNEZ, 1993; ARMADA *et al.*, 1987; MA *et al.*, 1975; MUDRY *et al.*, 1984, OLIVEIRA *et al.*, 1994).

### 3. REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLO (RONS)

As regiões organizadoras de nucléolo são segmentos de ADN onde se localizam os genes responsáveis pela síntese de RNAr 18S e 28S. Esses genes podem estar concentrados em um único sítio cromossômico do genoma ou ocorrer em múltiplos sítios, apresentando distribuição distinta para cada espécie (HSU, 1975).

Em algumas espécies, as RONS estão localizadas na região de constrição secundária dos cromossomos, como em ***Cebus*** (OLIVEIRA & LIMA, 1993) e nos Anthropeidea (HSU *et al.*, 1975). Em outras, como em camundongo, muitos cromossomos possuem constrição secundária sem entretanto serem portadores de RONS ativas nesta região (HENDERSON *et al.*, 1974).

Apenas as RONS que estiveram ativas na intérfase anterior à mitose durante a qual a célula foi fixada e corada por nitrato de prata são marcadas, podendo variar a nível inter e intra-específico, e mesmo inter e intraindividual quanto ao número, localização, intensidade e tamanho (GOODPASTURE & BLOOM, 1975). Essas diferenças são atribuídas tanto a atividades funcionais quanto ao número de cístrons ribossomais (CHEUNG *et al.*, 1989).

Nos mamíferos em geral, as RONS situam-se em autossomos; entretanto, já foram descritos casos em que elas encontravam-se situadas nos

cromossomos sexuais de morcegos (HSU *et al.*, 1975) e em cromossomos B de roedores (SBALQUEIRO, 1989).

Em primatas, há uma considerável variação das RONS quanto à quantidade e localização. Além disso, foram citados casos de RONS situadas no cromossomo Y de *Saguinus bicolor* (FERRARI & PEIXOTO, 1984) e *Callithrix jacchus* (NAGAMASHI, 1995).

#### 4. CROMOSSOMOS SUPERNUMERÁRIOS

As variações numéricas encontradas em algumas populações naturais de animais e plantas podem estar associadas à presença de cromossomos atípicos, distinguidos do complemento básico, genoma A, por uma série de peculiaridades (SBALQUEIRO, 1989). De acordo com BATTAGLIA (1964), cerca de 15 denominações distintas já foram atribuídas a esses cromossomos, que são mais comumente conhecidos como cromossomos B, acessórios, extra ou supernumerários.

Entre suas características, destacam-se o tamanho variado, natureza freqüentemente heterocromática e um comportamento instável durante as divisões celulares, na maioria dos casos associado a diferentes mecanismos de acúmulo ou perda, que levam constantemente a variações numéricas, sejam intra-individuais intra e interpopulacionais.

A presença ou ausência dos cromossomos supernumerários parece não trazer nenhum efeito no fenótipo, sendo portadores e não-portadores indistinguíveis. Em número limitado, seus efeitos podem conferir certa vantagem adaptativa aos indivíduos, embora em grande número possam ser deletérios, diminuindo o vigor (em vegetais) e a fertilidade (BATTAGLIA, 1964; HEWITT, 1973;

WHITE, 1973; MÜNTZING, 1974; JONES, 1975; VOLOBUJEV, 1980; JONES & REES, 1982).

JONES & REES (1982) afirmam que os cromossomos B não são portadores de genes de efeitos maiores (estruturais) e, similarmente aos complexos poligênicos, seus efeitos são aditivos e promovem variações contínuas. Alterações nas frequências de quiasmas nos cromossomos do complemento normal, sob influência de cromossomos supernumerários, têm sido observadas em vários sistemas citogenéticos (JOHN & HEWITT, 1965; AYONOADU & REES, 1968; VOSA & BARLOW, 1972; JOHN, 1973; PATTON, 1977; JONES & REES, 1982; THOMSON *et al.*, 1984; CANO *et al.*, 1986).

Com relação à sua origem, é consenso entre autores de que os mesmos derivam do complemento cromossômico básico através de diferentes mecanismos, como inversões, translocações recíprocas, deleções, não-disjunções, etc.

Os cromossomos supernumerários parecem abundantes e amplamente distribuídos, tendo sido registrados em mais de 1000 espécies de plantas e em mais de 260 de animais (JONES & REES, 1982). Nestes, aparecem mais freqüentemente nos invertebrados; em mamíferos, aproximadamente 30 espécies e subespécies foram relatadas, destacando-se os roedores, nos quais foram observados em 20 espécies descritas (BAVERSTOCK *et al.*, 1977; KASAHARA, 1978; PRETEL & DIAZ DE LA GUARDIA, 1978; VOLOBUJEV, 1981; THOMSON, 1984; THOMSON *et al.*, 1984; MAIA *et al.*, 1984; SBALQUEIRO, 1989).

Em primatas, a presença de cromossomos B é comum em lêmures (RUMPLER *et al.*, 1986). Em símios, foram descritos apenas no homem (JONES & REES, 1982) e em *Alouatta seniculus* (MINEZAWA *et al.*, 1985; LIMA *et al.*, 1990).

## 5. REARRANJOS CROMOSSÔMICOS E ESPECIAÇÃO EM PRIMATAS

### 5.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A filogenia de muitos grupos de espécies aparentadas pode ser explicada por rearranjos cromossômicos como, por exemplo, o grupo formado por *Homo sapiens* e os grandes antropóides, cujos cariótipos podem ser reconstruídos entre si através de um pequeno número de rearranjos (SEUÀNEZ, 1979). Entretanto, não sabemos ainda se essas pequenas modificações foram o motivo da especiação, ou se elas surgiram após as espécies já estarem diferenciadas. Existe uma grande controvérsia entre os biólogos evolucionistas no que se refere ao papel dos rearranjos cromossômicos e o do isolamento geográfico na especiação.

De um lado, MAYR (1977) definiu espécie como uma população separada de outras por descontinuidade, sendo que o mais importante fator na manutenção do isolamento entre espécies é o isolamento reprodutivo. Apesar disso, de acordo ainda com esse autor, o isolamento geográfico é o mecanismo essencial pelo qual se dá a especiação, sendo os outros isolamentos de importância secundária. Esses mecanismos secundários, pelos quais as espécies são mantidas como populações separadas, podem atuar num estágio posterior, caso essas espécies entrem novamente em contato, evitando a hibridização entre elas, conservando seus "pools" gênicos. Assim, o papel dos cromossomos na especiação tem sido categoricamente negado por MAYR (1977), já que as mudanças cromossômicas ocorreram, na sua opinião, depois que o processo de especiação foi produzido por isolamento geográfico. Entretanto, esse modelo de especiação,

produzido por isolamento geográfico. Entretanto, esse modelo de especiação, chamado alopátrico, tem sido recusado por alguns autores, devido ao fato de algumas populações de animais definidas como espécies e isoladas geograficamente por longos períodos serem capazes de produzir ninhada fértil se colocadas em contato novamente. É o caso do urso polar (*Thalarctos maritimus*) e urso pardo (*Ursus arctus*) e do veado vermelho (*Cervus elaphus*) e wapiti canadense (*Cervus canadensis*) (SHORT, 1976).

Por outro lado, muitos são os autores que defendem o papel dos rearranjos cromossômicos no processo de especiação. Segundo GUERRA (1988), embora o comportamento cromossômico possa ser genicamente controlado, como no caso da heterocromatina facultativa ou do pareamento dos homólogos, há um conjunto de características cromossômicas que independem do genótipo. Por exemplo, a frequência de recombinação gênica dentro de um segmento invertido em um heterozigoto para um inversão será sempre reduzida, independente de qual seja seu genótipo. Nesse sentido, o polimorfismo cromossômico pode ter pelo menos três efeitos importantes:

- a) a alteração do conjunto gênico em expressão no organismo, por alteração física (deleções, duplicações, translocações) do gene ou por efeito de posição (presença ou ausência de blocos heterocromáticos em sua vizinhança);
- b) alteração da frequência de recombinação gênica, formando novos grupos de ligação (translocações, fusões/fissões cêntricas) ou bloqueando a recombinação de um certo segmento (inversões);
- c) reduzir, ou mesmo impedir, o fluxo gênico dentro de uma população (rearranjos que

Um aspecto importante observado na especiação é a existência de zonas de hibridização na área de contato entre as duas espécies. Essas zonas se caracterizam pela presença de indivíduos com o cariótipo híbrido, com baixa fertilidade. De acordo com KING (1993), quanto maiores os distúrbios meióticos trazidos pelos rearranjos responsáveis pela especiação, menos extensas são as zonas de hibridização.

WHITE (1968, 1973) sugere que a especiação pode seguir um "modelo estasipátrico", ou seja, espécies poderiam originar-se através de rearranjos cromossômicos dividindo um hábitat comum. Inicialmente, o rearranjo cromossômico, sendo um evento relativamente raro, resultaria necessariamente no surgimento de um portador heterozigoto para o rearranjo dentro da população. Se fértil, esse portador poderia transmitir a variante cromossômica para sua prole. Se o rearranjo envolvesse grandes segmentos eucromáticos e consistisse de uma inversão pericêntrica, por exemplo, dois efeitos resultariam: um, que a ordem dos genes na variante cromossômica iria diferir da do cromossomo normal; dois, que a permuta dentro do segmento invertido originaria gametas não-balanceados. Qualquer mutação que ocorresse na região envolvida no rearranjo seria mantida no cromossomo e não seria transferida de forma viável para seu homólogo na permuta. Com esse acúmulo de mutações, os dois cromossomos não seriam diferentes apenas morfológicamente, mas também geneticamente. Se a incidência de heterozigotos na população fosse alta o bastante para permitir o intercruzamento, homozigotos para o rearranjo surgiriam em sua ninhada, sendo eles geneticamente diferentes dos homozigotos para o cromossomo original. Conseqüentemente, a seleção poderia favorecer ou eliminar uma

dessas duas formas cromossômicas, agindo em indivíduos que acumularam diferentes mutações e que também diferem na ordem dos genes nesse par cromossômico. Como apontado por BODMER (1975), uma mudança na ordem dos genes poderia resultar numa combinação capaz de trazer vantagens seletivas, fazendo com que essa nova ordem pudesse ser fixada na população.

Uma importante objeção a esse modelo são as barreiras de infertilidade que restringiriam mudanças cromossômicas aos indivíduos nos quais elas se originaram, especialmente em organismos complexos como os mamíferos. Entretanto, alguns exemplos encontrados em roedores e primatas, entre outros, parecem apoiar a viabilidade desse modelo. No orangotango (*Pongo pygmaeus*), uma inversão pericêntrica ocorrida há pelo menos 8000 anos originou duas subpopulações, uma em Bornéu e outra em Sumatra, reprodutivamente incompatíveis (SEUÀNEZ, 1979). Apesar de esse exemplo não provar que ocorreu especiação estasipátrica, deixa claro que mudanças cromossômicas não são necessariamente inviáveis pela infertilidade de heterozigotos.

Alguns modelos de especiação cromossômica, classificados como "modelos externos de especiação" (KING, 1993) relevam a importância dos rearranjos cromossômicos dentro de populações geograficamente isoladas (populações alopátricas e parapátricas), já que devemos considerar que o isolamento reprodutivo entre populações alopátricas resulta da crescente diferenciação genética entre elas, que será responsável por uma eventual incompatibilidade reprodutiva. Essa diferenciação genética poderá ser gênica ou cromossômica, se levamos em consideração a fixação de rearranjos cromossômicos negativos em heterozigose em uma das populações.

Um dos primeiros modelos a surgir levando em consideração uma distribuição parapátrica observada em plantas do gênero *Clarkia* foi proposto por LEWIS (1966), sendo denominado de especiação saltatória. Segundo esse modelo, a especiação dentro do gênero *Clarkia* se deu através de translocações recíprocas e inversões pericêntricas em indivíduos com distribuição periférica. Caso esses indivíduos não fossem extintos, haveria a fixação desses rearranjos, mesmo com a baixa fertilidade observada nos híbridos, já que seriam alvos de uma “seleção catastrófica”, isto é, a seleção que opera nos indivíduos que sobrevivem em condições extremas observadas nos limites da distribuição de uma espécie. Em *Clarkia*, que vive em ambientes muito áridos, com chuvas bastante raras e sazonais, todas as espécies derivadas têm um período de crescimento mais curto do que seus ancestrais diretos.

BUSH (1975) propõe um modelo parapátrico de especiação, no qual o isolamento espacial não é necessário para a especiação e pode ser aplicado a espécies com vagilidade muito baixa. Os rearranjos cromossômicos poderiam trazer uma adaptação para outros nichos ecológicos, o que permitiria ao novo citótipo uma distribuição diferente do citótipo ancestral: no caso de rearranjos desvantajosos em heterozigose, o fluxo gênico ocorreria apenas nas bordas de ambas as distribuições, mantendo uma faixa de hibridização.

KEY (1981) descreve um modelo de especiação, baseado em estudos feitos em gafanhotos *morabinae*, denominado modelo alopátrico de especiação cromossômica. Segundo o autor, rearranjos cromossômicos que trazem grandes distúrbios meióticos só poderiam agir no caso de populações isoladas geograficamente por um longo período. Desta forma, o contato entre duas populações para formação de uma zona de hibridização seria uma segunda etapa, que ocorre após a formação e

expansão de populações monomórficas cromossomicamente.

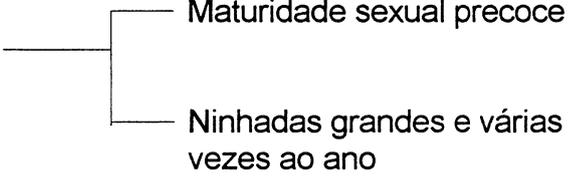
BAKER & BICKHAM (1986) sugerem um modelo de especiação baseado em fusões cêntricas. Segundo esses autores, a fixação de fusões cêntricas em populações naturais normalmente encontram poucos problemas meióticos devido à capacidade dos trivalentes segregarem normalmente. Entretanto, isso implicaria em uma forte barreira de esterilidade entre populações com fusões envolvendo diferentes cromossomos, isto é, com meta ou submetacêntricos resultantes de fusões, nos quais apenas um dos braços é homólogo entre as populações em questão. Um híbrido entre tais populações apresentariam a formação de complexos multivalentes, responsáveis por uma fertilidade baixa ou ausente. Os autores afirmam que esse modelo parapátrico de especiação teria especial importância para alguns grupos de mamíferos, especialmente roedores, insetívoros e quirópteros.

KING (1993) afirma que os rearranjos cromossômicos podem agir como um mecanismo de isolamento reprodutivo pós-copulatório, apesar da existência de diferentes tipos de eventos na meiose de alguns roedores, que anulam os efeitos deletérios de certos rearranjos, como as inversões pericêntricas. Além disso, o autor afirma que polimorfismos cromossômicos com alta frequência de heterozigotos poderiam estar associados com a especiação. De acordo ainda com esse autor, a idéia de que a fixação de rearranjos cromossômicos pode agir como barreira ao fluxo gênico é baseada na afirmação de que, em algumas espécies, formas diferenciadas cromossomicamente produzem híbridos inférteis quando as populações parental e filha têm contato entre si.

WILSON *et al.*(1975) observou que, em mamíferos, as taxas de evolução cromossômica são mais altas do que em outros grupos, e propôs que esse fato pode ser explicado pela maneira que as populações de espécies de mamíferos se organizam socialmente, permitindo a ocorrência de endocruzamentos e deriva genética. De fato, os modelos de especiação alopátricos, parapátricos ou simpátricos podem ter contribuído para a evolução dos mamíferos. ARNASON (1972), comparando a evolução de Cetacea e Pinnipedia com a de Insectivora e Rodentia, concluiu que os primeiros evoluíram provavelmente seguindo o modelo alopátrico, enquanto os últimos seguiram o modelo estasiopátrico. Como regra geral para os mamíferos, ARNASON (1972) afirma que a especiação alopátrica deve ter ocorrido naqueles grupos que mostram grande estabilidade cariotípica, correspondendo àqueles que tem:

- 1) Baixas taxas de reprodução
  - Maturidade Sexual Tardia
  - Ninhada de tamanho reduzido
  - Poucas ninhadas por ano
- 2) Grande mobilidade
- 3) Hábitat sem nichos delimitados

Por outro lado, a especiação estasipátrica seria aplicada às espécies mostrando:

- 1) Altas taxas de reprodução 
  - Maturidade sexual precoce
  - Ninhadas grandes e várias vezes ao ano
- 2) Mobilidade restrita
- 3) Nichos ecológicos delimitados

Em primatas, a grande maioria de suas espécies corresponderia ao primeiro grupo, sugerindo que a especiação ocorrida tenha sido do tipo alopátrico. A organização social dos primatas pode ser o único meio pelo qual animais grandes e móveis possam manter as subdivisões populacionais requeridas para a rápida evolução cariotípica, sem a necessidade de isolamento geográfico (KOFFMANN, 1977).

As espécies do gênero *Cercopithecus* estão organizadas em pequenos bandos constituídos por um macho adulto e várias fêmeas adultas; as espécies do gênero *Papio* estão organizadas em bandos de muitos machos. Como resultado dessas diferentes organizações sociais, as espécies de *Cercopithecus* são freqüentemente simpátricas, mas suas constituições cromossômicas são diferentes e o intercruzamento na natureza é muito raro. Por outro lado, as espécies de *Papio* são alopátricas e cromossomicamente uniformes; a hibridização é comum nas áreas de

contato entre as espécies, o que sugere ausência de isolamento reprodutivo completo entre as espécies (BUSH *et al.*, 1977): a especiação deve ter ocorrido exclusivamente ao nível gênico.

Dados citogenéticos em primatas mostram um grande número de diferenças cromossômicas entre seus representantes. Todavia, constatou-se a existência de homeologias cromossômicas também e que elas ocorrem em maior quantidade quanto mais próximos filogeneticamente forem os grupos (DUTRILLAUX, 1988A). Segundo EGOZCUE *et al.*, (1969), e JOHN (1981), espécies de primatas correlacionadas podem mostrar os diferentes estágios pelos quais passaram os cariótipos mais evoluídos dessa ordem.

A variabilidade cromossômica entre os primatas é caracterizada, principalmente, por rearranjos estruturais que parecem não ocorrer ao acaso, já que tipos específicos destes se dão preferencialmente em alguns cromossomos de determinados taxa (DANTAS, 1994). Enquanto alguns cromossomos parecem ter sofrido numerosos rearranjos, outros mantiveram-se invariáveis por milhões de anos (CLEMENTE *et al.*, 1990), sendo as inversões e translocações robertsonianas as alterações cromossômicas de mais importante papel na evolução dos primatas, assim como em alguns outros grupos de mamíferos (EGOZCUE, 1977; GROUCHY *et al.*, 1978; MILLER, 1977; DUTRILLAUX, 1988a).

Muitos trabalhos têm tentado estabelecer a filogenia cromossômica dos primatas através de comparações cariotípicas de espécies atuais (DE BOER, 1974; GROUCHY *et al.*, 1978; DUTRILLAUX, 1988a; RUMPLER & DUTRILLAUX, 1986; CLEMENTE *et al.*, 1990). Segundo DUTRILLAUX (1988a), o ancestral dos primatas apresentava um cariótipo composto de 56 cromossomos, que deu origem a

dois ramos distintos: o primeiro deu origem aos Prosimii, pelos processos de fissões cêntricas, e o segundo ramo, através de inversões pericêntricas, fusões e fissões cêntricas e outros rearranjos não específicos, deu origem aos Anthropoidea. Posteriormente, os Anthropoidea se diferenciaram em Catarrhini e Platyrrhini ao sofrerem translocações, inversões e outros rearranjos mais complexos.

## **5.2. VARIAÇÃO CROMOSSÔMICA EM PRIMATAS DO NOVO MUNDO**

O campo da citogenética comparada avançou extensamente com o desenvolvimento de técnicas de colorações diferenciadas em cromossomos mitóticos. As informações obtidas de estudos empregando as diversas técnicas de bandamento, que revelam uma estrutura mais íntima e própria de cada cromossomo, têm proporcionado um aumento não só na quantidade de informações como também na conseqüente análise e interpretação dos achados cromossômicos. Esse fato se constitui em um grande auxílio aos sistematas na formulação de hipóteses filogenéticas mais concisas dos grupos investigados, acrescentando contribuições importantes às filogenias previamente inferidas a partir de caracteres morfométricos, bioquímicos, etc. Além disso, os achados cromossômicos também podem ser aplicados por citogeneticistas para estudo de rearranjos incorporados no decorrer da história evolutiva de uma determinada linhagem, e pelos especialistas em genética de populações para entendimento das forças que afetam a fixação de rearranjos cromossômicos.

Do ponto de vista sistemático, a determinação das condições cariotípicas das espécies, primitivas (plesiomórficas) ou derivadas (apomórficas), pode ser de grande utilidade na avaliação de suas afinidades evolutivas (GREENBAUM &

BAKER, 1978). Assim, segundo esses autores, a presença dos mesmos cromossomos ou de cariótipos derivados em diferentes espécies (sinapomorfia, cf HENNIG, 1965) é indicativa de ancestralidade comum entre estas taxa e pode servir como base à sua organização sistemática. Desta forma, o conhecimento de condições plesiomórficas ou apomórficas é essencial na inferência das relações filogenéticas e na construção da filogenia cromossômica fundamentada em sinapomorfias. Nesse sentido, a análise cariotípica através do bandamento cromossômico é extremamente útil à uma abordagem cladística, já que, por tais métodos, é possível inferir os números e tipos de rearranjos do genoma, que são ou não compartilhados pelas espécies (YATES *et al.*, 1979; QUMSIYEH & BAKER, 1988; SBALQUEIRO, 1989).

Quanto aos mamíferos, têm sido publicados vários trabalhos nos quais as homeologias das seqüências de bandas entre diferentes espécies foram utilizadas nas proposições de afinidades filogenéticas, como no caso de primatas (DUTRILLAUX, 1979; DUTRILLAUX & COUTURIER, 1981; RUMPLER *et al.*, 1986, NAGAMASHI, 1995), quirópteros (BAKER & BICKHAM, 1980; HAIDUK & BAKER, 1982; BAKER *et al.*, 1985), insetívoros (SEARLE, 1984), carnívoros (COUTURIER *et al.*, 1986) e em maior número, de roedores (GREENBAUM & BAKER, 1978; BAKER & BARNETT, 1981; SPOTORNO, 1982; BAKER *et al.*, 1983; VIEGAS-PEQUIGNOT *et al.*, 1983; KOOP *et al.*, 1984; SBALQUEIRO, 1989).

Do ponto de vista cromossômico, pode-se dizer que os platirrinos constituem os mais interessantes primatas, visto que se encontram em pleno processo de especiação (EGOZCUE, 1977), apresentando geralmente cariótipo instável, com variações intragenéricas, intraespecíficas e até mesmo intraindividuais (tabela 1). Para reforçar este ponto de vista, pode-se citar os fatos de que os platirrinos são os únicos

primatas, além do homem e de algumas espécies de lêmures, a apresentar cromossomos B ou supernumerários, como foi observado em *Alouatta* (MINEZAWA *et al.*, 1985; LIMA *et al.*, 1990, RUMPLER & DUTRILLAUX, 1986; STANYON *et al.*, 1995)), poder apresentar quimerismo, como em Callitrichidae (NAGAMASHI, 1982; BARROS *et al.*, 1990, SBALQUEIRO *et al.*, 1992), e apresentar diferentes sistemas cromossômicos de determinação sexual, como em *Callimico*, *Aotus*, *Cacajao* e *Alouatta*, onde foram observados casos de translocações Y/autossomo (HSU & HAMPTON, 1970; MA *et al.*, 1975; KOIFFMANN, 1977; ARMADA *et al.*, 1987; LIMA & SEUÁNEZ, 1991; DUTRILLAUX *et al.*, 1981; PEQUINOT *et al.*, 1985; PIECZARKA & NAGAMASHI, 1988).

Apesar de as espécies pertencentes à família Callitrichidae apresentarem o cariótipo relativamente constante, com o número diplóide variando de 44 a 46 e o mesmo número fundamental em todas as espécies ( $NA=78$ ), à exceção de *Callimico*, igual a 74 (CHIARELLI, 1980), uma grande variação é encontrada em outros gêneros, sobre a qual as pesquisas realizadas até o momento mostram que a diversidade cariológica é proeminente, com o número diplóide variando de  $2n=20$  (*Callicebus torquatus*) a 62 (*Lagothrix lagothricha*). Em *Aotus*, foram detectados 12 cariótipos, com o número diplóide variando de 46 a 56 (BRUMBACK *et al.*, 1971; MA *et al.*, 1976), o que, juntamente com dados morfológicos, serológicos, parasitológicos e biogeográficos, permitiram a caracterização de nove espécies desse gênero (HERSHKOVITZ, 1983). Em *Saimiri*, diferentes cariótipos puderam ser correlacionados a diferentes áreas geográficas e a diferenças muito sutis na pelagem da face (JONES *et al.*, 1973). Em *Alouatta*, o número diplóide varia de 44 a 54 nas cinco espécies analisadas até o momento (MA *et al.*, 1975; KOIFFMANN, 1977; YUNIS

*et al.*, 1976; MINEZAWA *et al.*, 1985; ARMADA *et al.*, 1987; LIMA & SEUÀNEZ, 1991). Outros gêneros mostram um número diplóide bastante conservado, como **Cebus**, no qual o número diplóide varia de  $2n=52$  a 54 nas cinco espécies conhecidas (KOFFMANN, 1977; DUTRILLAUX *et al.*, 1978; GARCIA *et al.*, 1976; CRÉAU-GOLDBERG *et al.*, 1981; TORRES DE CABALLERO *et al.*, 1976; MUDRY, 1990; SEUÀNEZ *et al.*, 1983; OLIVEIRA & LIMA, 1993).

### 5.3. ESTUDOS CROMOSSÔMICOS EM *Alouatta*

Comparações cariológicas entre as diferentes espécies de ***Alouatta*** mostraram uma substancial variação no número (43 a 54) e na morfologia dos cromossomos (tabela 2). Além disso, ***Alouatta*** é um dos poucos primatas não-humano que apresenta cromossomos supranumerários ou cromossomos B (STANYON *et al.*, 1995). Essas diferenças encontradas em ***Alouatta*** são provavelmente devido a rearranjos cromossômicos ocorridos durante a radiação filética desse gênero. Segundo CHIARELLI (1980), a variação encontrada no complemento cromossômico de ***Alouatta*** parece ter sido originada a partir de mecanismos de translocação, envolvendo também meta e submetacêntricos, ao invés de apenas fusões cêntricas, devido ao número de acrocêntricos bastante constante nos cariótipos das diferentes espécies. Entretanto, o entendimento preciso da evolução cromossômica nesse gênero é dificultado pela significativa diferença cariológica que pode ser observada entre espécimes presentemente considerados como pertencentes a uma mesma espécie (ARMADA *et al.*, 1987), e o fato de espécimes exibirem diferenças morfológicas usadas para a identificação das espécies (como a cor da pelagem) poderem ser cromossomicamente similares (LIMA & SEUÀNEZ, 1989). A própria

organização social das espécies de *Alouatta*, com grupos dominados por um ou poucos machos e constituídos de várias fêmeas e imaturos, pode ter propiciado a diversidade cariotípica observada atualmente (tabela 2). Todos esses fatos refletem a necessidade de revisão das classificações baseadas em atributos morfométricos e na caracterização de novos grupos através de critérios citotaxonômicos, moleculares, e bioquímicos.

Em decorrência da extensa área de distribuição geográfica de algumas espécies de *Alouatta*, é possível que algumas delas representem grupos complexos de espécies, ao invés de uma só (LIMA & SEUÀNEZ, 1991). É o caso de *Alouatta seniculus*, cuja extensa área de distribuição e variabilidade intra-específica levaram HILL (1962) a propor sua divisão em nove subespécies. Estudos cromossômicos em *A. seniculus seniculus* da Colômbia (YUNIS *et al.*, 1976), *A. seniculus sara* da Bolívia (MINEZAWA *et al.*, 1985), *A. seniculus macconnelli* do norte do Amazonas (LIMA *et al.*, 1991) e de *A. seniculus stramineus* (LIMA & SEUÀNEZ, 1991), mostraram diferenças no número diplóide e no sistema cromossômico de determinação sexual, com translocações Y-autossomo claramente diferentes entre as subespécies, quando presentes. Translocações Y-autossomo também foram descritas em outras espécies desse gênero: *A. palliata* (MA *et al.*, 1975), *A. belzebul* (ARMADA *et al.*, 1987), e *A. fusca* (KOIFFMANN, 1977). Além disso, KOIFFMANN (1977) descreve uma variação no número diplóide de *A. fusca* de 48 a 50. A única espécie cujo cariótipo não apresentou variação até o momento é *A. caraya* (MUDRY DE PARGAMENT *et al.*, 1984; MUDRY *et al.*, 1994), com  $2n=52$ .

Tabela 1 - Variação cromossômica em alguns gêneros de Platyrrhini (KOIFFMANN, 1977).

ESPÉCIE	2n	M	SM	A	X	Y
<i>Callicebus moloch</i>	46	04	16	24	sm	sm
<i>Callicebus torquatus</i>	20	-	10	10	?	?
<i>Aotus sp.</i>	49	22		25	mt	tr
<i>Aotus sp.</i>	54	20		32	mt	mt
<i>Cacajao rubicundus</i>	45	04	16	24	sm	?
<i>Cacajao melanocephalus</i>	45	-	24	30	sm	?
<i>Chiropotes satanas</i>	54	-	24	30	-	-
<i>Pithecia pithecia</i>	46	-	-	-	-	-
<i>Pithecia pithecia</i>	48	08	10	28	mt	mt
<i>Cebus apella</i>	54	06	14	32	sm	ac
<i>Cebus albifrons</i>	52	02	16	32	sm	ac
<i>Ateles belzebuth</i>	34	12	18	02	mt	ac
<i>Brachyteles arachnoides</i>	64	-	-	-	-	-
<i>Lagothrix lagotricha</i>	62	-	-	-	-	-

Tabela 2 - Variação cromossômica em *Alouatta* (MA et al., 1975; YUNIS et al., 1976; KOIFFMANN, 1977; MINEZAWA et al., 1985; ARMADA et al., 1987; LIMA et al., 1990; LIMA & SEUÀNEZ, 1991; MUDRY et al., 1992; STANYON et al., 1995).

ESPÉCIE				AUTOSSOMOS				SEXUAIS	
	*ma	*fe	2n	m	sm	a	**B	X	Y
<i>A. palliata</i>	-	01	54	-	-	-	-	-	-
<i>A. palliata</i>	-	10	54	04	18	30	-	sm	-
<i>A. palliata</i>	07	-	53	04	18	30	-	sm	***tr
<i>A. caraya</i>	02	-	52	04	16	30	-	sm	ac
<i>A. caraya</i>	10		52	04	16	30	-		ac
<i>A. caraya</i>	01	-	52	04	15	31	-	mt	ac
<i>A. fusca clamitans</i>	02	02	50	04	16	28	-	sm	ac
<i>A. fusca clamitans</i>	02	-	49	04	16	27	-	sm	?
<i>A. fusca clamitans</i>	01	-	49	04	16	27	-	sm	tr
<i>A. fusca clamitans</i>	01	-	48	05	14	26	-	sm	ac
<i>A. seniculus</i>	01	-	44	06	06	26	04	ac	mt
<i>A. seniculus</i>	18		44	06	06	26	04	ac	sm
<i>A. seniculus</i>	02		43	06	06	26	03	ac	sm
<i>A. seniculus</i>	01	-	45	06	06	26	05	ac	sm
<i>A. seniculus</i>	01	-	43	08	06	24	03	ac	sm
<i>A. seniculus sara</i>	33		48/51	?	?	28	01/03	sm	tr
<i>A. seniculus stramineus</i>	03	03	47/49	08	12	22	0103	X1X2	Y1Y2
<i>A. seniculus sara</i>	01	-	50	06	10	26	04	X1X2	Y1Y2
<i>A. seniculus arctoidea</i>	02	02	44-45	02	08	26	4-5	X1X2	Y1Y2
<i>A. s. macconnelli</i>	09		47-49	08	12	22	0103	X1X2	Y1Y2
<i>A. belzebul belzebul</i>	10	06	49-50	06	16	26	-	sm	tr
<i>A. belzebul nigerrima</i>	-	01	50	02	16	30	-	sm	-

\*ma=machos; fe=fêmeas;

\*\*B=microcromossomos;

\*\*\*tr=translocado

## 6. OBJETIVOS

Considerando-se os fatos expostos, pode-se notar que os estudos em primatas do Novo Mundo têm demonstrado grande variação cromossômica, decorrente de diferentes rearranjos estruturais, o que se deve ao provável fato de que este grupo ainda esteja em ativo processo de especiação.

A amostra analisada neste trabalho é proveniente de diversas partes do território brasileiro e da província de Corrientes, Argentina, e engloba indivíduos das espécies de ***Alouatta*** encontradas no Brasil e na Argentina. Apesar de interessantes achados citogenéticos terem sido feitos nesse gênero, os dados citogenéticos ainda não foram utilizados no esclarecimento da filogenia de ***Alouatta***, que continua praticamente desconhecida.

Tendo em vista essas considerações, os estudos citogenéticos realizados neste trabalho visam fornecer subsídios à elucidação de problemas citotaxonômicos e evolutivos do gênero ***Alouatta***, através dos seguintes passos:

1. Descrição dos cariótipos encontrados, estabelecendo seus padrões de bandas G, C e RON.
2. Análise da variabilidade cromossômica, caracterizando a distribuição geográfica das formas cromossômicas encontradas.
3. Análise das relações filogenéticas entre as espécies estudadas neste trabalho, bem como entre estas e aquelas descritas na literatura, através da aplicação de técnicas de taxonomia numérica aos dados citogenéticos.

## II. MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram analisados citologicamente 34 indivíduos pertencentes ao gênero *Alouatta*, sendo que 31 deles foram capturados no Brasil, correspondendo às quatro espécies aqui encontradas - *A. fusca*, *A. caraya*, *A. belzebul* e *A. seniculus* - e três indivíduos foram capturados na Argentina, sendo identificados como *Alouatta caraya*. Todos os espécimes foram classificados de acordo com a proposta taxonômica de HILL (1962), baseando-se na coloração e na origem de cada indivíduo. Além destes, um exemplar de *Cebus apella*, macho, mantido no Biotério da Universidade Federal do Pará, foi analisado citogeneticamente, sendo que seu carótipo foi utilizado na análise cladística como grupo externo.

A grande maioria dos animais que compõem a amostra são oriundos de cativeiro (tabela 3). Três espécimes classificados como *A. caraya* foram capturados com o auxílio de dardos com tranqüilizante exclusivamente para a coleta de amostra sangüínea, na província de Corrientes, Argentina. Após a coleta do material, foram devolvidos à natureza.

O material referente aos taxa *A. belzebul belzebul*, *A. seniculus stramineus* e *Alouatta seniculus macconneli* foi coletado no Centro Nacional de Primatas (Belém-PA), sendo gentilmente cedido pela equipe da Prof<sup>a</sup> Margarida M. C. de Lima (Laboratório de Citogenética, UFPA) e analisado no Laboratório de Citogenética Animal da UFPR.

Tabela 3 - Caracterização da amostra utilizada neste estudo.

ESPECIE	SEXO	PROTOCOLO	LOCAL DE COLETA	PROCEDÊNCIA
<i>A. fusca clamitans</i>	FEM	AL1	CBV	SC
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL2	PP	PR
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL3	PP	PR
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL4	PP	PR
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL5	CPRJ	RJ
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL6	CPRJ	RJ
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL7	CPRJ	RJ
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL10	RZ	ES
<i>A. fusca clamitans</i>	MASC	AL11	RZ	?
<i>A. fusca clamitans</i>	FEM	AL17	CBV	SC
<i>A. caraya</i>	FEM	AL8	CBV	SC
<i>A. caraya</i>	MASC	AL9	CBV	SC
<i>A. caraya</i>	FEM	AL12	RZ	?
<i>A. caraya</i>	FEM	AL13	RZ	SP
<i>A. caraya</i>	FEM	AL14	CBV	SP
<i>A. caraya</i>	FEM	AL15	CBV	?
<i>A. caraya</i>	FEM	AL16	CBV	?
<i>A. caraya</i>	MASC	AL18	CBV	SC
<i>A. caraya</i>	MASC	AL19	CAPRIM	CORR - ARG
<i>A. caraya</i>	MASC	AL20	CAPRIM	CORR - ARG
<i>A. caraya</i>	FEM	AL21	CAPRIM	CORR - ARG
<i>A. caraya</i>	FEM	AL22	CBV	SC
<i>A. belzebul belzebul</i>	MASC	AL23	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. belzebul belzebul</i>	MASC	AL24	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. belzebul belzebul</i>	MASC	AL25	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. belzebul belzebul</i>	FEM	AL26	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. belzebul belzebul</i>	FEM	AL27	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. belzebul belzebul</i>	FEM	AL28	UFPA	TUCURUI-PA
<i>A. seniculus macconelli</i>	MASC	AL29	UFPA	TROMB-PA
<i>A. seniculus macconelli</i>	MASC	AL30	UFPA	TROMB-PA
<i>A. seniculus macconelli</i>	FEM	AL31	UFPA	TROMB-PA
<i>A. seniculus macconelli</i>	FEM	AL32	UFPA	TROMB-PA
<i>A. seniculus stramineus</i>	MASC	AL33	UFPA	UATAMA-PA
<i>A. seniculus stramineus</i>	FEM	AL34	UFPA	UATAMA-PA
<i>Cebus apella</i>	MASC	CAP1	PP	?

FEM= Indivíduos do Sexo Feminino; MASC= Indivíduos do Sexo Masculino  
 BV = Criadouro Bela Vista; PP = Passeio Público de Curitiba; RZ = RioZoo;  
 CPRJ = Centro de Primatologia do Rio de Janeiro; CAPRIM = Centro Argentino de Primatas;  
 UFPA = Universidade Federal do Pará, Lab. de Citogenética;  
 CORR-ARG= Província de Comientes. Argentina; TROMB-PA= Trombetas, Pará;  
 ?=Procedência desconhecida

## 2. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

### ***Alouatta fusca***

Os dez macacos dessa espécie, sendo oito machos e duas fêmeas, foram identificados como pertencentes à subespécie ***A. f. clamitans***, sendo oriundos de diferentes instituições. Apresentavam como característica a cor avermelhada nos machos adultos (fig. 9a) e pardo-escura nos jovens e fêmeas (fig. 9b). As instituições nas quais os exemplares eram mantidos são:

**Centro de Primatologia do Rio de Janeiro** - três machos (provenientes do RJ)

**Passeio Público de Curitiba** - três machos (provenientes do PR)

**Refúgio Bela Vista, Itaipu Binacional** - duas fêmeas (provenientes de SC)

**Fundação Rio-Zoo** - dois machos (um provenientes do ES, e o outro de procedência desconhecida)

### ***Alouatta caraya***

Os doze exemplares dessa espécie, quatro machos e oito fêmeas, apresentaram o característico dimorfismo sexual, com as fêmeas pardo-amareladas (fig. 10a) e os machos pardo-escuros ou negros (fig. 10b). Foram coletados nas seguintes instituições:

**Fundação Rio-Zoo** - duas fêmeas (procedência desconhecida)

**Refúgio Bela Vista, Itaipu Binacional** - três machos (provenientes de SC) e cinco fêmeas (duas doadas pelo Zoológico de Ilha Solteira, SP, e três provenientes de SC)

**Centro Argentino de Primatas** - dois machos e uma fêmea (capturados na província de Corrientes, Argentina, e soltos após a coleta)



Figura 9 - Exemplos de *Alouatta fusca clamitans* : a - macho; b - fêmea.



Figura 10 - Exemplos de *Alouatta caraya*: a, fêmea com imaturo; b, macho.

### ***Alouatta belzebul***

O material correspondente a essa espécie foi coletado de seis animais, três machos e três fêmeas, classificados como ***Alouatta belzebul belzebul***, capturados próximos à Hidroelétrica de Tucuruí, PA. Os exemplares não apresentavam dimorfismo sexual quanto à cor da pelagem, que era totalmente negra ou negra com extremidades e terço final da cauda avermelhados (fig. 11).

### ***Alouatta seniculus***

Material proveniente de seis animais, três machos e três fêmeas, todos com o padrão de pelagem avermelhada (fig. 12). Quatro deles, identificados como ***Alouatta seniculus macconelli***, foram capturados próximos ao Rio Jari e ao Rio Trombetas (PA), ao passo que os demais, um casal, classificados como ***Alouatta seniculus stramineus***, eram provenientes das proximidades da hidroelétrica Balbina, situada na margem norte do Rio Uatamã.

## **3. MÉTODOS CITOGENÉTICOS**

### **3.1. COLETA DE SANGUE**

Amostras sangüíneas foram obtidas por punção de veia ou artéria femural de animais previamente anestesiados com Ketalar (10 mg/Kg de peso), usando-se sempre seringas descartáveis previamente heparinizadas em fluxo laminar.



Figura 11 - Exemplar de *Alouatta belzebul*.



Figura 12 - Exemplar de *Alouatta seniculus*.

As amostras coletadas em outras localidades eram sempre acondicionadas em gelo e transportadas ao Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal do Paraná (UFPR) ou remetidas para o Laboratório de Citogenética da Universidade Federal do Pará (UFPA).

### 3.2. CULTURA DE LINFÓCITOS

Para a obtenção de cromossomos metafásicos, utilizou-se o método clássico de cultura de linfócitos segundo MOORHEAD *et al.* (1960) com modificações, na seguinte seqüência:

1. Em fluxo laminar, adicionar 0,5 ml de sangue heparinizado em frascos de vidro contendo 5 ml de meio de cultura RPMI (Laborclin) enriquecido com soro bovino fetal inativado (Cultilab) à proporção de 20%, antibiótico (Garamicina, ROCHE) à proporção de 1% e 0,2 ml de fitohemaglutinina (Cultilab).
2. Incubar os frascos por 72 horas a 37°C em estufa.
3. Ao completar 71 horas, adicionar 0,04 ml de colchicina à concentração de  $4 \times 10^{-5}$ . Posteriormente, incubar os frascos por mais duas horas.
4. Transferir o conteúdo dos frascos para tubos de centrifuga.
5. Centrifugar o material a 1800 RPM por aproximadamente 5 minutos, descartando-se o sobrenadante. Acrescentar em seguida 5 ml de solução hipotônica (KCl 0,075 M). Depois de ressuspendido o material, incubar os tubos por 15 minutos em estufa a 37°C.

6. Após a hipotonização, adicionar 1 ml de fixador (metanol, ácido acético, 3:1).

Ressuspender o material e centrifugar novamente

7. Depois de descartado o sobrenadante, adicionar 5 ml de fixador, ressuspender o material e centrifugar em seguida. Repetir esse procedimento de três a quatro vezes.

8. Após a última centrifugação, desprezar o sobrenadante e adicionar 1 ml de fixador.

Ressuspender gentilmente o material e preparar as lâminas.

### **3.3. PREPARO DAS LÂMINAS**

As lâminas, após serem lavadas em detergente neutro, água corrente e água destilada, eram fervidas em solução de ácido clorídrico a 0,01 M e novamente lavadas em água destilada. Após isso, eram mantidas em geladeira, imersas em álcool (70%).

Na montagem, pingavam-se duas gotas do material, previamente ressuspendido, na lâmina ainda úmida. A lâmina era então flambada. Várias lâminas foram montadas para cada protocolo, destinadas a aplicação de diferentes técnicas de coloração. Depois de prontas, aquelas lâminas destinadas a técnicas de bandamento eram envelhecidas em estufa a 37°C por, no mínimo, três dias.

### **3.4. TÉCNICAS DE COLORAÇÃO**

#### **COLORAÇÃO CONVENCIONAL**

Para análise do número e morfologia cromossômica, foram analisadas metáfases coradas em solução de corante Giemsa, diluído em tampão fosfato pH 6.8 (0,2 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + 0,2 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) a 5%, durante 10 minutos, e a seguir lavadas com água destilada e secadas ao ar.

#### **BANDAMENTO CROMOSSÔMICO**

#### **BANDAMENTO G**

Para a identificação individual dos cromossomos e inferências sobre homeologias, utilizou-se a técnica de bandamento G, segundo SEABRIGHT (1971), com modificações, de acordo com os seguintes passos:

1. Incubar as lâminas, anteriormente envelhecidas, em solução tampão pH 6,8 à temperatura ambiente, por 5 minutos.
2. Mergulhar as lâminas em uma solução de 0,03% de tripsina (Difco, 1:250), preparada em tampão fosfato pH 6,8 por 10 a 20 segundos a 37°C, lavando-as imediatamente em água destilada, álcool absoluto e água destilada.
3. Corar as lâminas em Giemsa tamponado (pH 6.8) a 5% por 10 minutos.

## **BANDAMENTO C**

O método que foi utilizado para se evidenciar a localização da heterocromatina constitutiva baseia-se na técnica de SUMNER (1972), modificada segundo as etapas abaixo descritas:

1. Mergulhar as lâminas, após terem sido desidratadas na estufa por sete dias, em uma solução de hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), a 5% em banho-maria a 60-65°C, durante 10 a 20 segundos.
2. Lavar em água destilada e incubar em HCl a 0,2 N por 1 minuto.
3. Depois disso, lavar novamente as lâminas e incubar em seguida em solução salina de 2SSC (0,3 M NaCl + 0,03 M  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), pH 7,0 a 60-65°C por 60 minutos.

Lavar em água destilada e corar em Giemsa tamponado (pH 6,8) a 5% por 20 minutos.

## **BANDAMENTO RON**

A obtenção de bandas RON processou-se segundo o método descrito por HOWELL & BLACK (1980), com adaptações, através dos seguintes procedimentos:

1. Utilizar lâminas desidratadas por, pelo menos, uma semana.
2. Gotejar sobre o material uma parte de solução coloidal a 5% de gelatina Ötker para duas de prata a 50% e adicionar uma gota de formalina a 1% para cada ml de solução de prata.
3. Misturar bem e cobrir com lamínula.

4. Incubar em câmara úmida mantida a 70°C, por 8 a 15 minutos, até que apareça uma coloração castanho-dourada.
5. Lavar rapidamente em água destilada e corar em Giemsa tamponado (pH 6,8) a 2% por 1 minuto.

#### **4. ANÁLISE CROMOSSÔMICA**

##### **4.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL**

Para o estabelecimento do número diplóide, do número de braços autossômicos (NA) e da morfologia cromossômica de cada animal, foram analisadas em média 25 metáfases em coloração convencional. Destas, foram fotografadas as três ou cinco melhores para a montagem do cariograma, seguindo-se os modelos já estabelecidos na literatura, baseados no tamanho e posição do centrômero.

##### **4.2. ANÁLISES DAS BANDAS**

As melhores metáfases, em torno de cinco, com bandas G, foram selecionadas e fotografadas. O padrão de bandas G foi determinado para cada espécie considerando-se o padrão de cada indivíduo, assim como local de origem destes, quando era o caso. Para análise de banda C, procedeu-se de modo semelhante.

### 4.3. ANÁLISE DAS RONS

No que se refere às RONS, foram determinados o número, o tipo e a posição das mesmas em dez células de cada animal, segundo a seguinte discriminação (SBALQUEIRO, 1989):

- a. identificação dos cromossomos com RONS;
- b. número de cromossomos com RON;
- c. posição da RON - telomérica em p, telomérica em q, centromérica, intersticial em p ou intersticial em q;
- d. tipo de RON - simples, dupla ou conjugada.

### 4.4. FOTOMICROGRAFIAS

As células selecionadas foram fotografadas em microscópio Carl Zeiss, objetiva 100 de imersão, optovar 1,25 em filtro verde. O filme empregado foi AGFA COPEX PAN (Agfa Gevaert), e para a revelação utilizou-se D-72 (Kodak) diluído em água à proporção de 1:3, à 20°C, por 8 minutos e fixador diluído à proporção de 1:1 por 6 minutos.

As cópias das fotos foram feitas em papel Kodak F-3 esmaltado e reveladas em Dektol diluído em água (1:3).

#### **4.5. MONTAGEM DOS CARIOGRAMAS**

Os cariógramas representativos do cariótipos das espécies em estudo foram montados levando-se em conta a morfologia dos cromossomos (acrocêntricos, submetacêntricos ou metacêntricos), seu o tamanho e seu padrão de bandamento. A caracterização morfológica foi baseada na posição dos centrômeros.

#### **5. ESTUDO CLADÍSTICO**

Para a análise dos caracteres e interpretação dos resultados utilizou-se os princípios conceituais e metodológicos da sistemática filogenética como proposta por HENNIG (1965) e explicitada de um modo geral por NAPP (1990). A metodologia foi adaptada aos dados citogenéticos.

##### **5.1. MÉTODOS CLADÍSTICOS NUMÉRICOS**

Para a realização das análises utilizamos métodos cladísticos numéricos baseados no critério de parcimônia. Esse método foi proposto por KLUGE & FARRIS (1969) com base em WAGNER (1961, cf. NAPP, 1990). FARRIS (1970) matematizou a técnica para o que se conhece atualmente como “árvore de Wagner”.

A partir de 1980 ocorreu um grande desenvolvimento na eficácia e eficiência dos algoritmos computadorizados para o cálculo das “árvores de Wagner”, introduzindo uma série de possibilidades para obtenção de soluções mais parcimoniosas; manejo de dados faltantes; retenção de várias soluções igualmente parcimoniosas; opções que aumentam as possibilidades de se encontrarem soluções mais curtas em matrizes grandes (“branch swapping”), e outras (SWOFFORD, 1985).

Por esses métodos, entre todas as soluções possíveis, é indicada a mais curta e a mais parcimoniosa. Segundo NAPP (1990), não há restrições quanto às mudanças que os caracteres ou estados de caracteres possam sofrer (critério de parcimônia de Wagner), podendo os mesmos ocorrerem mais de uma vez, independentemente, ou reverterem para estados mais primitivos. A solução mais curta indicada estará, igualmente, minimizando o número de passos extra, as homoplasias e reversões (SWOFFORD, 1985).

Com a aplicação da análise pelo método de parcimônia no estudo cladístico, pretendeu-se inferir as relações de parentesco entre as diferentes espécies de *Alouatta*, fundamentadas nos estados dos cromossomos, bem como tentou-se identificar os rearranjos preponderantes nas divergências entre os taxa. Para isso, usou-se o programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony), que utiliza o método algorítmico para maximizar o critério de otimização da árvore resultante. Os nós da árvore resultante não correspondem, necessariamente, a todos os taxa que a compõem: alguns são puramente artificiais e servem para minimizar o comprimento da árvore (FARRIS, 1970). No ponto inicial, a árvore contém apenas o ancestral, hipotético ou não, e, em seqüência, os taxa de menores distâncias (maiores similaridades) vão sendo agrupadas progressivamente até a inclusão de todas elas.

O cladograma resultante, dentre as várias possibilidades alternativas contidas no programa PAUP, corresponde àquela de menor comprimento, ou seja, é a mais parcimoniosa (CAMIN & SOKAL, 1965) - de melhor estimativa da filogenia. Em sua obtenção, foram utilizadas as seguintes opções: **swap=global** (analisa todas as possibilidades de árvores); **option=deltran** (especifica o algoritmo a ser usado na otimização de ancestrais hipotéticos (HTUs) na árvore final), **root=ancestor** (utiliza o

táxon considerado ancestral para enraizar a árvore resultante) ; **apomorphic list** (fornece o estado apomórfico dos caracteres); **change list** (fornece a lista de modificações sofridas por cada caráter).

## 5.2 POLARIZAÇÃO

Os principais objetivos da sistemática filogenética consistem, basicamente, no reconhecimento de grupos monofiléticos e na interpretação dos padrões de parentesco (NAPP, 1990). Portanto, é de fundamental importância na metodologia cladística o reconhecimento de sinapomorfias (compartilhamento de caracteres ou estados de caracteres derivados) considerando que apenas estas são evidências válidas para justificar grupos monofiléticos. Isso implica na correta polarização dos caracteres. Caso contrário, estaríamos estabelecendo agrupamentos não naturais com base em simplesiomorfias. Entre os diversos critérios auxiliares para o reconhecimento de homologies, o de comparação com o grupo externo (WATHROUS & WHEELER, 1981) é um dos que tem sido mais usados e melhor justificados com base metodológica da parcimônia (NELSON, 1973; NELSON & PLATNICK, 1981; MADDISON, 1984). Este método foi adaptado aos dados citogenéticos (o padrão de bandamento G dos braços cromossômicos como caracteres) e usado na formulação de uma hipótese filogenética para ***Alouatta*** no presente trabalho. O cariótipo de ***Chiropotes satanas*** (SEUÁNEZ et al., 1992) e de ***Cebus apella*** foram usados na análise como grupos externos, pelo fato de serem dicotômicos com ***Alouatta***, já que a subfamília de ***Chiropotes*** (Pitheciinae) é considerada pela maioria das propostas atuais como grupo-irmão de Atelidae, família que engloba ***Alouatta***, enquanto ***Cebus apella*** apresenta um dos cariótipos mais

conservados dentro de *Platyrrhini*.

O uso de um grupo com o cariótipo mais modificado implicaria em um grande número de caracteres não comparáveis, o que pouco ajudaria na elucidação das relações de parentesco entre as espécies e subespécies de ***Alouatta***. Considerando esse fato, a classificação do estado dos caracteres (primitivos ou derivados) nos vários taxa, foi orientada pelo conjunto de caracteres presentes no cariótipo ancestral dos *Platyrrhini*, de acordo com DUTRILLAUX & COUTURIER(1981) e DUTRILLAUX (1988b). Nessa comparação, levou-se em consideração as correspondências feitas pelos autores entre os cromossomos do ancestral hipotético e cromossomos de quatro espécies de *Platyrrhini* em bandamento G: ***Cebus capuccinus***, ***Saimiri sciureus***, ***Callithrix jacchus*** e ***Aotus trivirgatus***.

### 5.3. ANÁLISES

Apenas uma análise foi realizada, utilizando como caracteres os braços cromossômicos, diferenciados pelo bandamento G. As comparações, tanto dentro das espécies como entre as espécies, foram feitas entre todos os braços, como se todos os cariótipos analisados fossem constituídos de cromossomos acrocêntricos. Aqueles segmentos cromossômicos de ***Alouatta*** não identificados no cariótipo ancestral foram descartados da análise. Este procedimento foi adotado por permitir uma análise mais adequada das homeologias dos diferentes segmentos cromossômicos.

Na tabela 4, encontram-se discriminadas as dez espécies e subespécies analisadas, com seus respectivos  $2n$  e NA. Essas correspondem a cinco espécies de ***Alouatta***, duas das quais com duas subespécies (***A. belzebul*** e ***A.***

*fusca*), uma de Cebinae (*Cebus apella*) e uma de Pitheciinae (*Chiropotes satanas*), além do ancestral hipotético.

O padrão representativo das bandas cromossômicas de cada uma das espécies e subespécies de nossa amostra foi estabelecido através da comparação de pelo menos cinco metáfases, inicialmente em cada indivíduo e, posteriormente, estendendo-se ao conjunto de indivíduos daquele grupo.

Na tentativa de se definir os segmentos cromossômicos compartilhados ou não pelos diferentes taxa, comparamos entre si os cariótipos bandados representativos de todos eles e organizamos uma tabela com os achados obtidos. As análises, tanto dos taxa da amostra como desses com aqueles da literatura, foram realizadas não se levando em conta os valores do  $2n$ , do NA, já que estes não se mostraram capazes de influenciar na análise proposta, pela grande semelhança existente entre os mesmos em *Alouatta*. Além disso, aqueles segmentos cromossômicos não identificados no cariótipo ancestral também não foram incluídos na análise. Desta forma, 33 caracteres foram selecionados para polarização e construção do cladograma.

Após as comparações e organização dos achados em uma tabela, atribuímos o valor zero ao estado primitivo dos caracteres primitivos; 1 e 2 aos estados derivados, e 9 ao estado não-comparável.

As nove espécies e subespécies analisadas são discriminadas na tabela 4. As três letras em parênteses após o nome de cada espécie, correspondem ao código utilizado na elaboração do cladograma, aceitando-se as sugestões da Conferência de Paris (1971), Suplemento (1975), correspondendo à inicial do gênero e as duas primeiras letras da espécie. Para diferenciar os diferentes citótipos de

***Alouatta fusca***, consideramos cada complemento diplóide analisado como um táxon distinto, denominados AFU1 ( $2n=49$ ) e AFU2 ( $2n=45$  e  $46$ ). Pode-se notar que o código referente a essa espécie apresenta, além das três letras, um número relacionado com um determinado cariótipo. Já em ***Alouatta belzebul***, foram utilizadas a primeira letra do gênero e as duas primeiras da subespécie, devido ao fato de que ***A. belzebul belzebul*** e ***A. belzebul nigerrima*** apresentam diferentes cariótipos. Quanto a ***Alouatta seniculus***, apenas um táxon foi utilizado para agrupar as duas subespécies analisadas, já que estas apresentaram cariótipos idênticos.

Tabela 4- Discriminação das espécies e subespécies utilizadas na análise cladística.

O ancestral hipotético dos Platyrrhini não se encontra listado abaixo.

TÁXON	2n*	SIGLA	AUTORES
<i>Alouatta f. clamitans</i>	49/50	AFU1	Presente trabalho
<i>Alouatta f. clamitans</i>	45/46	AFU2	Presente trabalho
<i>Alouatta caraya</i>	52	ACA	Presente trabalho
<i>Alouatta seniculus macconelli</i> & <i>A. s. stramineus</i>	46 a 49	ASE	Presente trabalho
<i>Alouatta b. belzebul</i>	49/50	ABB	Presente trabalho
<i>Alouatta b. nigerrima</i>	50	ABN	Armada <i>et al.</i> , 1987
<i>Alouatta palliata</i>	54	APA	Ma <i>et al.</i> , 1975
<i>Cebus apella</i>	54	CAP	Presente trabalho
<i>Chiropotes satanas</i>	54	CSA	Seuànez <i>et al.</i> , 1989

\*2n= número diplóide

Obs. O cariótipo de *Alouatta fusca clamitans* com 52 cromossomos não foi incluído na análise cladística por não termos obtido um bom padrão de bandamento G para utilizar nas comparações.

### III. RESULTADOS

#### 1. CARACTERIZAÇÃO DO CARIÓTIPO

##### 1.1. *Alouatta fusca*

Foram estudados citogeneticamente 10 animais da subespécie *A. f. clamitans*. Foram observados quatro diferentes números diplóides ( $2n$ ), com três número de braços autossômicos distintos (NA):  $2n=45$  e  $46(NA=64)$ ,  $2n=49$  (NA=60) e  $2n= 52$  (NA=72) em um total de aproximadamente 250 metáfases (tabela 4). O X era submetacêntrico e o Y acrocêntrico em um macho . Nos restantes (08), o cromossomo Y encontrava-se translocado com um autossomo (tabela 5).

##### 1.1.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL

No único macho do Espírito Santo, com  $2n=52$ , foram observados 11 pares de cromossomos de dois braços (4 metacêntricos, 7 submetacêntricos) e 14 pares de acrocêntricos (fig. 13). O X era submetacêntrico e o Y acrocêntrico. Nos quatro machos que apresentaram  $2n=49$  (três dos quais originários do Rio de Janeiro e o quarto de procedência desconhecida, mas aparentemente também do mesmo Estado, por apresentar o cariótipo semelhante aos três anteriores e por encontrar-se em cativeiro na Fundação Rio-Zoo) observaram-se 17 cromossomos de dois braços, além de 16 pares de cromossomos acrocêntricos (fig. 14 ).

Tabela 5 - Caracterização do cariótipo dos espécimes de *A. fusca* de nossa amostra

					AUTOSSOMOS			SEXUAIS		
PROC	2n=	PROT	SEXO	NA	M	SM	A	X*	X <sub>2</sub>	Y
ES	52	AL10	MASC	72	10	12	28	SM	-	AC
RJ	49	AL5	MASC	60	04	10	24	SM	SM	SM
RJ	49	AL6	MASC	60	04	10	24	SM	SM	SM
RJ	49	AL7	MASC	60	04	10	24	SM	SM	SM
RJ?	49	AL11	MASC	60	04	10	24	SM	SM	SM
SC	46	AL1	FEM	64	10	12	20	SM	SM	-
SC	46	AL17	FEM	64	10	12	20	SM	SM	-
PR	45	AL4	MASC	64	10	12	20	SM	SM	SM
PR	45	AL2	MASC	64	10	12	20	SM	SM	SM
PR	45	AL3	MASC	64	10	12	20	SM	SM	SM

PROT=Protocolo; FEM=feminino; MASC=masculino; PROC=procedência; 2n=número diplóide; NA=número de braços autossômicos; X\*=morfologia do cromossomo X ou X<sub>1</sub>; X<sub>2</sub>=morfologia do X<sub>2</sub>; Y=morfologia do cromossomo Y.

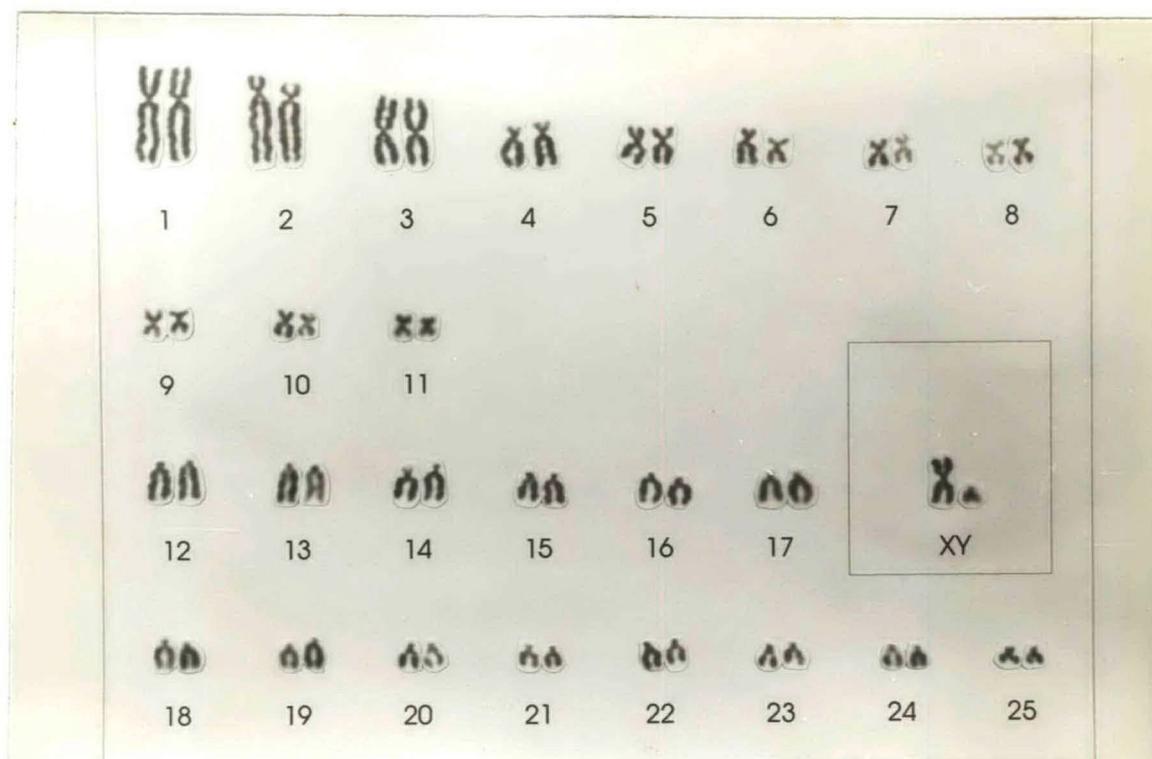


Figura 13 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*, 2n=52, macho, em coloração convencional.

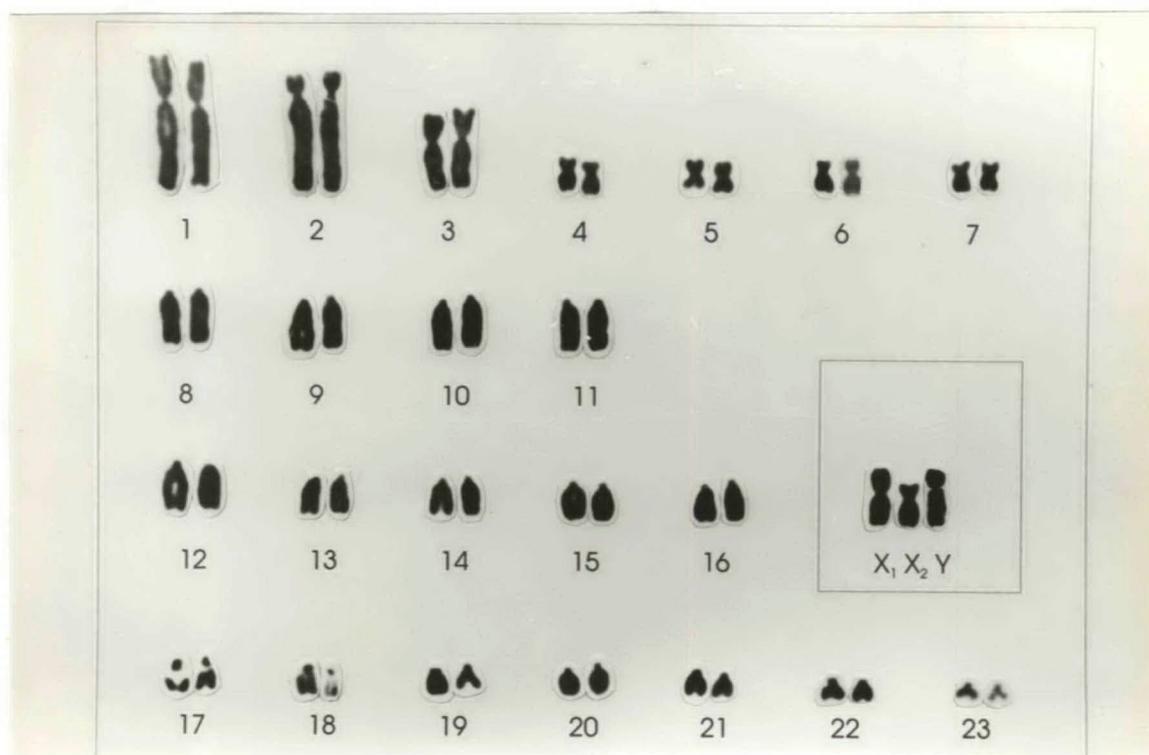


Figura 14 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=49$ , macho, em coloração convencional.

Dos cromossomos de dois braços observados, três apresentaram-se ímpares. De acordo com a literatura, o maior desses cromossomos corresponde ao cromossomo X, identificado aqui como  $X_1$ , e os outros dois a um par heteromórfico. Esse heteromorfismo seria resultado da translocação com o cromossomo Y, aparentemente ausente. O maior deles, portador do cromossomo Y, é identificado como  $Y_1$ , e o menor como  $X_2$ , devido ao seu comportamento meiótico. A hipótese de translocação foi posteriormente confirmada pelo bandamento G. Além disso, observou-se a presença de constrições secundárias nos pares 17 e 18.

O complemento cromossômico das fêmeas procedentes de Santa Catarina ( $2n=46$ ) é formado por 12 pares de cromossomos de dois braços, sendo 6 metacêntricos e 6 submetacêntricos, e 10 pares de acrocêntricos. O X é submetacêntrico. Nos machos com  $2n=45$ , oriundos do Paraná, foram observados 6 pares de metacêntricos, 6 submetacêntricos e 10 pares de acrocêntricos, além de 3 cromossomos não pareados. (fig. 15). Nesses machos, a origem dos cromossomos sexuais seguiu um mecanismo semelhante àquele descrito para  $2n=49$ , com três cromossomos submetacêntricos não pareados, o menor dos quais correspondendo ao X, e os restantes, ao par envolvido na translocação Y-autossomo.

### 1.1.2. BANDAS G

Através do bandamento G, foi possível a identificação de todos os pares dos citótipos  $2n=45$ , 46 e 49 (fig. 16 e 17). Em destaque, o cromossomo  $X_1$  apresentou o padrão característico dos X da ordem Primates. O padrão do cromossomo Y não pôde ser definido no único macho com  $2n=52$ .

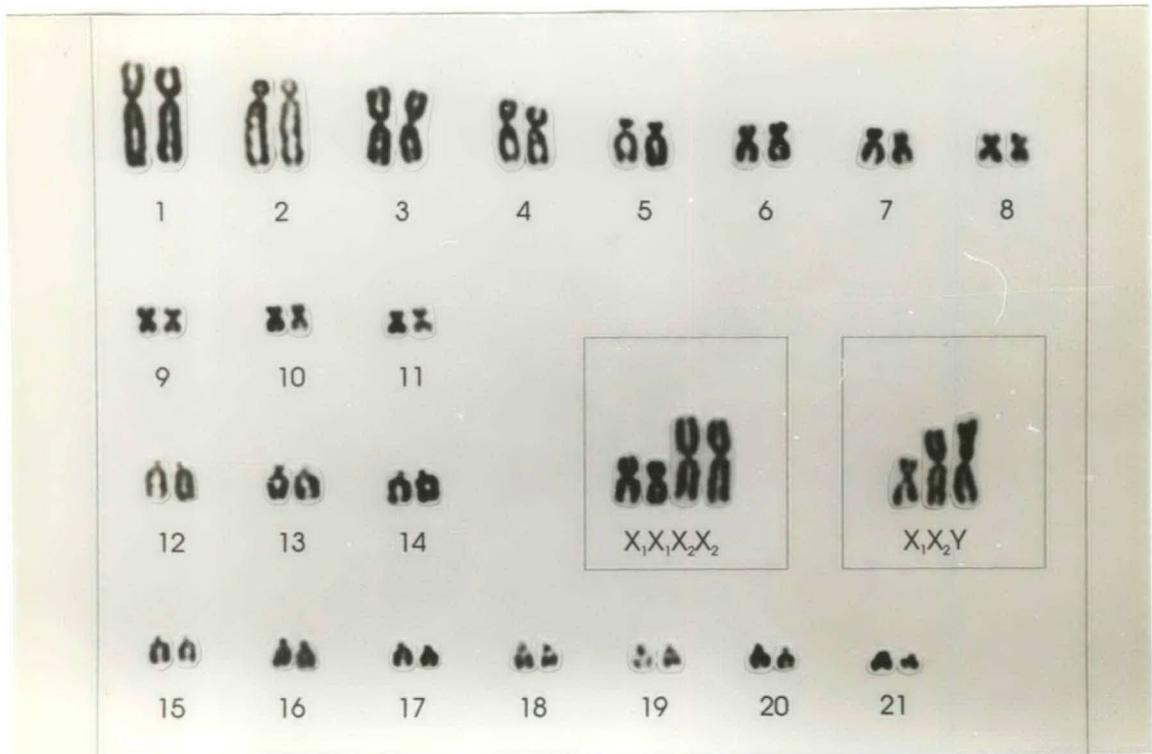


Figura 15 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=45/46$ , em coloração convencional.

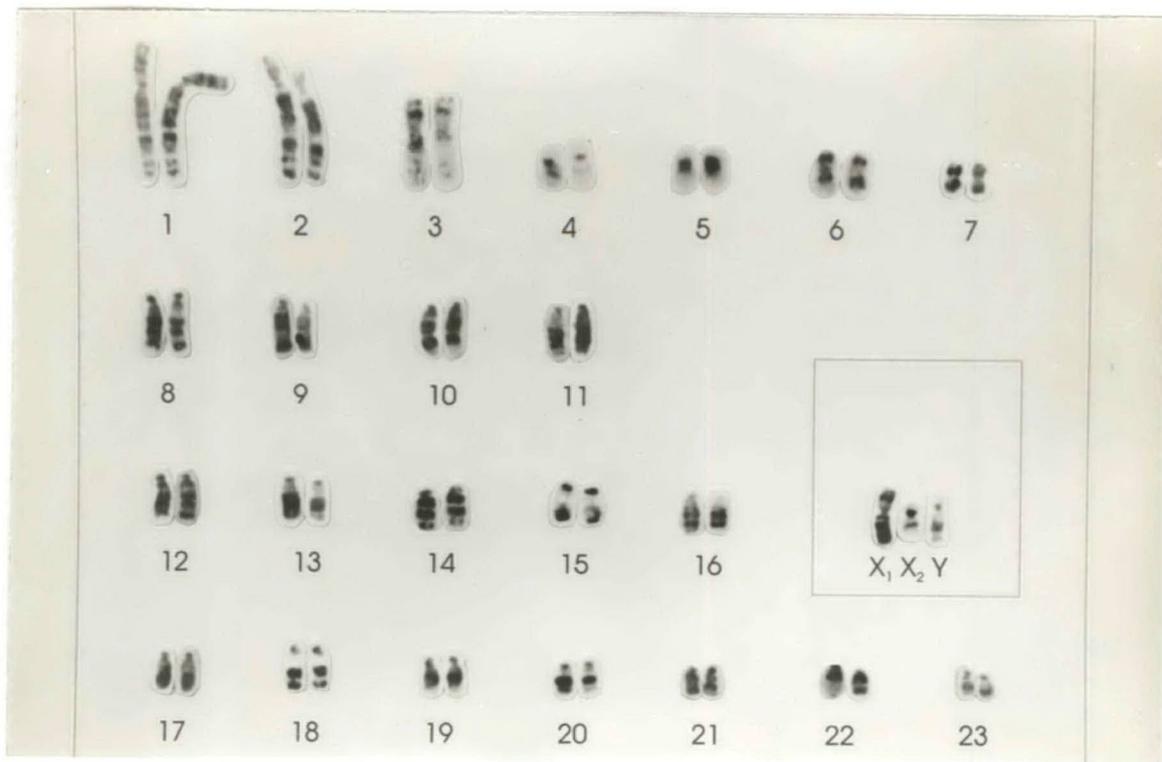


Figura 16 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*, 2n=49, macho, em bandamento G.

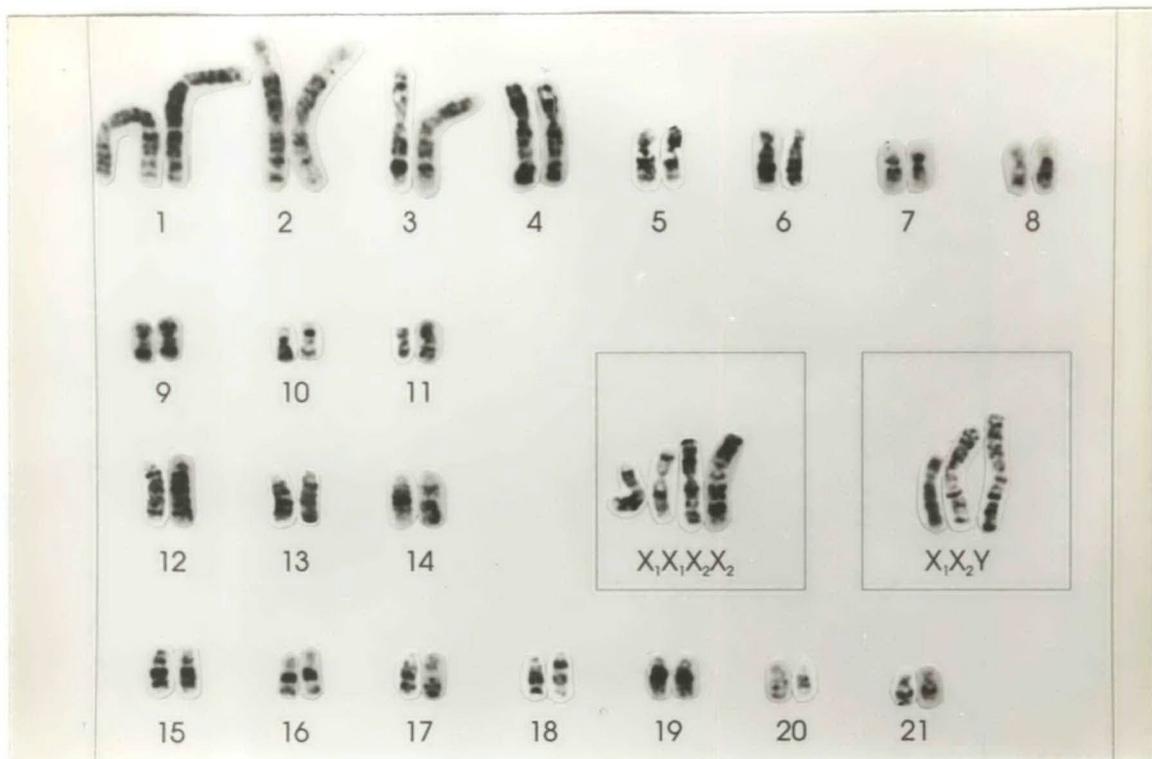
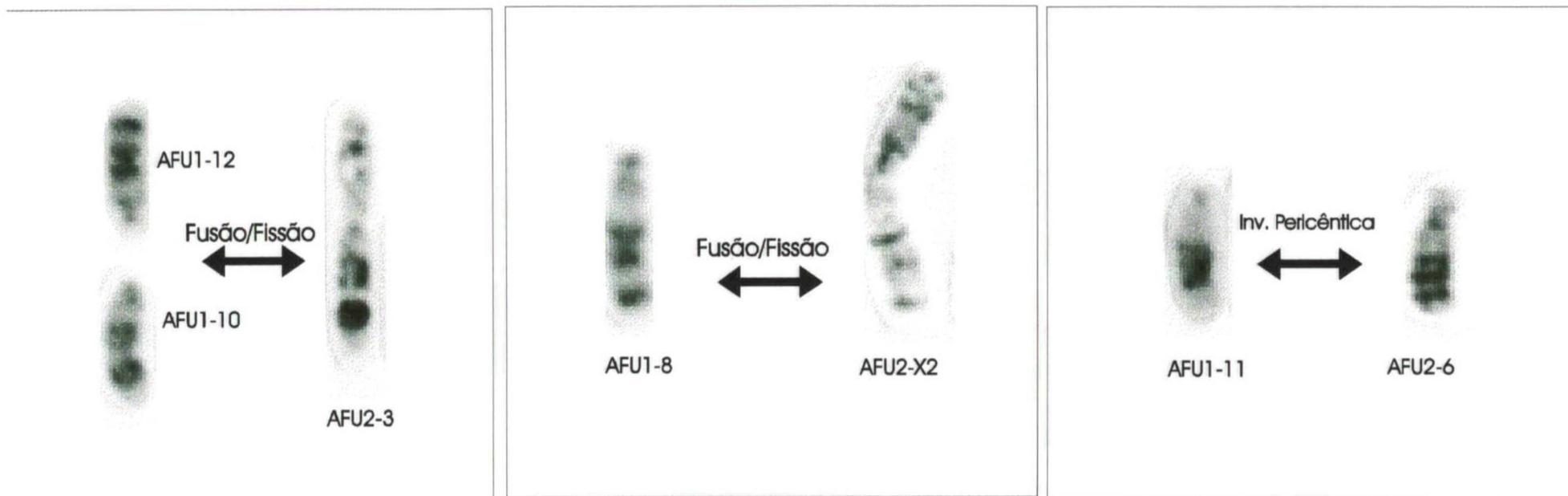


Figura 17 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=45/46$ , em bandamento G.

O emprego dessa técnica permitiu a observação de homologias entre a maioria dos pares cromossômicos presentes nos diferentes citótipos, assim como a identificação dos rearranjos estruturais que originaram as diferenças observadas entre os cariótipos de indivíduos coletados em diferentes áreas geográficas (fig. 18 a , b e c). Desta forma, os cromossomos 10 e 12 de  $2n=49$  são homólogos aos braços curto e longo do par 3 de  $2n=45$  e 46, respectivamente (fig. 18a). O par 8 do cariótipo com 49 cromossomos apresenta o mesmo padrão de bandas G observado no braço longo do cromossomo  $X_2$  de  $2n=45$  e 46 (fig. 18b). O par 11 de  $2n=49$  e o par 6 de  $2n=45$  e 46 apresentam o mesmo padrão de bandas no braço longo e diferenciado-se através de uma inversão pericêntrica (fig. 18c).

Um par de cromossomos submetacêntricos, de tamanho entre os pares 4 e 5 em  $2n=49$ , correspondente ao par 10 em  $2n=45$ , e um par de submetacêntricos de tamanho intermediário entre os pares 2 e 3 em  $2n=45$ , apresentaram-se heteromórficos em todos os indivíduos com esses números diplóides (machos), confirmando que a aparente ausência do cromossomo Y se deva a uma translocação entre este e os pares citados. Pelo padrão de bandas observado no cromossomo maior do par heteromórfico associado ao padrão de bandas do cromossomo Y de machos de *A. fusca clamitans* provenientes de São Paulo (KOIFFMANN, 1977), houve, em ambos os citótipos, uma translocação entre o Y e um autossomo ( o braço longo do cromossomo submetacêntrico em  $2n=49$  e o braço curto do cromossomo submetacêntrico de  $2n=45$ ). Ao que parece, observamos aqui um evento raro ocorrendo independentemente e envolvendo cromossomos diferentes, o que é de se estranhar em uma mesma espécie.



**Figura 18 - Rearranjos observados entre os dois citótipos de *Alouatta fusca clāmītans*: AFU1 - 2n=49; AFU2 - 2n=45/46.**

### 1.1.3. BANDAS C

Nos quatro diferentes citótipos observados em *A. fusca*, os segmentos de heterocromatina constitutiva distribuem-se preferencialmente na região pericentromérica (fig. 19, 20 e 21).

Dois cromossomos, identificados como pares 2 e 23 em  $2n=52$  (fig. 19), 2 e 17 em  $2n=49$  (fig. 20) , e 2 e 15 em  $2n=45$  e 46 (fig. 21), apresentam, respectivamente, segmento telomérico no braço curto e segmento intercalar no braço longo, corroborando com a homologia observada entre esses pares dos diferentes citótipos através de bandamento G. Os segmentos teloméricos observados apresentaram variação em seu tamanho tanto interindividual como entre os homólogos de um mesmo indivíduo (fig. 19, par 2).

Dos cromossomos sexuais, o X apresenta heterocromatina constitutiva apenas na região pericentromérica, assim como o Y no complemento do macho com  $2n=52$ . Desta forma, devido à pouca quantidade de heterocromatina constitutiva observada no Y, essa técnica não pôde esclarecer o processo de translocação envolvendo o esse cromossomo.

### 1.1.4. BANDAS RON

Quatro pequenos pares de cromossomos acrocêntricos marcaram-se com o nitrato de prata em 89% das 50 metáfases analisadas de 7 dos 10 animais da amostra (fig. 22a e 22b). Nos restantes 11% , correspondentes a 5 metáfases, o número de cromossomos marcados variou de 2 (em duas metáfases) a 3 (em três metáfases).

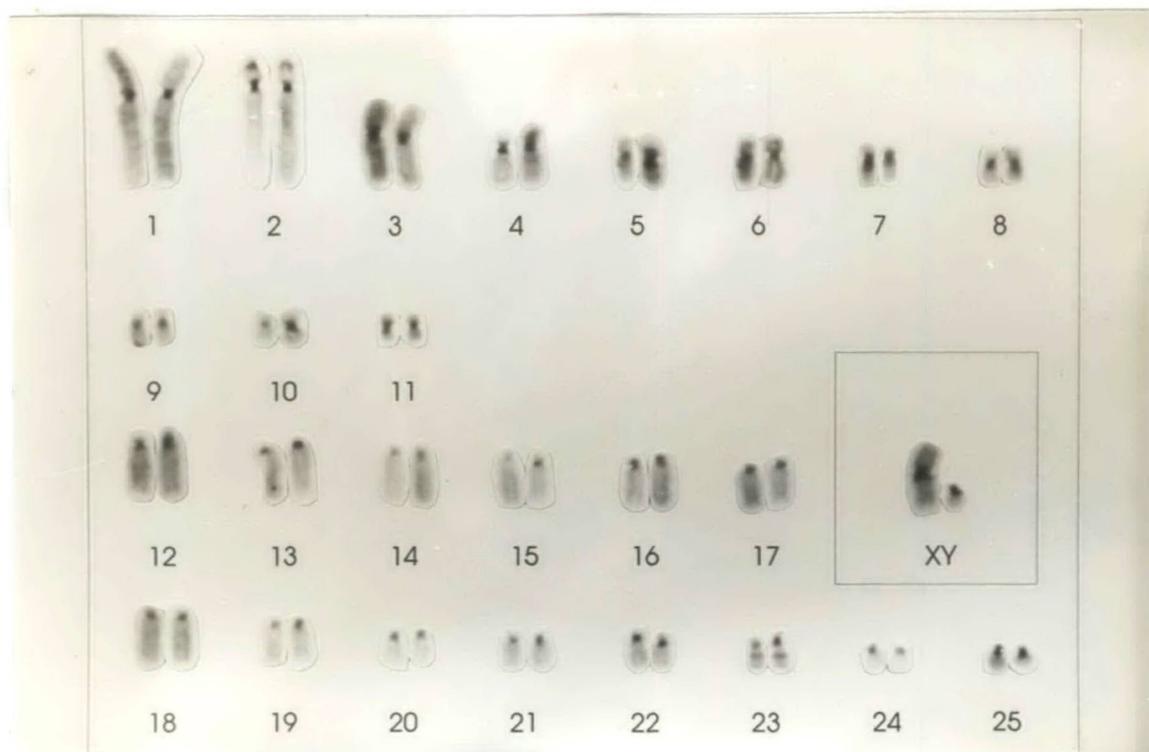


Figura 19 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=52$ , macho, em bandamento C.

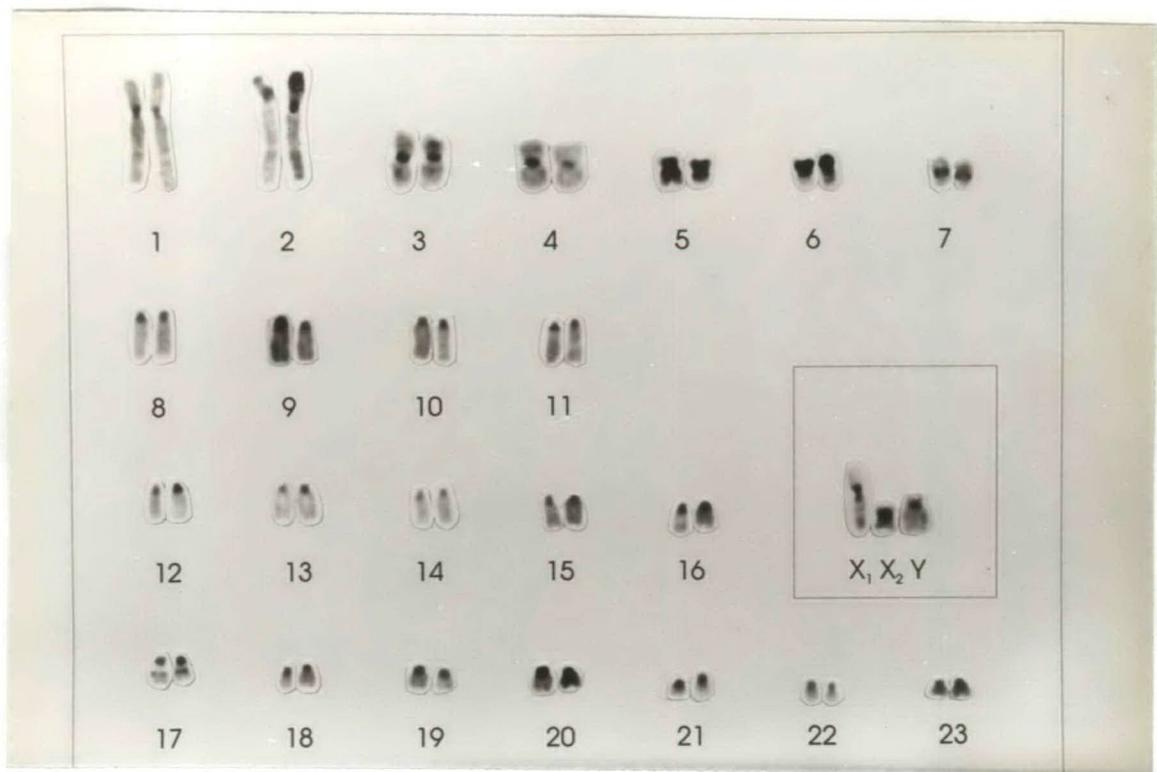


Figura 20 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*, 2n=49, macho, em bandamento C.

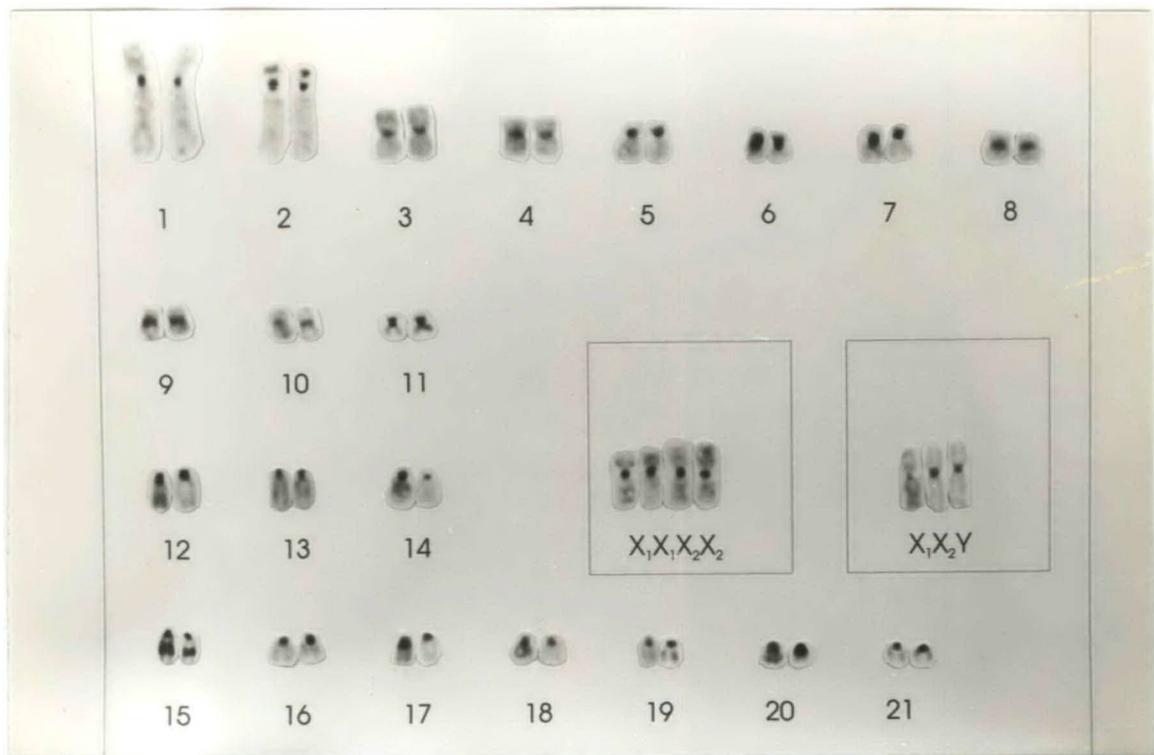


Figura 21 - Cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=45/46$ , em bandamento C.

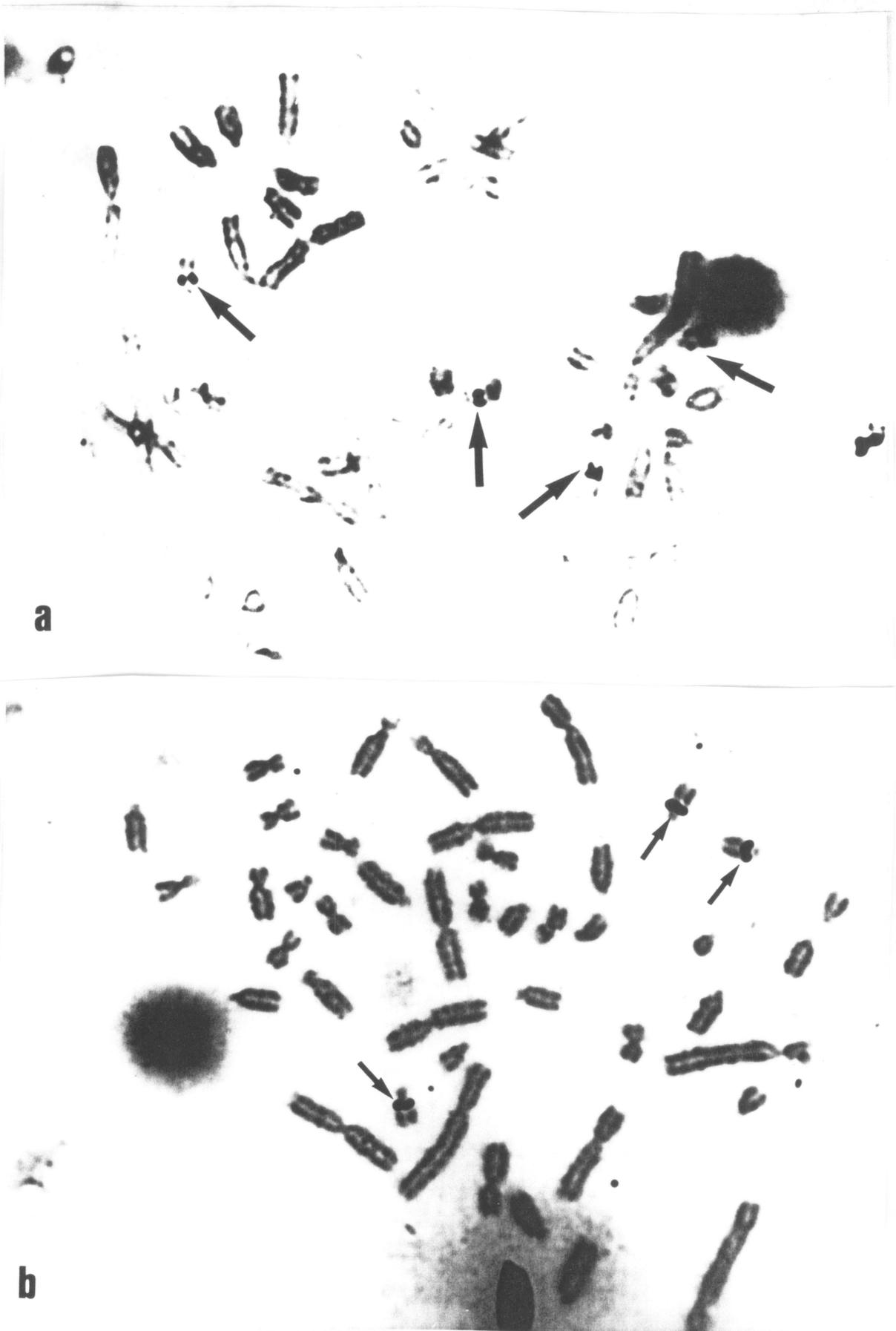


Figura 22 - Regiões organizadoras de nucléolo no cariótipo de *Alouatta fusca clamitans*: a: 2n=49, b: 2n=45/46

As regiões organizadoras de nucléolo localizam-se na região mediana do braço longo de todos os cromossomos marcados, sendo do tipo duplo ou conjugado na maioria das metáfases analisadas.

## **1.2. *Alouatta caraya***

Foram estudados cromossomicamente 12 animais de diferentes localidades (tabela 6), tendo sido analisadas aproximadamente 250 metáfases. Enquanto o número diplóide manteve-se constante em todos os espécimes analisados, igual a 52, o número de braços autossômicos (NA) apresentou variação, sendo 70 em 11 dos animais analisados e 68 em uma fêmea procedente de Santa Catarina, homozigota para uma inversão pericêntrica.

Os cromossomos sexuais são formados por um X submetacêntrico, enquanto o Y apresentou-se acrocêntrico em três machos (NF=73) e metacêntrico em um macho de Santa Catarina (NF=74), devido a uma inversão pericêntrica.

### **1.2.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL**

O cariótipo de *Alouatta caraya* é formado por 52 cromossomos, sendo que em 11 exemplares os autossomos são formados por 6 metacêntricos, 14 submetacêntricos e 30 acrocêntricos (fig. 23), enquanto que em uma fêmea de Santa Catarina houve uma redução no número de submetacêntricos (14), com conseguinte aumento de acrocêntricos (32), devido a uma inversão pericêntrica. Os pares 20 e 21 apresentam constrições secundárias no terço proximal do braço longo.

Tabela 6 - Caracterização do cariótipo dos espécimes de *A. caraya* de nossa amostra.

					AUTOSSOMOS			SEXUAIS	
PROC	SEXO	PROT	2n	NA	M	SM	A	X	Y
SC	FEM	AL8	52	70	06	14	30	SM	-
SC	MASC	AL9	52	70	06	14	30	SM	ME
?	FEM	AL12	52	70	06	14	30	SM	-
SP	FEM	AL13	52	70	06	14	30	SM	-
SP	FEM	AL14	52	70	06	14	30	SM	-
?	FEM	AL15	52	70	06	14	30	SM	-
?	FEM	AL16	52	70	06	14	30	SM	-
SC	MASC	AL18	52	70	06	14	30	SM	AC
CORR-ARG	MASC	AL19	52	70	06	14	30	SM	AC
CORR-ARG	MASC	AL20	52	70	06	14	30	SM	AC
CORR-ARG	FEM	AL21	52	70	06	14	30	SM	-
SC	FEM	AL22	52	68	06	12	32	SM	-

PROT=Protocolo; FEM=feminino; MASC=masculino; PROC=procedência; NA= número de braços autossômicos.

### 1.2.2. BANDAS G

Pelo padrão de bandas G nos 12 animais, identificaram-se todos os pares cromossômicos (fig. 24), incluindo o 8, homozigoto e submetacêntrico em 11 exemplares e homozigoto acrocêntrico em uma fêmea. Na figura 25, pode-se notar que uma inversão pericêntrica é responsável pela mudança morfológica no par 8 desse indivíduo.

No cromossomo X observou-se o mesmo padrão descrito para *A. fusca*, com uma banda positiva na região mediana do braço curto e outras duas no braço longo. O cromossomo Y apresentou uma banda escura próxima ao centrômero e outra próxima à região telomérica, na forma acrocêntrica, enquanto na forma metacêntrica apresentou banda escura telomérica e outra centromérica, o que confirma a hipótese de que essas formas se diferenciaram através de uma inversão pericêntrica.

### 1.2.3. BANDAS C

A heterocromatina constitutiva distribuiu-se pericentromericamente tanto nos cromossomos autossomos como no par sexual (fig. 26).

Observou-se que o cromossomo Y apresentou apenas um pequeno segmento heterocromático na região pericentromérica em ambas as suas formas.

### 1.3.4. BANDAS RON

Na figura 27, observa-se o cariótipo de *A. caraya* em bandamento RON. Quatro cromossomos acrocêntricos apresentaram-se marcados.

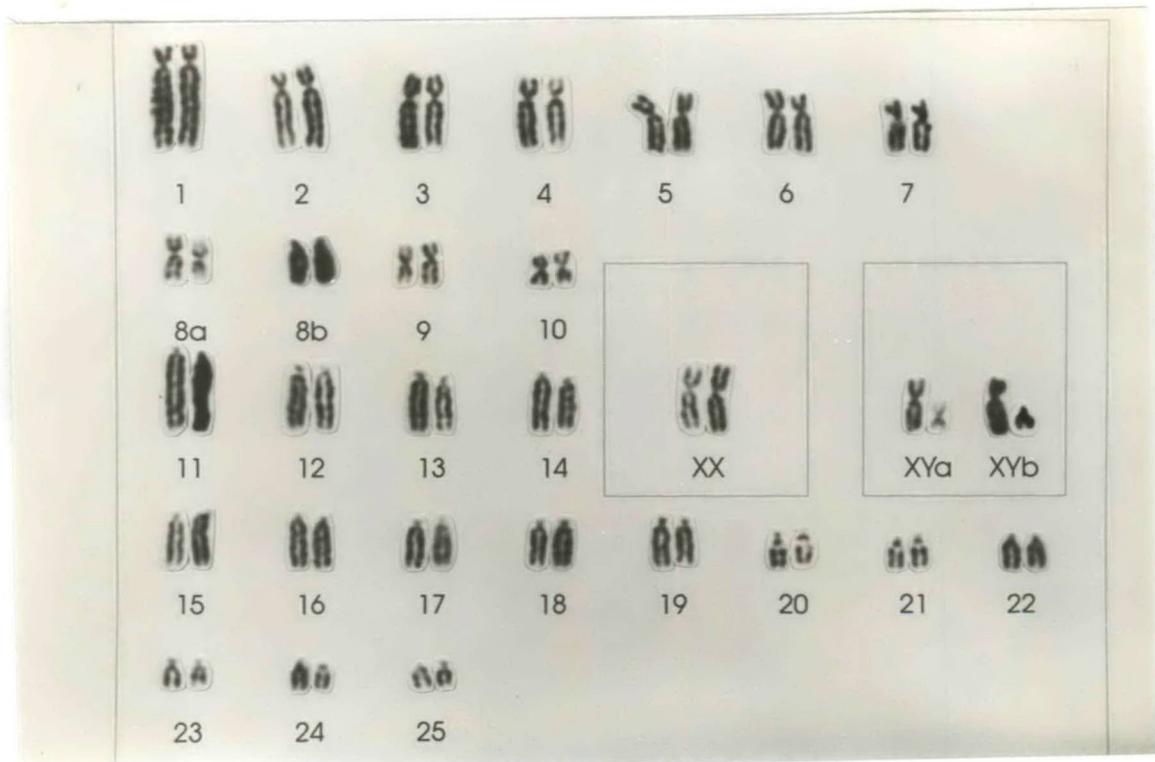


Figura 23 - Cariótipo de *Alouatta caraya*,  $2n=52$ , em coloração convencional. Os dois tipos morfológicos do par 8 são indicados por 8a e 8b.

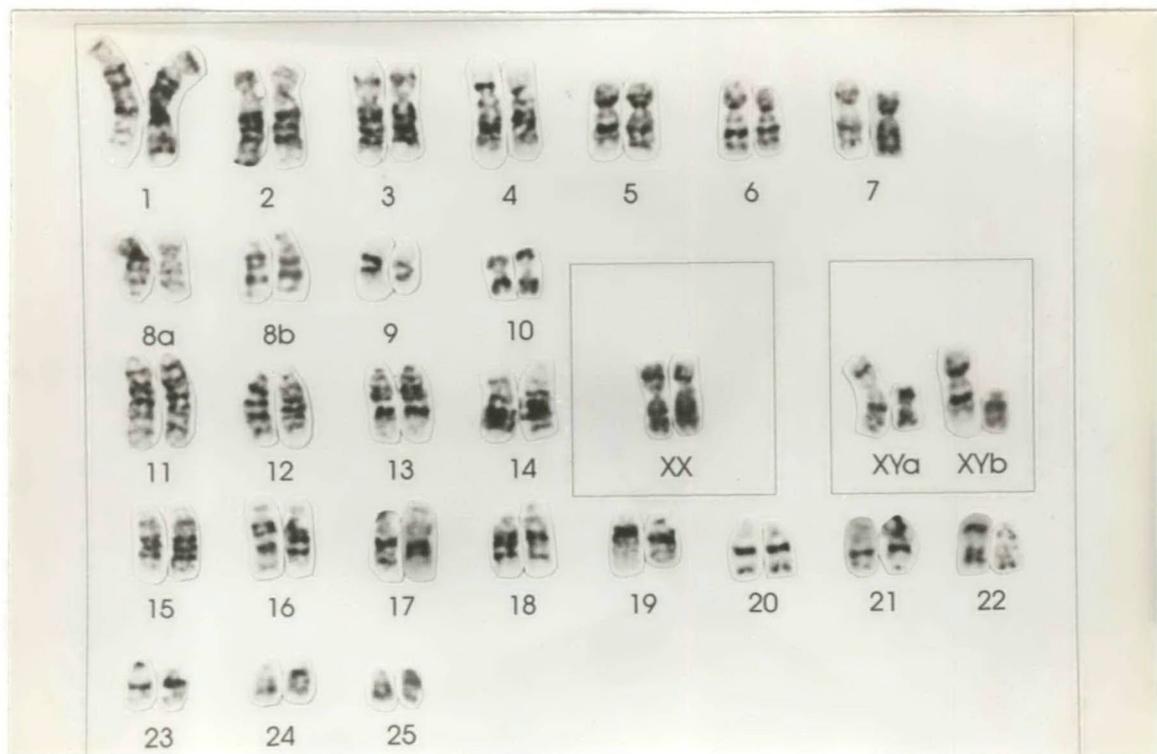


Figura 24 - Cariótipo de *Alouatta caraya*,  $2n=52$ , em bandamento G. Os dois tipos morfológicos do par 8 são indicados como 8a e 8b.

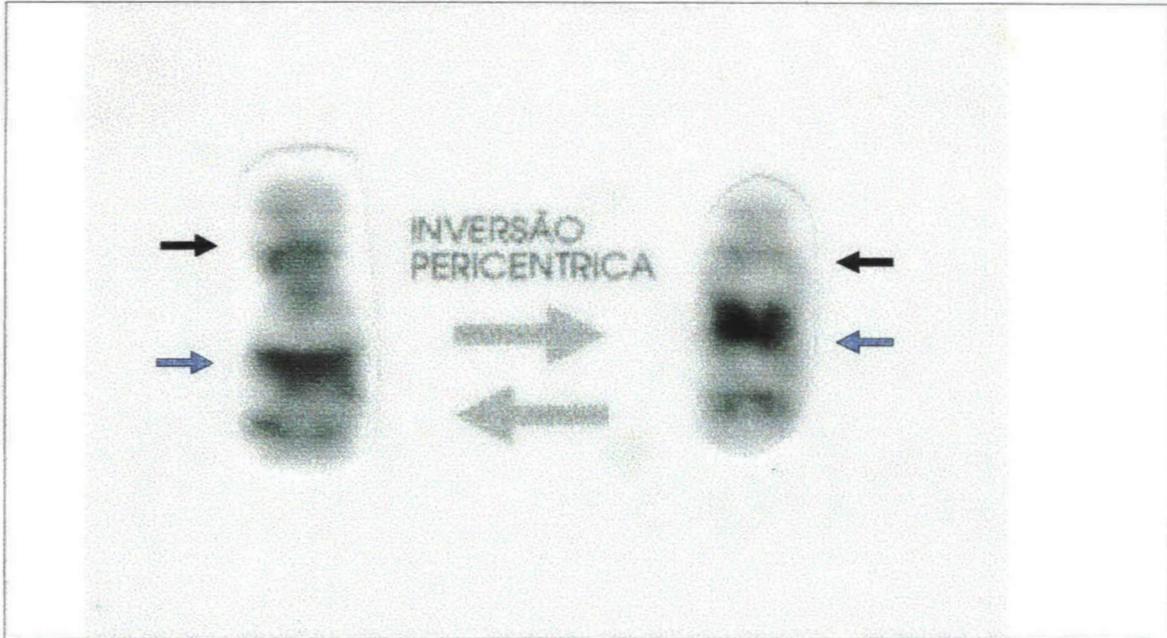


Fig 25 - Inversão pericêntrica observada no par 8 de uma fêmea de *Alouatta caraya*,  $2n=52$

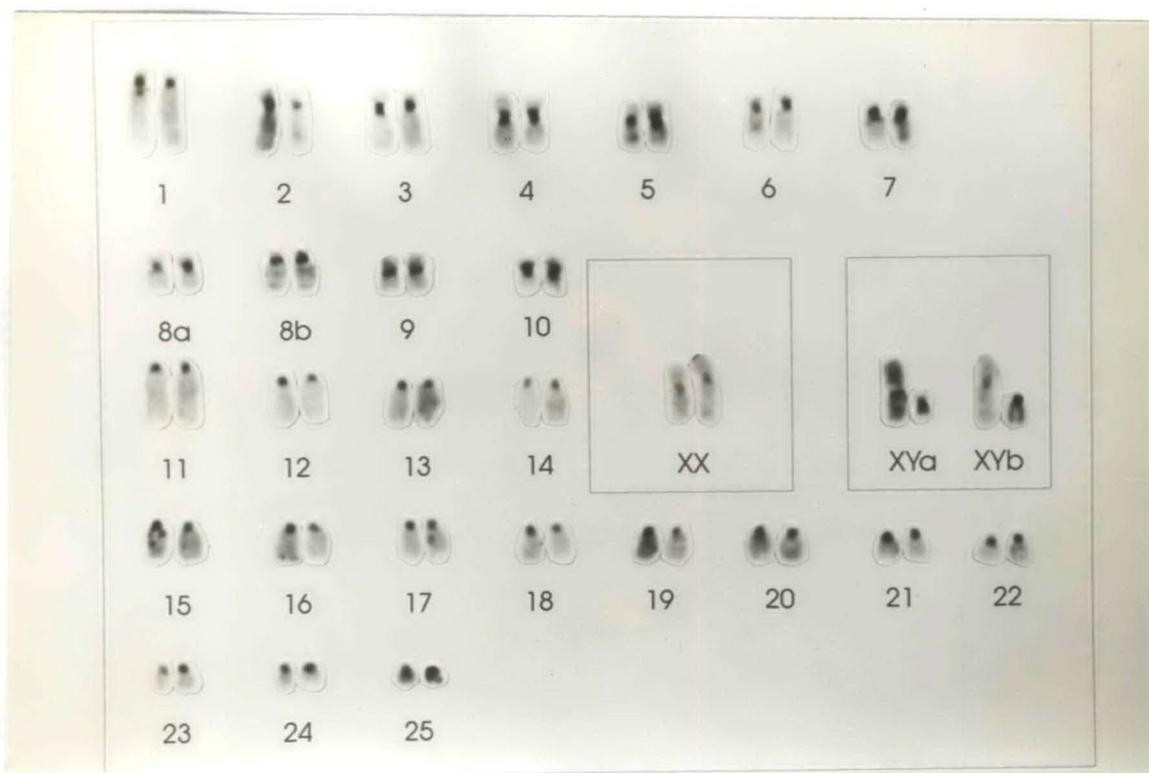


Figura 26 - Cariótipo de *Alouatta caraya*,  $2n=52$ , em bandamento C. Os dois tipos morfológicos do par 8 são indicados por 8a e 8b.



Figura 27 - Regiões organizadoras de nucléolo no cariótipo de *Alouatta caraya*,  $2n=52$   
(setas)

As marcações localizaram-se na região proximal do braço longo, em 17% das 40 metáfases analisadas. Na grande maioria restante, dois (13%) e três (70%) cromossomos apresentaram-se marcados. Todas as RONS observadas eram do tipo duplo.

### **1.3. *Alouatta belzebul belzebul***

Analisou-se o conjunto cromossômico de seis indivíduos da subespécie *A. b. belzebul*, três machos e três fêmeas, capturados próximos à Hidroelétrica de Tucuruí, no Estado do Pará (tabela 7). Observou-se uma variação no número diplóide de 50 nas fêmeas e 49 nos machos e uma constância no número de braços autossômicos (NA=68) .

#### **1.3.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL**

Os autossomos nos machos, com  $2n=49$ , e nas fêmeas, com  $2n=50$ , são formados por 11 pares de cromossomos de dois braços, dos quais quatro pares são metacêntricos, e 12 pares acrocêntricos (fig. 28).

Tab. 7 Caracterização do cariótipo dos espécimes de *A. belzebul belzebul* de nossa amostra

PROC	SEXO	2n=	PROT	NA	AUTOSSOMOS			SEXUAIS		
					M	SM	A	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y
TUCURUI-PA	MASC	49	AL23	68	8	14	24	SM	AC	AC
TUCURUI-PA	MASC	49	AL24	68	8	14	24	SM	AC	AC
TUCURUI-PA	MASC	49	AL25	68	8	14	24	SM	AC	AC
TUCURUI-PA	FEM	50	AL26	68	8	14	24	SM	AC	-
TUCURUI-PA	FEM	50	AL27	68	8	14	24	SM	AC	-
TUCURUI-PA	FEM	50	AL28	68	8	14	24	SM	AC	-

PROT=Protocolo; FEM=feminino; MASC=masculino; PROC=procedência; NA= número de braços autossômicos; X<sub>1</sub>=morfologia do cromossomo X original; X<sub>2</sub> = morfologia do X<sub>2</sub> ; Y=morfologia do cromossomo Y.

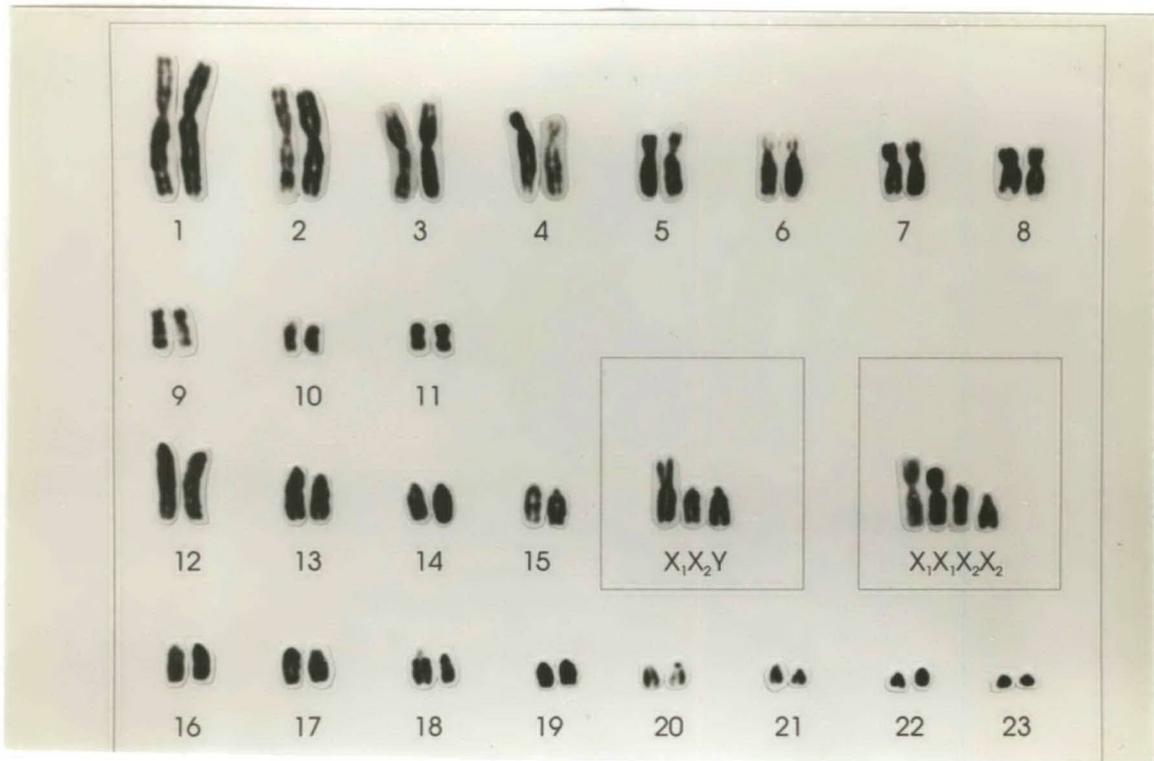


Figura 28 - Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*, 2n=49/50, em coloração convencional.

Quanto aos cromossomos sexuais, o X apresenta-se submetacêntrico e o Y não foi identificado.

Um par de acrocêntricos de tamanho semelhante ao par 17 apresenta um pequeno heteromorfismo nos machos, com o braço curto diferindo em comprimento, o que contrasta com as fêmeas, que não apresentam esse heteromorfismo. Apesar da nossa dificuldade em identificar esse heteromorfismo, ARMADA *et al.* (1989) afirma que esse par estaria envolvido em uma translocação do tipo Y-autossomo. Desta forma, o par em questão foi considerado como sexual, correspondendo ao X<sub>2</sub> e ao Y.

### 1.3.2 BANDAS G

Na figura 29 apresentamos o padrão de bandamento G dos cromossomos de *Alouatta belzebul belzebul*. Todos os pares foram identificados. O X original apresentou o mesmo padrão descrito anteriormente em *A. fusca* e *A. caraya*.

O padrão observado no par acrocêntrico heteromórfico nos machos não foi claro o bastante para a visualização do rearranjo proposto por ARMADA *et al.* (1989). Aceitando-se, no entanto, essa proposição, *A. belzebul* também apresenta o sistema cromossômico de determinação sexual múltiplo do tipo X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>Y/X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>2</sub>, em que o cromossomo X<sub>1</sub> representa o X original, o X<sub>2</sub>, o homólogo do autossomo envolvido no rearranjo, e o Y, o autossomo portador da translocação com o Y.

### 1.3.3. BANDAS C

Os blocos de heterocromatina constitutiva estão distribuídos na região pericentromérica de todos os cromossomos, incluindo os sexuais (fig. 30).

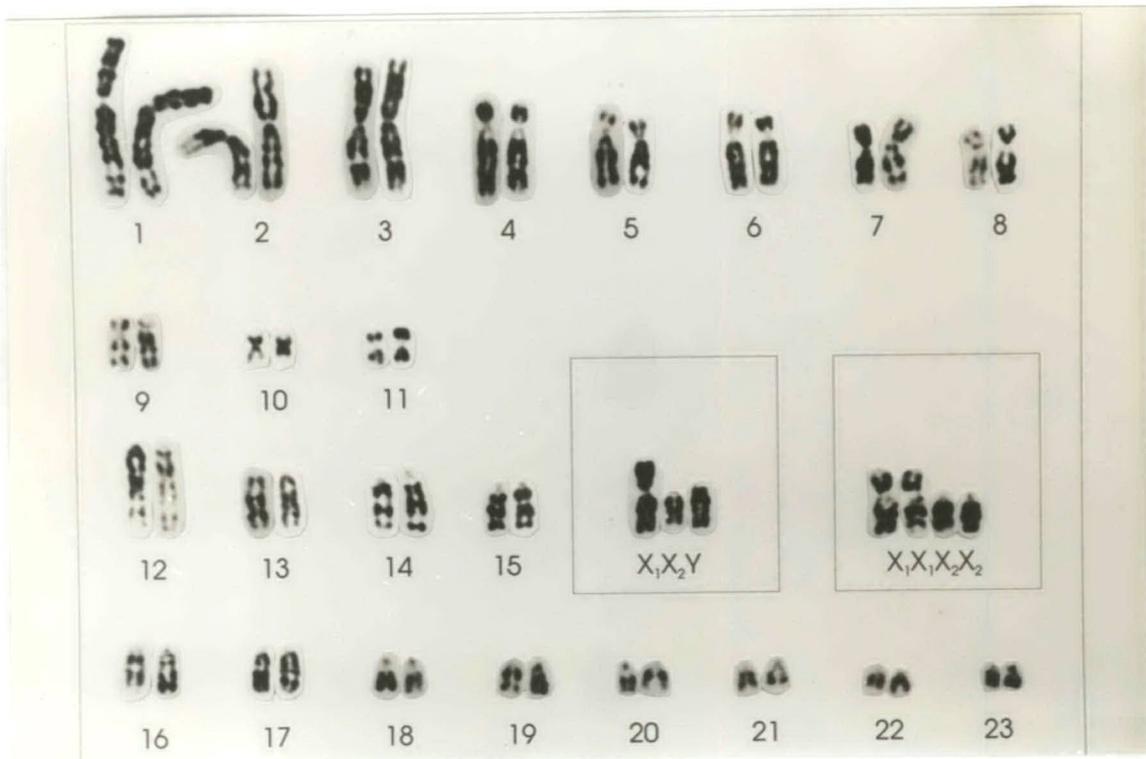


Figura 29 - Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*, 2n=49/50, em bandamento G.

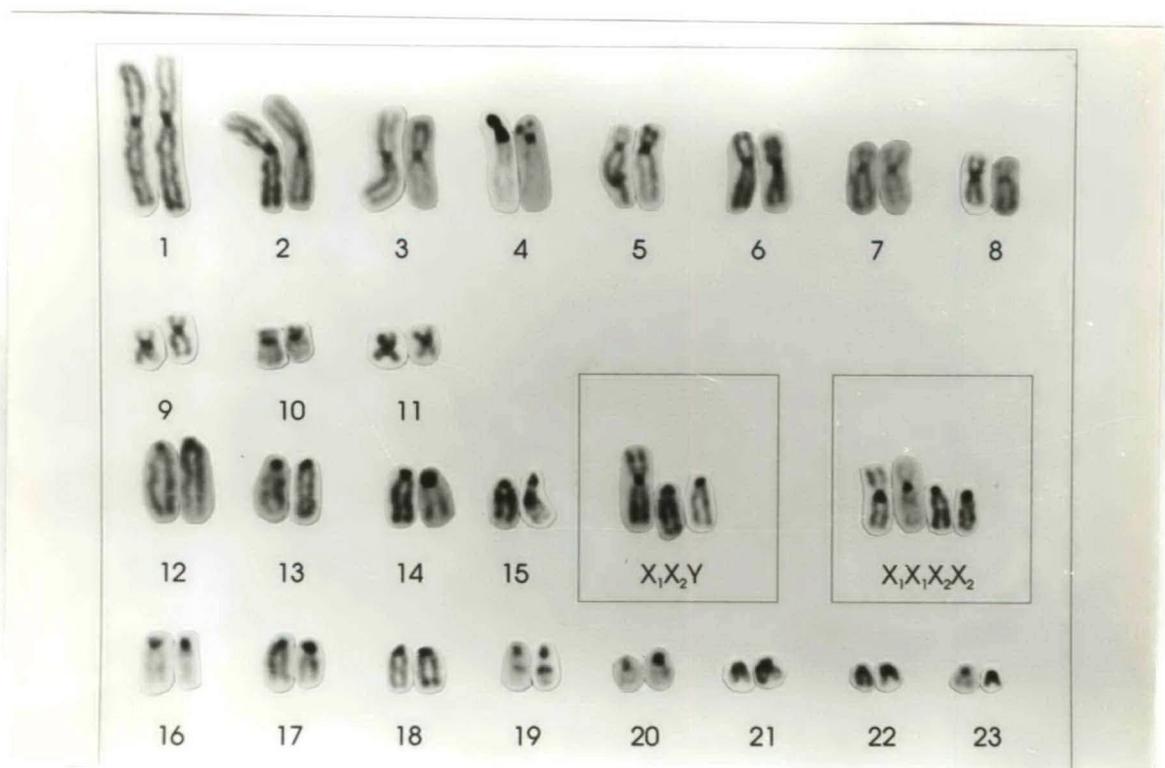


Figura 30 - Cariótipo de *Alouatta belzebul belzebul*,  $2n=49/50$ , em bandamento C.

Além disso, observa-se um segmento heterocromático telomérico no braço curto do par 4, submetacêntrico, e blocos intercalares em dois pares de acrocêntricos, provavelmente pares 15 e 19.

Esse padrão observado em *A. belzebul* assemelha-se ao descrito para *A. fusca clamitans*.

#### 1.3.4. BANDAS RON

As regiões organizadoras de nucléolo estão presentes no braço curto de um par de submetacêntricos e no braço longo de dois pares de pequenos acrocêntricos.

Em 86% das metáfases analisadas, observaram-se quatro RONS. Elas são do tipo duplo, e, em ambos os pares, encontram-se na região intercalar, próximos ao centrômero (fig. 31). Nas restantes metáfases, o número de RONS variou de 2 a 3.

#### 1.4. *Alouatta seniculus*

Os seis exemplares dessa espécie foram classificados em duas subespécies distintas de acordo com o local de sua captura: *A. s. macconelli* (dois machos e duas fêmeas) e *A. s. stramineus* (um macho e uma fêmea).

Essas duas subespécies não apresentam diferenças quanto ao genoma A, formado por 46 cromossomos. No entanto, tanto o número de cromossomos como o número de braços autossômicos mostraram três valores distintos:  $2n=46, 48$  e  $49$  e  $NA= 62, 64$  e  $65$ , respectivamente, devido à ocorrência de cromossomos supernumerários, ou cromossomos B, em diferentes números (tabela 8).

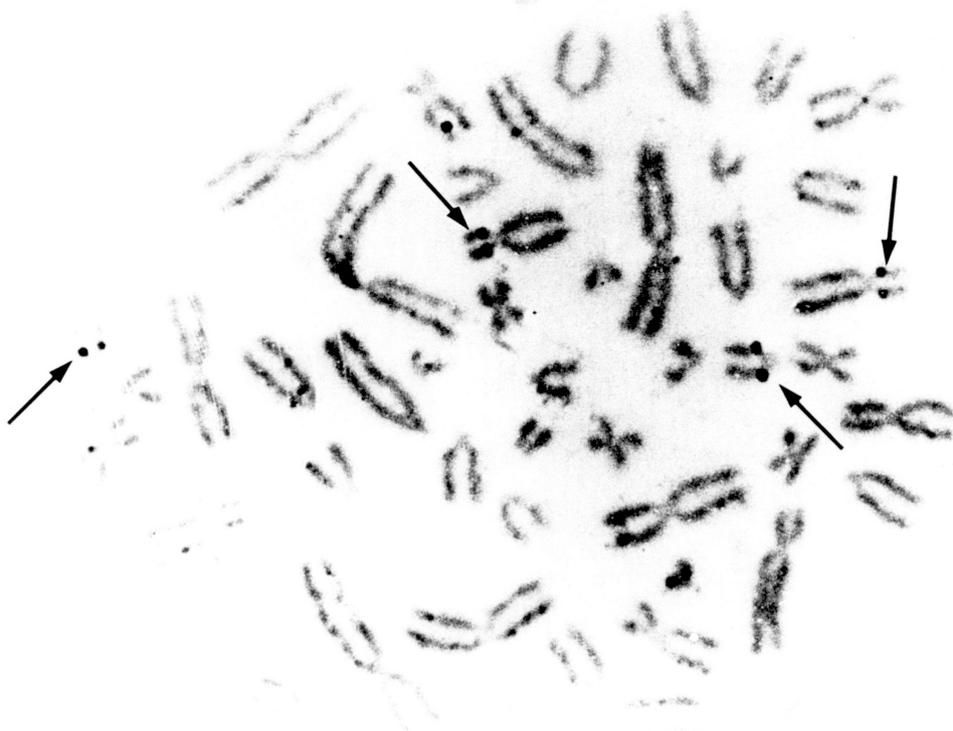


Figura 31 - As setas indicam as regiões organizadoras de nucléolo de *Alouatta belzebul*,  $2n=49/50$ .

#### 1.4.1. COLORAÇÃO CONVENCIONAL

O complemento autossômico principal dos animais analisados apresentou-se formado por 10 pares de cromossomos de dois braços e 11 pares de acrocêntricos, enquanto os cromossomos supernumerários, todos acrocêntricos, variaram de zero a três (fig. 32).

Um dos pares de submetacêntricos, de tamanho localizado entre os pares 06 e 07, apresentou-se heteromórfico nos machos, fato não observado nas fêmeas. Segundo LIMA *et al.* (1991), um dos autossomos desse par sofreu uma translocação não recíproca, na qual uma parte do braço curto foi transferida para o cromossomo Y.

Desta forma, o sistema cromossômico de determinação sexual foi considerado como do tipo múltiplo  $X_1X_2Y_1Y_2 / X_1X_1X_2X_2$ , no qual o X original, submetacêntrico, corresponderia ao  $X_1$ , enquanto o par de autossomos seria denominado de  $X_2$  e, o membro envolvido na translocação, de  $Y_2$ . O Y original, que apresentou-se acrocêntrico mesmo com a translocação, corresponderia ao  $Y_1$ .

O número de braços autossômicos foi igual a 66, se considerados apenas os cromossomos do complemento A, variando entre 67 e 69 considerando os cromossomos supernumerários, que se apresentaram acrocêntricos.

Tab. 7 - Caracterização do cariótipo dos espécimes de *A. seniculus* de nossa amostra.

						AUTOSSOMOS				SEXUAIS			
PROC	SEXO	SUBESP	2n=	PROT	NA	M	SM	A	S	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>
TROMBETAS	MASC	<i>macconelli</i>	49	AL29	65	8	12	22	3	SM	SM	AC	SM
TROMBETAS	MASC	<i>macconelli</i>	49	AL30	65	8	12	22	3	SM	SM	AC	SM
TROMBETAS	FEM	<i>macconelli</i>	48	AL31	64	8	12	22	2	SM	SM	-	SM
TROMBETAS	FEM	<i>macconelli</i>	48	AL32	64	8	12	22	2	SM	SM	-	SM
UATAMÃ	MASC	<i>stramineus</i>	46	AL33	62	8	12	22	0	SM	SM	AC	SM
UATAMÃ	FEM	<i>stramineus</i>	49	AL34	65	8	12	22	3	SM	SM	-	SM

PROT=Protocolo; FEM=feminino; MASC=masculino; PROC=procedência; X<sub>1</sub>=morfologia do cromossomo X original; X<sub>2</sub>= morfologia do neo-X; Y=morfologia do cromossomo Y original; Y<sub>2</sub>= morfologia do Y<sub>2</sub>; S= cromossomos supernumerários.

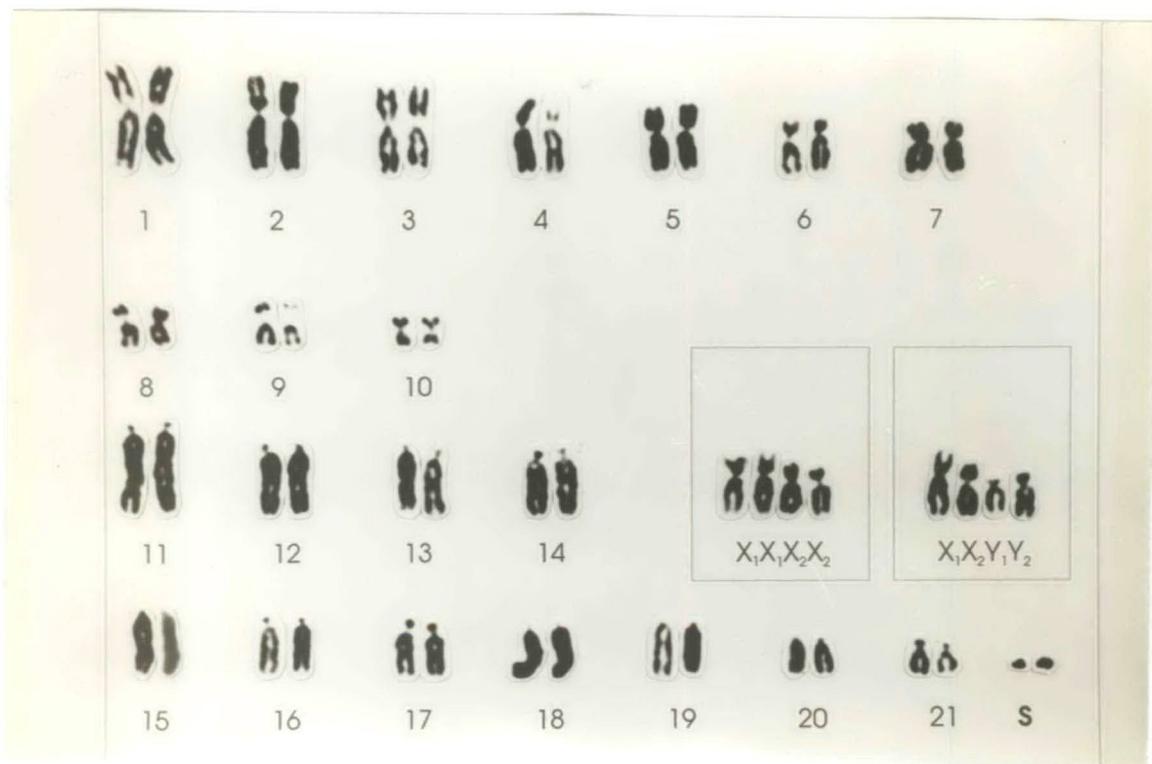


Figura 32 - Cariótipo de *Alouatta seniculus stramineus*, em coloração convencional. Os cromossomos supernumerários são indicados por S

#### 1.4.2. BANDAS G

Através do bandamento G, pôde-se reconhecer facilmente os cromossomos do complemento de *A. seniculus* e pareá-los (fig. 33) . O par heteromórfico, observado nos machos, apresentou diferenças no comprimento e padrão do braço curto.

Segundo LIMA et al. (1990), o heteromorfismo observado resultou de uma translocação entre um segmento do braço curto de um dos cromossomos dos autossomos, originalmente submetacêntrico, e o Y. Sendo assim, o sistema cromossômico de determinação sexual passou a ser múltiplo, do tipo  $X_1X_2Y_1Y_2 / X_1X_1X_2X_2$  .

#### 1.4.3. BANDAS C

Com exceção de dois pares de cromossomos de dois braços, aparentemente pares 4 e 7, que não mostraram blocos de heterocromatina, todos os demais evidenciaram segmentos heterocromáticos na região centromérica (fig. 34). Os cromossomos B também apresentaram-se completamente marcados por essa técnica.

#### 1.4.4. BANDAS RON

Nos três animais analisados por bandamento RON, observou-se uma marcação atípica, duplicada, contrastando com as demais espécies do gênero (fig. 35).

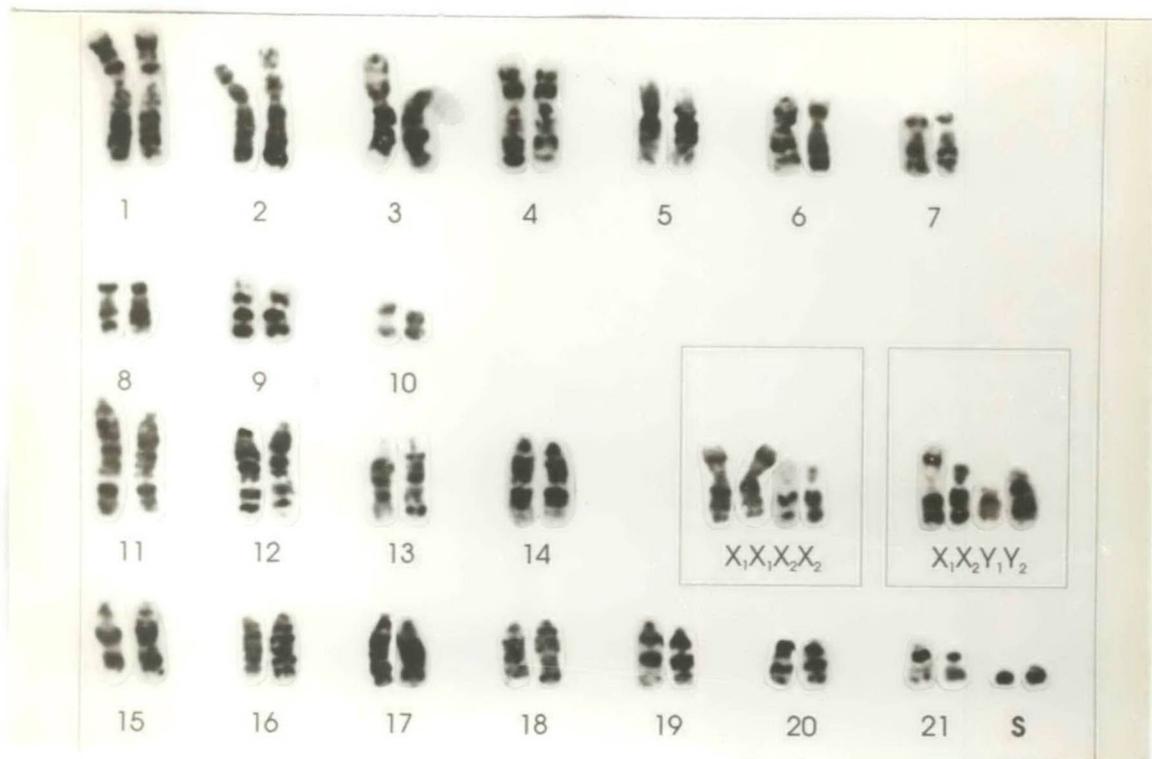


Figura 33 - Cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*, em bandamento G.  
Os cromossomos supernumerários são indicados por S

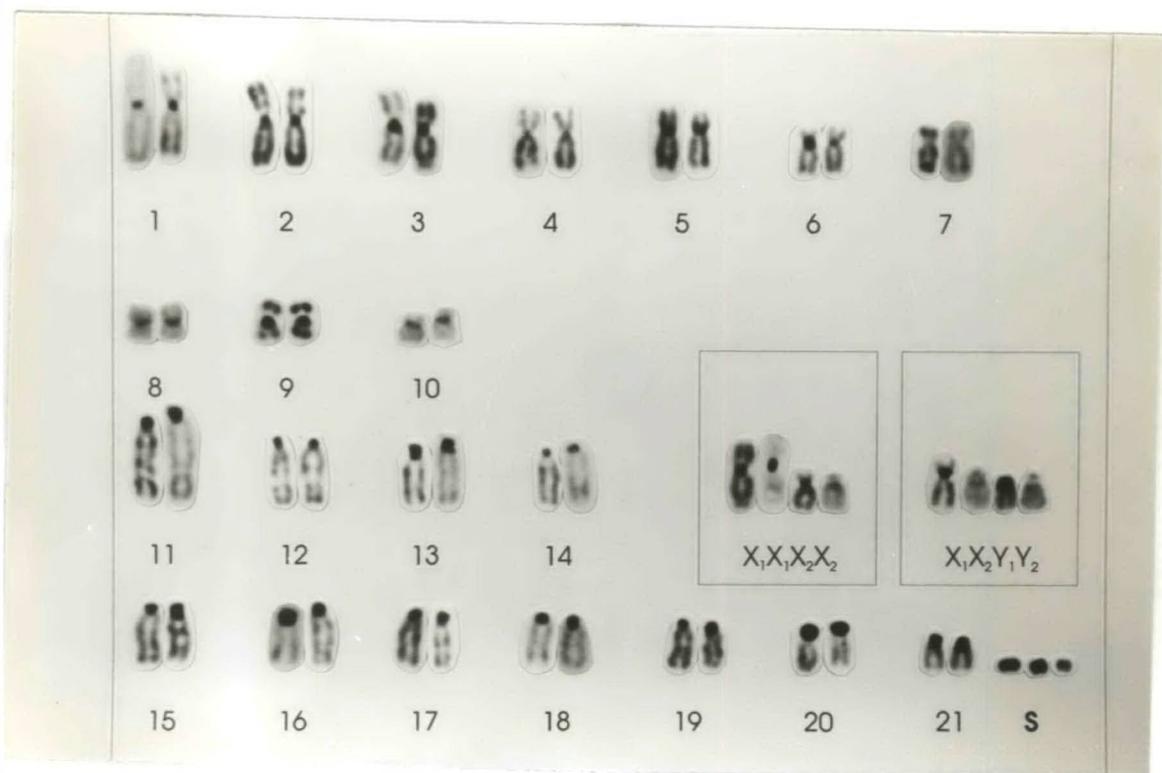


Figura 34 - Cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*, em bandamento C. Os cromossomos supernumerários são indicados por S



Figura 35 - As setas indicam as regiões organizadoras de nucléolo no cariótipo de *Alouatta seniculus macconelli*.

As regiões organizadoras de nucléolo foram observadas no par 9, podendo ser do tipo duplo ou conjugado.

Apesar de esse cromossomo ser considerado um metacêntrico por LIMA *et al.*, (1991), através de medições constatou-se que o braço no qual observaram-se as marcações com nitrato de prata apresentaram-se um pouco mais curto.

As marcações se deram na região mediana e na região terminal do mesmo braço .

### **1.5 *Cebus apella***

Foi analisado o cariótipo de um exemplar macho, mantido no Biotério da UFPA. O número diplóide observado foi igual a 54, composto por 10 pares de cromossomos autossomos meta e submetacêntricos e 16 pares acrocêntricos. O cromossomo X apresentou-se submetacêntrico e o cromossomo Y acrocêntrico.

Na figura 36, observamos o padrão de bandamento G de *Cebus apella*. O padrão de bandamento obtido assemelha-se àquele publicado por FREITAS & SEUANEZ (1982) e GARCIA *et al.* (1983).

## **2. ESTUDOS CLADÍSTICOS**

A análise incluiu nove espécies e subespécies de Platyrrhini. Além desses, o cariótipo ancestral hipotético utilizado neste estudo foi aquele proposto por DUTRILLAUX & COUTURIER ( 1981) e DUTRILLAUX (1988b) como o mais primitivo para os primatas do Novo Mundo. A principal função deste cariótipo foi a de orientar a polarização dos caracteres.

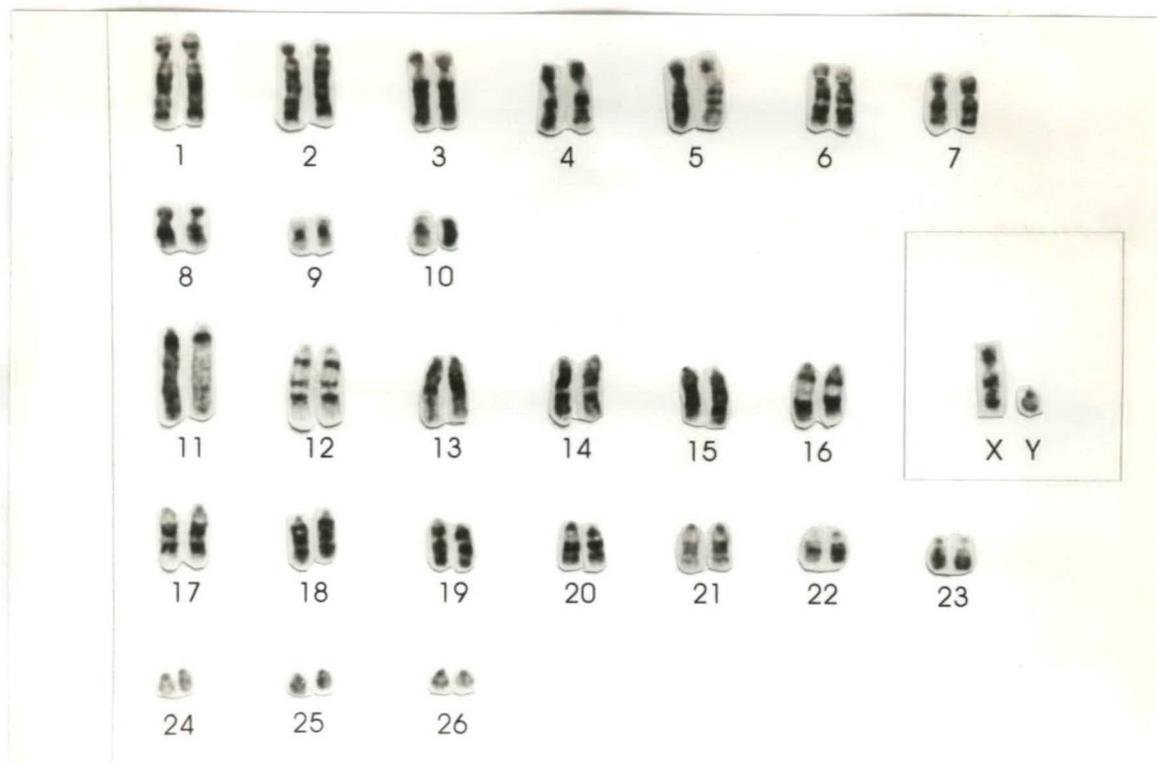


Figura 36 - Cariótipo de *Cebus apella*,  $2n=54$ , em bandamento G.

Os estados dos caracteres nos diferentes taxa analisados transformados na matriz numérica usada na análise são apresentados na figura 37. Pode-se notar que apenas os caracteres 22, 28 e 31 apresentam-se no mesmo estado, já que a morfologia e o padrão de bandas mantiveram-se praticamente inalterados em todas as espécies analisadas: são caracteres plesiomórfico e por sua vez são compartilhados por vários taxa (simplesiomórficos). Por outro lado, observa-se que outros caracteres estão presentes no estado primitivo no ancestral mais remoto (HTU 0), enquanto que em alguns taxa encontram-se em estados derivados. Esses caracteres são portanto considerados novidades evolutivas (apomórficos). Os caracteres 16, 21 e 25 além de apomórficos, são comuns (sinapomórficos) para várias das espécies de *Alouatta* analisadas.

Alguns caracteres não foram identificados no cariótipo de alguns taxa. Desta forma, na matriz de dados, foram codificados como não comparáveis, e a não identificação desses caracteres foi considerada como efeito de mecanismos cromossômicos complexos.

Na figura 38 é mostrada a árvore filogenética obtida, que apresentou 206 passos e um índice de consistência de 75,9%. Esse índice demonstra que foram reduzidos os números de sucessos evolutivos "extras". Nessa figura, estão representados os caracteres apomórficos e os mecanismos cromossômicos envolvidos na mudanças mudanças de estado (círculos). Os diferentes rearranjos são distinguidos através do uso de cores distintas. Aqueles caracteres que não se encontram representados na árvore são simplesiomorfias, e permaneceram no estado primitivo.

Desta forma, a análise conjunta das figuras 37 e 38 nos permite visualizar os mecanismos cromossômicos e respectivos rearranjos cromossômicos que

diferenciaram os taxa envolvidos neste estudo.

Assim, por exemplo, o cromossomo submetacêntrico do ancestral hipotético (cromossomo ANC-2), correspondente aos caracteres 3 e 4 no estado primitivo ( $3^0$  e  $4^0$ ) sofreu três inversões pericêntricas até atingir o estado derivado 33 e 43 na HTU 8: a primeira inversão ocorreu na HTU 1, originando um cromossomo também submetacêntrico (caracteres  $3^1$  e  $4^1$ ) e comum a cinco taxa : CAP-3, CSA-3, APA-3, ACA-3 e ABB-4. Uma segunda inversão, agora na HTU-6, originou outro cromossomo submetacêntrico (caracteres  $3^2$  e  $4^2$ ), compartilhados por dois taxa e nominados de AFU1-2 e AFU2-2. A última inversão deu-se na HTU-8, quando este caráter novamente muda de estado e transforma-se em um cromossomo acrocêntrico, sinapomórfico para *A. seniculus* e *A. belzebul nigerrima* (caracteres  $3^3$  e  $3^4$ ).

A maneira como estão descritas acima as transformações dos caracteres 3 e 4 serve como orientação a ser seguida para os demais caracteres.

Portanto, considerando as ponderações acima, a análise conjuntas das figuras 35 e 36 permite destacar os seguintes fatos:

a) A árvore, enraizada pelo ancestral hipotético, mostra uma separação nítida entre as espécies do gênero *Alouatta* e aquelas usadas como grupo-externo.

b) Observa-se que tanto o número diplóide como o número de braços autossômicos tendem a diminuir à medida que as espécies se afastam do ancestral mais remoto. Desta forma, *Cebus apella* e *Chiropotes satanas* apresentam  $2n=54$  e  $NA=74$  e  $72$ , respectivamente, ao passo que *Alouatta palliata*, a espécie desse gênero que apresentou o cariótipo menos derivado, apresentou  $2n=54$  e  $NA=74$ . Já *Alouatta*

*fusca* (AFU2), que revelou o maior número de autapomorfias (apomorfias exclusivas), apresenta  $2n=45$  e  $46$  e  $NA=68$ . Entre esses dois extremos, da espécie menos derivada para aquela com maior número de autapomorfias, encontramos os cariótipos de *A. caraya* ( $2n=52$ ,  $NA=70$ ), *A. belzebul belzebul* ( $2n=49$  e  $50$  e  $NA=68$ ), *A. fusca clamitans* (AFU1) ( $2n=49$  e  $NA=60$ ), *A. belzebul nigerrima* ( $2n=50$  e  $NA=68$ ) e *A. seniculus*, com  $2n=46$  e  $NA=62$  (desconsiderando-se os cromossomos supernumerários)

c) *Cebus apella* e *Chiropotes satanas* apresentam oito sinapomorfias, derivadas de quatro inversões pericêntricas, uma inversão paracêntrica e duas fissões. O caráter 8 não foi identificado a partir da HTU 1 (rearranjos complexo).. Além dessas, *Cebus apella* mostra uma autapomorfia (caráter  $28^1$ ), resultante da adição de heterocromatina constitutiva. *Chiropotes satanas*, por sua vez, mostra quatro autapomorfias, resultantes de quatro inversões pericêntricas (caracteres  $1^1, 2^1, 17^1, 19^1$  e  $25^0$ ). Dois caracteres ( $13^9$  e  $14^9$ ) não foram identificados em seu cariótipo. Uma das inversões observadas em *C. satanas*, caracteriza uma reversão (caráter  $25^0$ ), já que esse retorna à forma acrocêntrica como no ancestral mais remoto.

d) No processo de evolução cariotípica de *Alouatta*, os mecanismos mais preponderantes foram as translocações, inversões, fusões/fissões cêntricas e os mecanismos complexos. Esses últimos englobam processos, como por exemplo fusões *in tandem*, inversões e translocações múltiplas, entre outros, que impossibilitam a identificação e comparação de segmentos cromossômicos. Com frequência menor, destacam-se duas translocações.

Estados de Caracteres: Primitivo (0)  
 Derivado (1, 2 e 3)  
 Não-comparável (9)

CAR	ANC	CAP	CSA	APA	ACA	AFU1	AFU2	ABB	ABN	ASE
1	0	1	1	2	1	2	2	9	1	2
2	0	1	1	2	1	2	3	9	1	1
3	0	0	1	2	1	0	0	0	1	1
4	0	0	1	2	1	1	1	1	1	1
5	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1
6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
7	0	0	0	0	0	9	9	0	1	1
8	0	0	0	0	0	2	2	0	1	1
9	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
10	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
11	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
12	0	0	0	0	0	9	9	0	1	1
13	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
16	0	0	0	9	0	1	1	1	0	0
17	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2
18	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
19	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
20	0	1	2	2	0	9	0	0	0	0
21	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2
23	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
26	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
27	0	1	0	1	1	3	2	0	2	2
28	0	1	0	0	0	1	9	1	1	9
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
31	0	1	1	1	9	1	9	0	0	1
32	0	0	0	0	0	0	9	0	0	1
33	0	0	0	0	0	0	9	0	9	9

Legenda:

CAR= Caracteres (braços cromossômicos em bandamento G).  
 ANC= Cariótipo ancestral dos Platyrrhini

Fig. 37 - Matriz numérica usada no estudo cladístico.

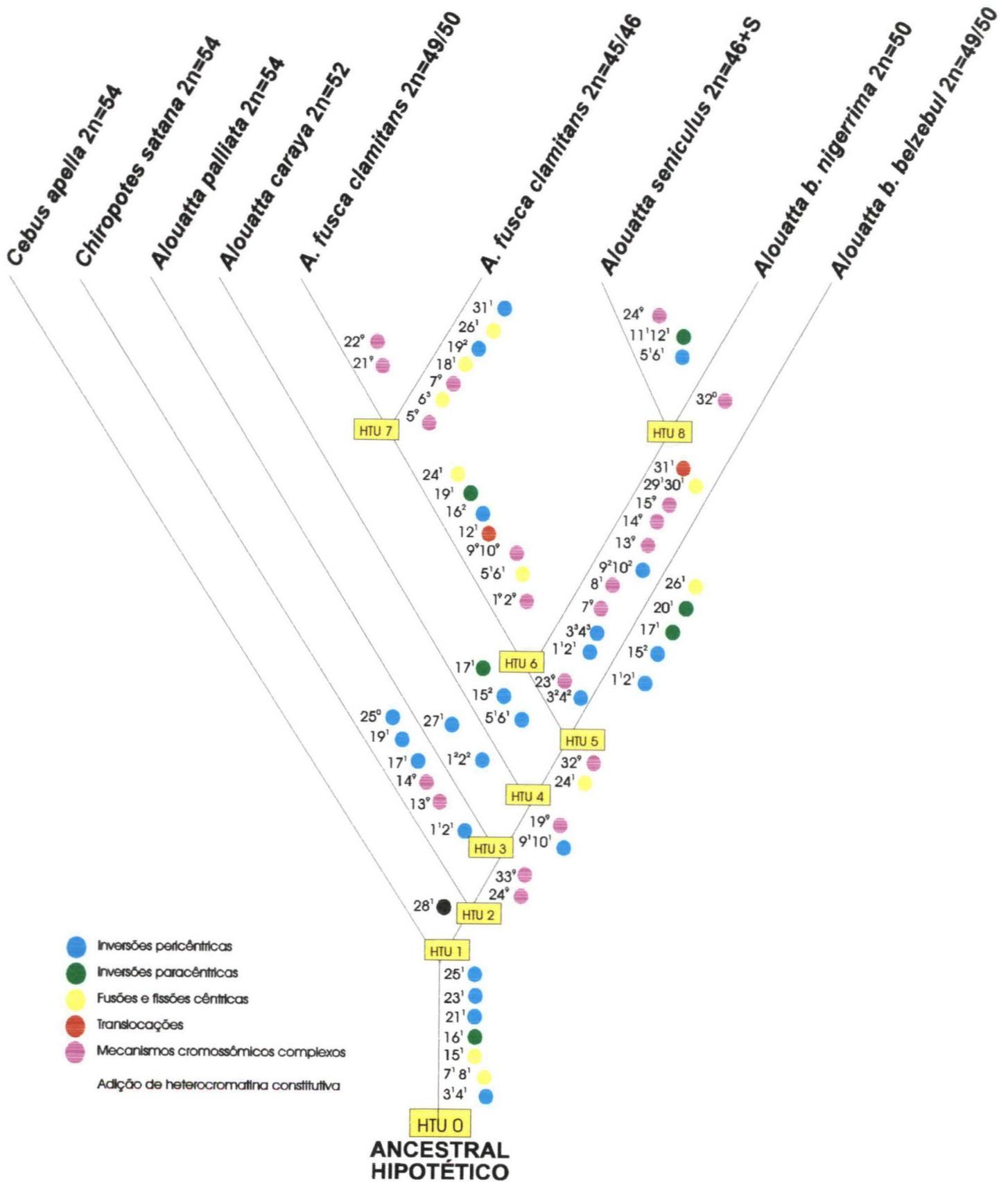


Fig. 38 - Cladograma representativo das espécies do gênero *Alouatta*.

e) Os estudos cladísticos baseados no padrão de bandamento G dos braços cromossômicos indicam que os taxa do gênero *Alouatta* são divididos em cinco grupos distintos:

Grupo **PALLIATA** (*Alouatta palliata*)

Grupo **CARAYA** (*Alouatta caraya*)

Grupo **BELZEBUL** (*Alouatta belzebul belzebul*)

Grupo **FUSCA** (*Alouatta fusca clamitans* 2n=49 e *A. f. clamitans* 2n=45 e 46)

Grupo **SENICULUS** (*Alouatta seniculus* e *Alouatta belzebul nigerrima*)

f) *Alouatta palliata* é a espécie que apresenta um maior número de plesiomorfias, isto é, houve uma maior retenção de caracteres no estado primitivo. Dessa forma, *A. palliata* mostra 19 simplesiomorfias, e 11 apomorfias, sendo que sete dessas originaram-se por inversões pericêntricas ( caracteres 1<sup>1</sup>, 2<sup>1</sup>, 3<sup>2</sup>, 4<sup>2</sup>, 21<sup>1</sup>, 23<sup>1</sup>, 25<sup>1</sup> e 27<sup>1</sup>). As outras derivaram de duas fissões cêntrica ( caracteres 7<sup>1</sup> e 15<sup>1</sup>). Três caracteres não foram identificados em seu cariótipo ( caracteres 8<sup>9</sup>, 24<sup>9</sup> e 33<sup>9</sup>).

g) Filogeneticamente, *A. caraya* ocupa uma posição intermediária entre *A. palliata* e as restantes espécies do gênero encontradas no Brasil e na Argentina, sendo o grupo-irmão dessas. Seu cariótipo mostra-se bastante similar ao descrito para *A. palliata*, diferenciando-se desse por duas inversões pericêntricas ( caracteres 5<sup>1</sup> e 6<sup>1</sup>, e caráter 15<sup>2</sup>) e uma paracêntrica ( caráter 17<sup>1</sup>).

h) *A. belzebul belzebul* é o grupo-irmão de *A. caraya*. Entretanto, seu cariótipo já se apresenta bastante distinto do complemento apresentado para *A. palliata* e *A. caraya*,

devido à ocorrência de seis autapomorfias, conseqüentes de uma fusão ( caráter  $26^1$  ), duas inversões paracêntricas ( caracteres  $17^1$  e  $20^1$  ) e duas inversões pericêntricas ( caracteres  $1^2$  e  $2^2$  e caráter  $15^2$  )

i) Os dois citótipos distintos de ***A. fusca clamitans*** ( $2n=49$  e  $2n=45$ ) analisados nos estudos cladísticos formam um grupo. Os rearranjos que distinguem esses dois taxa são três fusões cêntricas ( caracteres  $6^3$ ,  $18^1$  e  $26^1$  ) e duas inversões pericêntricas (caracteres  $19^2$  e  $31^1$  ), exclusivos de AFU2. No cariótipo de AFU1 não foi identificado os caracteres  $21^9$  e  $22^9$  (mecanismos complexos), enquanto no complemento de AFU2 não foram encontrados os caracteres  $5^9$  e  $7^9$ . AFU1 e AFU2 apresentam dez apomorfias em comum originados a partir de uma translocação (caráter  $12^1$ ), uma fissão (caracteres  $5^1$  e  $6^1$ ) uma fusão (caráter  $24^1$ ) e quatro mecanismos complexos (caracteres  $1^9$ ,  $2^9$ ,  $9^9$  e  $10^9$ )

j) ***Alouatta belzebul nigerrima*** e ***Alouatta seniculus*** formam o grupo-irmão de ***A. fusca clamitans***. Esses dois taxa compartilham oito apomorfias a partir da HTU 6, decorrentes de três inversões pericêntricas ( caracteres  $1^1$ ,  $2^1$ ,  $3^3$ ,  $4^3$ ,  $9^1$  e  $10^1$ ), uma fusão (caracteres  $29^1$  e  $30^1$ ). Cinco caracteres foram codificados como não comparáveis nesses dois taxa ( caracteres  $8^9$ ,  $13^9$ ,  $14^9$ ,  $24^9$  ). ***A. seniculus*** apresenta quatro autapomorfias que distinguem seu complemento daquele de ***A. belzebul nigerrima*** ( uma autapomorfia, caráter  $32^0$  ).

Uma inversão pericêntrica ( caracteres  $5^1$  e  $6^1$  ) e outra paracêntrica (caráter  $11^1$  e  $12^1$  ) são responsáveis pelos rearranjos específicos que originaram as autapomorfias de ASE. Dois segmentos presentes no cariótipo de ***A. b. nigerrima*** não

foram identificados em ***A. seniculus*** (caráter 24<sup>9</sup>).

A autapomorfia observada em ***A. b. nigerrima*** surge como uma reversão ao estado primitivo, correspondendo ao cromossomo ANC-25. O mecanismo responsável por essa reversão não foi identificado.

## IV. DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizada, pela primeira vez, um estudo citotaxonomico intragenérico, envolvendo sete taxa distintos do gênero *Alouatta*. Os resultados obtidos por bandamento G, C e RON permitiram determinar as características cromossômicas de cada espécie ou subespécie, assim como os principais rearranjos que ocorreram na evolução cariotípica dos representantes desse gênero.

O padrão de bandamento G dos braços cromossômicos foram utilizados na análise cladística, que envolveu, além das espécies e subespécies de *Alouatta*, duas espécies de gêneros distintos como grupo-externo: *Cebus apella* e *Chiropotes satanas*. A polarização dos dados foi baseada no cariótipo do ancestral hipotético dos platirrinos (DUTRILLAUX & COUTURIER, 1981; DUTRILLAUX, 1988b).

### 1. O CARIÓTIPO DE *Alouatta fusca clamitans*

Tanto o número diplóide ( $2n$ ) como o número de braços autossômicos (NA) de *Alouatta fusca clamitans* apresentaram uma grande variação, originando quatro citótipos distintos:  $2n=52$  (NA=72),  $2n=49$  (NA=60),  $2n=46$  (NA=64) e  $2n=45$  (NA=64).

O padrão das metáfases obtidas com a cultura de linfócitos do único animal com  $2n=52$  não se apresentou com qualidade boa o bastante que permitisse a aplicação de todas as técnicas de coloração propostas neste estudo. Desta forma, o complemento desse exemplar só pôde ser analisado com coloração convencional e bandamento C, apresentando 11 pares de cromossomos de dois braços e 14 pares

acrocêntricos, além do X submetacêntrico e do Y acrocêntrico. O padrão de bandamento C mostrou-se similar ao descrito para os outros citótipos dessa espécie. Nesse citótipo do Espírito Santo, observamos um alto número de braços autossômicos (NA=72) que, associado ao número diplóide (52) e à tendência de diminuição tanto no  $2n$  como NA comprovada nos estudo cladísticos, nos leva a sugerir que deve ser o cariótipo mais primitivo de **A. fusca**. Infelizmente, o baixo número de metáfases obtidas não permitiu a aplicação das técnicas de bandamento, impossibilitando um bom padrão de bandamento G nesse citótipo. Apesar disso, baseados nos fatos expostos anteriormente, sugerimos que, a partir de  $2n=52$ , diferenciaram-se os outros citótipos observados, através de rearranjos como fusões cêntricas, fusões *in tandem* e inversões pericêntricas. dos quais os outros.

O padrão de bandamento G obtido nos outros complementos cromossômicos nos permitiu identificar homologias na maioria dos segmentos nos diversos genomas. Desta forma, as diferenças entre  $2n=45$ , encontradas somente nos machos, e  $2n=46$ , nas fêmeas, deve-se a uma translocação do tipo Y-autossomo naqueles. Esse fato pôde ser confirmado pela presença de um par de homólogos submetacêntricos, de tamanho entre os pares 3 e 4, heteromórfico em todos os machos, devido a uma diferença acentuada no tamanho do braço curto de um deles, o que não foi observado nas fêmeas. Os machos que apresentaram o citótipo formado por 49 cromossomos também mostraram um par de cromossomos heteromórficos, de tamanho intermediário entre os pares 3 e 4, o que se deve ao mesmo fato verificado nos machos com  $2n=45$ . Por outro lado, corroborando com esse achado, fêmeas e machos com  $2n=50$ , da mesma procedência, estudados por KOIFFMANN (1977) não mostraram tal heteromorfismo, enquanto três machos com  $2n=49$  apresentaram as

mesmas diferenças observados nos animais da nossa amostra com esse citótipo.

Essa variação pôde ser fortemente relacionada à procedência dos exemplares analisados. Assim, os exemplares provenientes da Região Sul apresentaram o citótipo formado por 45 cromossomos nos machos e 46 nas fêmeas; nos animais originários da Região Sudeste, que totalizavam cinco machos, quatro apresentaram o número diplóide de 49, devido a uma translocação do tipo Y-autossomo, enquanto um deles, proveniente do Espírito Santo, apresentou  $2n=52$ . Outros animais descritos na literatura, provenientes dessa região, apresentaram o número diplóide  $2n=50$  em dois machos e duas fêmeas, e  $2n=49$  em três machos (KOIFFMANN, 1977; KOIFFMANN & SALDANHA, 1974). Além destes, um exemplar macho, proveniente do município de Registro (sul de São Paulo) apresentou um complemento cromossômico formado por 48 cromossomos, sendo heterozigoto para duas fusões cêntricas (KOIFFMANN, 1977). Esses dados parecem indicar que a tendência para a diminuição do número diplóide da espécie apresenta-se orientada no sentido norte-sul (fig. 39).

A variação cariotípica observada não pode ser atribuída somente a fusões/fissões cêntricas. A análise do padrão de bandamento G mostrou que os cromossomos 15, 16 e 17 de *A. fusca* com  $2n=49$  não têm correspondentes nos animais com  $2n=45$  e 46. Da mesma forma, os cromossomos 5, 13 e 14 e o braço curto do par autossômico envolvido na translocação com o Y em  $2n=45$  e 46 parecem ter surgido de um rearranjo complexo, provavelmente fusão *in tandem* ou translocação múltipla, o que tornou bastante difícil afirmar com clareza sua correspondência no complemento dos animais do sudeste brasileiro.

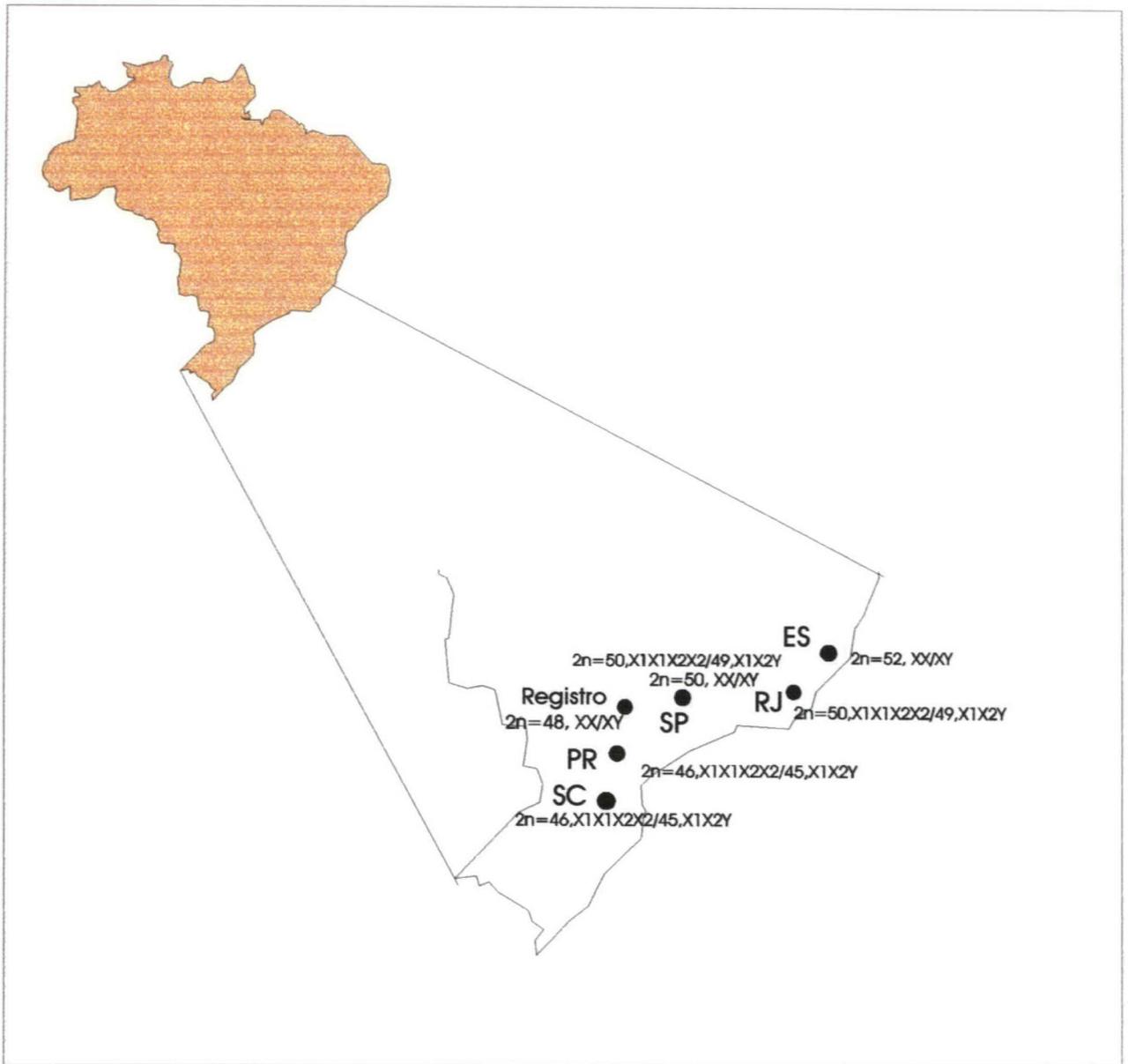


Fig. 39 - Distribuição geográfica dos diferentes citótipos observados em *Alouatta fusca clamitans*, segundo os dados obtidos no presente trabalho e aqueles apresentados por KOIFFMANN (1977).

Já o cromossomo 3 de  $2n=45$  e 46 corresponde aos cromossomos 10 e 12 fusionados, enquanto o braço longo do cromossomo envolvido na translocação com o Y mostra total homologia com o cromossomo 8 de  $2n=49$ .

O cromossomo 6 de  $2n=45$  e 46, submetacêntrico, parece ter se originado a partir de uma inversão pericêntrica do cromossomo 11, acrocêntrico, de  $2n=49$ .

A distribuição dos blocos de heterocromatina nesses citótipos mostrou-se bastante similar, com marcações pericentroméricas em todos os cromossomos, inclusive nos sexuais. Além destes, em ambos os cariótipos, observaram-se blocos teloméricos e intercalares nos pares 2 e 17, respectivamente, no  $2n=49$ , e nos pares 2 e 15 em  $2n=45$  e 46. Entretanto, no citótipo com 49 cromossomos observou-se um par de pequenos submetacêntricos (par 6) com o braço curto totalmente heterocromático, não presente em  $2n=45$  e 46. A distribuição dos blocos de heterocromatina em *Alouatta fusca clमितans* assemelha-se ao descrito para *Alouatta belzebul belzebul*.

Nos citótipos citados, o número de cromossomos marcados com nitrato de prata foi o mesmo, variando de dois a quatro pequenos acrocêntricos.

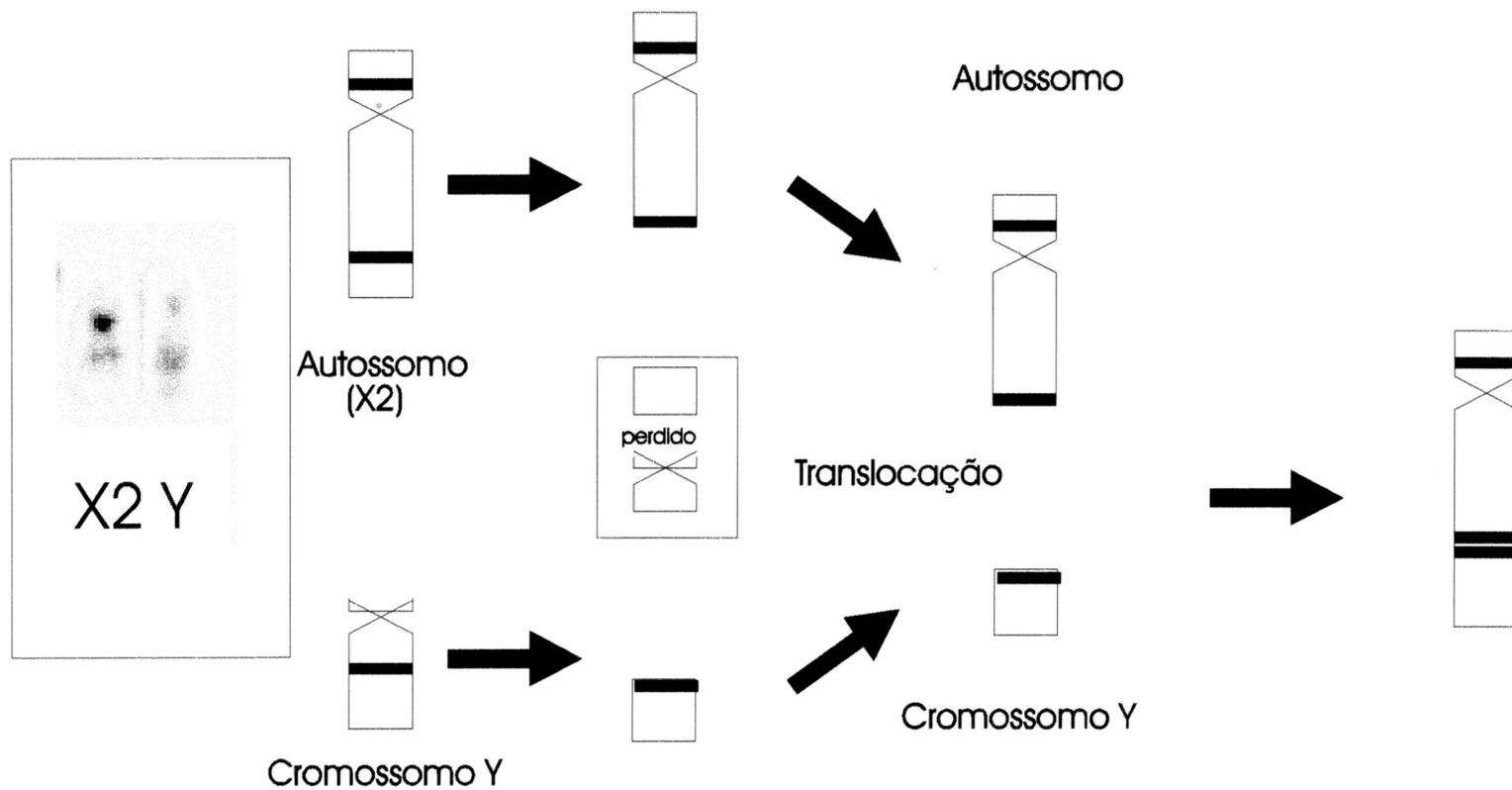
O exemplar com  $2n=48$ , proveniente de Registro, SP, e descrito por KOIFFMANN (1977) apresentou-se heterozigoto para dois rearranjos robertsonianos. A análise comparativa entre esse citótipo e os exemplares com  $2n=45$  e 46 e  $2n=49$  sugere que o cariótipo do exemplar de Registro possa representar um estágio intermediário entre os cariótipos de  $2n=49$  e 50 e  $2n=45$  e 46. A possibilidade de o animal ser um híbrido pode ser descartada, já que o mesmo não apresenta nenhum cromossomo que possa ser equivalente ao par envolvido na translocação Y-autossomo

e ao par 3 de  $2n=45$  e 46. Apesar de o padrão de bandas apresentado pelo autor não ser claro o bastante, parece que o número diplóide com 48 cromossomos surgiu a partir de  $2n=50$ , com um fusão cêntrica entre os pares 10 e 17 e outra nos pares 11 e 18.

De acordo com KING (1993), a ocorrência de translocações múltiplas diminui acentuadamente as chances de uma segregação eficiente durante a meiose, tendo o potencial de agir como uma forte barreira pós-copulatória por produzir zigotos não balanceados ou inviáveis, ou híbridos inférteis. Pode-se inferir que os rearranjos cromossômicos possam ter surgido em pequenas demes por processos estocásticos (LANDE, 1979), sendo fixados rapidamente devido aos efeitos deletérios da meiose de heterozigotos (WHITE, 1978). A separação das duas populações em taxa diferentes, como demonstrado nos estudos cladísticos, seria justificada por um grande número de rearranjos que diferenciam bastante os citótipos observados. Reforçando essa hipótese, observa-se que a translocação do cromossomo Y envolve diferentes autossomos em cada citótipo.

Além disso, foram observadas também diferenças no padrão de coloração da pelagem dos animais pertencentes a cada uma das populações (RENATO GREGORIN, 1995, com. pes.), o que vem reforçar a idéia de que estas já possam estar realmente isoladas reprodutivamente.

O padrão de bandas apresentado pelos cromossomos envolvidos na translocação Y- autossomo sugere que o processo tenha envolvido o braço longo do autossomo (fig. 40). Nos machos com  $2n=45$ , houve a ocorrência de um processo similar, porém envolvendo o braço curto de um outro par de autossomos submetacêntricos, de tamanho entre os pares 2 e 3.



**Fig.40 - Representação esquemática do rearranjo envolvendo o cromossomo Y e um autossomo em *Alouatta fusca clamitans*,  $2n=49$ .**

Esses resultados mostram que *Alouatta fusca clamitans* parece estar em ativo processo de especiação cromossômica. Os dados sugerem ainda que as populações do sudeste e sul do país estejam já isoladas reprodutivamente, pois um híbrido entre esses dois grupos apresentaria, no mínimo, a formação de dois trivalentes, o que diminuiria acentuadamente sua fertilidade.

Portanto, fundamentados na diferença acima mencionada, nota-se a necessidade de uma reavaliação taxonômica para essa espécie. Por outro lado, outros estudos, tais como morfológicos, eletroforéticos e moleculares podem fornecer informações igualmente importantes no sentido de solucionar os problemas advindos principalmente da citogenética.

## 2. O CARIÓTIPO DE *Alouatta caraya*

Os 12 indivíduos da amostra eram procedentes de Santa Catarina, São Paulo e Corrientes (Argentina). Todos apresentaram o número diplóide de 52 cromossomos, sendo que em 11 deles foram observados 70 braços autossômicos e em apenas uma das fêmeas, proveniente de Santa Catarina, notou-se variação no NA, igual a 68, devido a uma inversão pericêntrica homozigota no par 8. O sistema cromossômico de determinação sexual apresentou-se do tipo XX/XY, com o X submetacêntrico e o Y acrocêntrico em três machos e metacêntrico em um. A ocorrência de uma inversão pericêntrica explicaria o heteromorfismo detectado. Esses rearranjos nessa espécie são aqui descritos pela primeira vez. Apesar disso, os dados corroboram com a hipótese de que *A. caraya* apresenta o cariótipo mais estável dentre as espécies de seu gênero (MUDRY *et al.*, 1994), tendo o número diplóide constante, além de não apresentar translocação Y-autossomo.

A distribuição pericentromérica da heterocromatina de todos os cromossomos, incluindo os sexuais, assemelha-se ao padrão observado na maioria dos primatas. Entretanto, a ausência de segmentos heterocromáticos intercalares ou terminais diferem do padrão descrito para essa espécie por MUDRY *et al.* (1984), que demonstrou a presença de segmentos intercalares em um par de acrocêntricos. Além disso, o padrão observado em ***A. caraya*** da nossa amostra também difere de todas as outras espécies desse gênero e de outros dentro da ordem Primates (MA *et al.*, 1975, LIMA & SEUÀNEZ, 1991; LIMA *et al.*, 1990; KOIFFMANN & SALDANHA, 1974; DUTRILLAUX *et al.*, 1978; DUTRILLAUX, 1979).

Por bandamento RON, não foram encontrados indivíduos com mais de quatro cromossomos marcados, como descrito por MUDRY *et al.* (1994), nem mesmo nos exemplares provenientes da Argentina. O número de cromossomos marcados em nossas análises variou de dois a quatro, na região intercalar do braço longo de pequenos acrocêntricos, sendo idêntico àquele observado em ***A. fusca clamitans***. A distribuição das RONS corresponde às constrições secundárias observadas em coloração convencional.

### 3. O CARIÓTIPO DE *Alouatta belzebul*

Os animais analisados foram capturados em Tucuruí (PA), e apresentaram um complemento cromossômico formado por 50 cromossomos nas fêmeas e 49 nos machos, devido a uma translocação envolvendo o cromossomo Y e um autossomo acrocêntrico, de tamanho entre os pares 16 e 17. Desta forma, o sistema cromossômico de determinação sexual é do tipo múltiplo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ . Esses dados corroboram com os achados de ARMADA *et al.* (1987) e LIMA &

SEUÂNEZ (1989). O complemento autossômico apresentou 11 pares de cromossomos meta e submetacêntricos e 12 acrocêntricos. Apesar de ARMADA *et al* (1987) terem demonstrado esse rearranjo a partir de estudos meióticos em *A. belzebul belzebul* provenientes de Tucuruí, PA, e sugerido o autossomo envolvido no rearranjo, sentimos uma grande dificuldade em identificá-lo perfeitamente, apesar do bom padrão de bandamento G obtido. Isso se deve ao fato de praticamente inexistirem diferenças quanto ao tamanho e padrão de bandas G entre os dois cromossomos, sugeridos pelos autores citados como envolvidos no rearranjo.

O bandamento C revelou, tal qual nas espécies anteriores, a presença de blocos heterocromáticos pericentroméricos em todos os cromossomos do genoma. Além destes, o par 4 apresentou blocos heterocromáticos na região telomérica do braço curto, à semelhança do par 2 de *Alouatta fusca clamitans*, e os pares 15 e 19 apresentaram blocos intercalares.

As regiões organizadoras de nucléolo estão situadas no braço curto de um par de submetacêntricos, provavelmente par 8, e no braço longo de dois pares de acrocêntricos de pequeno tamanho.

Analisando comparativamente os cariótipos de *A. belzebul belzebul*, da presente amostra, e *A. belzebul nigerrima*, de procedência desconhecida, descrito por ARMADA *et al.* (1987), verificam-se diferenças quanto ao número de braços autossômicos e correspondente padrão de bandamento G. A nível de bandamento G, *A. belzebul nigerrima* mostra uma grande similaridade com o cariótipo bandado de *A. seniculus*, mesmo com a diferença entre os números diplóides destes dois taxa - 46 cromossomos no complemento A de *A. seniculus*. Reforçam nossos achados as observações de HERSHKOVITZ (1949) sobre o aparato híóide das espécies desse

gênero, onde verificou que o de *A. belzebul nigerrima* é mais similar ao de *A. seniculus* do que ao de *A. belzebul belzebul*, e os dados craniométricos também associam *A. b. nigerrima* com *A. seniculus* (RENATO GREGORIN, 1995, com. pes.). Além desses fatos, a localização das RONS em *Alouatta belzebul nigerrima* mostra-se idêntica àquela observada em algumas subespécies de *A. seniculus*.

#### 4. O CARIÓTIPO DE *Alouatta seniculus*

Os espécimes de nossa amostra, pertencentes às subespécies *A. s. macconelli* e *A. s. stramineus*, foram capturados no Pará, às margens do Rio Trombetas (subespécie *A. s. macconelli*) e do Rio Uatamã (subespécie *A. s. stramineus*). Os animais apresentaram uma variação no  $2n$  de 46 a 48, e  $NA = 62$  a 65, devido à variação do número de cromossomos supernumerários presentes, de zero a três. Esses dados confirmam aqueles previamente publicados por LIMA *et al.* (1990) e LIMA & SEUÀNEZ (1991) para essas subespécies.

O padrão de bandamento G observado foi idêntico àquele descrito para a subespécies *stramineus* (LIMA & SEUANEZ, 1991). Segundo estes autores, o cariótipo das duas subespecies diferem entre si por uma translocação recíproca, envolvendo os cromossomos 3 e 16 do cariótipo aqui apresentado e 2 e 20 de *A. s. macconelli* (LIMA *et al.* 1990). Tal diferença não foi detectada em nossa amostra, provavelmente devido a um polimorfismo cromossômico em *A. s. macconelli*, ou falha no momento de identificação da origem do material. Nos machos, observou-se um par heteromórfico, formado por um submetacêntrico e um acrocêntrico. LIMA *et al.* (1990) demonstraram que este heteromorfismo deve-se a uma translocação envolvendo um dos autossomos e o cromossomo Y. Os autores evidenciaram o rearranjo através de

bandamento G e estudos meióticos, em que se observou a formação de um trivalente.

Na presente amostra, os exemplares apresentaram blocos de heterocromatina constitutiva na região centromérica de todos os cromossomos, com exceção dos pares 4 e 8, que não apresentam segmentos heterocromáticos. Diferentemente do resultado observado por MINEZAWA *et al.* (1985) e corroborando com os achados de LIMA *et al.* (1990) e LIMA & SEUÀNEZ (1991), os cromossomos supernumerários apresentaram-se completamente heterocromáticos.

Essa foi a única espécie do gênero a apresentar duas regiões organizadoras de nucléolo distintas em um mesmo braço. Apesar de LIMA *et al.* (1990) denominarem essa configuração incomum de duplicação, sugerimos que as mesmas não seriam cópias de uma mesma RON, e sim duas RONs distintas em cada braço, já que, nas outras espécies de *Alouatta*, observamos o número mínimo de quatro marcações, em dois pares de cromossomos. Além disso, a comparação do padrão de bandamento G dos cromossomos marcados com bandamento RON em *A. s. stramineus* e *A. s. macconelli* (par 9, metacêntrico), e em *A. s. arctoidea*, proveniente da Venezuela (par 17, acrocêntrico, portador de uma RON em cada braço) (STANYON *et al.*, 1995), sugere que esses cromossomos tenham se diferenciado pela ocorrência de uma inversão pericêntrica. O padrão de bandas de *A. seniculus* observado nos indivíduos da presente amostra assemelha-se àquele descrito para *A. belzebul nigerrima* (ARMADA *et al.*, 1987).

Até o momento, cinco das nove subespécies de *A. seniculus* descritas por HILL (1962) foram analisadas citogeneticamente. Os dados sugerem que elas exibem cariótipos bastante distintos entre si, tanto quanto ao número e morfologia dos cromossomos e padrão de bandamento G quanto à presença de cromossomos b e

de translocações do tipo Y-autossomo.

YUNIS *et al.* (1976) analisou 23 espécimes de *A. s. seniculus* de diferentes localidades na Colômbia, encontrando um número diplóide que variou de 43 a 45 (NA=54-58), devido à presença de três a cinco cromossomos supernumerários, metacêntricos. Dois espécimes apresentaram variação devido a uma inversão pericêntrica no par 13, o que modificou seu NA para 56. Os cromossomos supernumerários não apresentaram segmentos heterocromáticos. O sistema cromossômico de determinação sexual apresentou-se como XX/XY.

MINEZAWA *et al.* (1985) encontraram em *A. s. seniculus sara*, da Bolívia, um número diplóide variando entre 48 a 51, devido à presença de diferentes números de cromossomos supernumerários, acrocêntricos e positivamente corados em bandamento C. As fêmeas apresentaram 16 pares de autossomos meta e submetacêntricos e um par de cromossomos X submetacêntricos, enquanto os machos apresentaram 16 cromossomos meta e submetacêntricos, com dois cromossomos ímpares entre estes. O número de acrocêntricos foi de 26 nas fêmeas e 27 nos machos. Essas diferenças foram atribuídas a uma inversão pericêntrica, que modificou um dos cromossomos do par 6 em submetacêntrico, e uma fusão do outro componente desse par com o cromossomo Y, sendo que o sistema cromossômico de determinação sexual apresenta-se como  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ . Entretanto, STANYON *et al.* (1995) discordam de MINEZAWA *et al.* (1985), alegando que pelo menos 10 rearranjos cromossômicos separam *A. s. sara* de *A. s. seniculus*, demonstrando através de um ótimo padrão de bandamento G, que *A. s. sara* apresentaria uma translocação idêntica àquela observada em *A. s. stramineus* e *A. s. macconelli*, apresentando desta forma o sistema de determinação sexual múltiplo,  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$ .

Em *A. seniculus stramineus*, LIMA & SEUÀNEZ (1991) obtiveram uma variação do número diplóide de 47 a 49, sendo essa variação também devido à presença de diferentes números de cromossomos supernumerários. Os machos apresentaram uma translocação do tipo Y-autossomo, envolvendo o braço curto do cromossomo 7, o que modificou o sistema cromossômico de determinação sexual para  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ . Além disso, foi detectado heteromorfismo cromossômico no par 13, devido a uma inversão pericêntrica, bem como no par 19, no segmento heterocromático.

Nos nove exemplares da subespécie *A. seniculus macconelli*, capturados próximos ao Rio Jari, a variação do  $2n$  de 47 a 49 novamente deve-se ao número de cromossomos supernumerários (LIMA *et al.*, 1990). Em ambos os sexos, o número cromossômico era o mesmo, apesar da translocação envolvendo o cromossomo Y no macho. O sistema cromossômico de determinação sexual modificou-se para  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ , envolvendo um cromossomo de dois braços idêntico àquele envolvido nesse processo em *A. seniculus stramineus*. As regiões organizadoras de nucléolo são observadas no par 9, submetacêntrico, e no par 20, submetacêntrico, no braço curto (STANYON *et al.*, 1995).

STANYON *et al.* (1995) descrevem o cariótipo de *A. s. arctoides*, capturados na Venezuela, formado por 44 a 45 cromossomos e  $NA= 54$  a 55. Essa variação se deve à presença de cromossomos supernumerários, em número de quatro nas fêmeas e cinco nos machos. Como comentado anteriormente, nessa subespécie as regiões organizadoras de nucléolo encontram-se situadas no par 9, acrocêntrico, no braço curto, e outras duas no par 17, acrocêntrico - uma no braço longo e outra no braço curto. Segundo os autores, o cariótipo dessa subespécie diverge do de *A. s.*

*sara* por, pelo menos, 14 rearranjos cromossômicos.

Na figura 41, apresentamos a distribuição geográfica das diferentes subespécies de *Alouatta seniculus* analisadas até o momento. A análise do número diplóide associada à procedência dos animais nos mostra que há uma redução no  $2n$  de *Alouatta seniculus* na direção sul-norte. Desta forma, das subespécies analisadas até o momento, aquela de distribuição mais meridional, *A. s. sara*, apresenta em seu complemento principal o maior número de cromossomos (48), enquanto a subespécie mais setentrional, *A. s. arctoidea*, apresenta em seu complemento principal apenas 40 cromossomos (MINEZAWA et al. 1985; STANYON et al., 1995). É importante frisar que *A. s. arctoidea*, além desse fato, apresenta o maior número de cromossomos supernumerários (4 nas fêmeas e 5 nos machos, segundo STANYON et al. 1995). Isso se deve provavelmente ao grande número de rearranjos complexos que levaram à redução de cromossomos no complemento dessa subespécie.

A implicação mais óbvia da grande da variabilidade cariotípica em *A. seniculus* observada até o momento é de que há a necessidade de investigações do status taxonômico das subespécies desse grupo, levando-se em conta um maior número de critérios.

## 5. O SISTEMA CROMOSSÔMICO DE DETERMINAÇÃO SEXUAL EM *Alouatta*

O sistema cromossômico mais freqüente e conhecido é aquele em que o macho apresenta um par de cromossomos heteromórficos (XY) (GUERRA, 1988). No entanto, esse sistema pode aparecer modificado para sistemas múltiplos devido principalmente a translocações envolvendo um cromossomo sexual e um autossomo (GUERRA, 1988).



Fig.41 - Distribuição geográfica dos diferentes citótipos observados em *Alouatta seniculus* (YUNIS *et al.*, 1976; MINEZAWA *et al.*, 1985; LIMA *et al.*, 1990; LIMA & SEUANEZ, 1991; STANYION *et al.*, 1995).

Em vertebrados, os peixes formam o grupo que apresenta mais freqüentemente os sistemas cromossômicos múltiplos de determinação sexual. Em populações de *Hoplias malabaricus* de diferentes estados brasileiros, observou-se a existência de três sistemas cromossômicos de determinação sexual distintos: XX/XY,  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  e  $XX/XY_1Y_2$  (BERTOLLO et al., 1983).

Nos Mamíferos, sistemas múltiplos foram observados em roedores (SBALQUEIRO et al. 1984; CASTRO, 1989), quirópteros (KASAHARA & DUTRILLAUX, 1983) carnívoros (FREDGA, 1972; PATHAK e STOCK, 1976), e primatas (KOFFMANN, 1977; KOFFMANN & SALDANHA, 1974, DUTRILLAUX et al., 1984; MA et al., 1975; ARMADA et al., 1987; LIMA et al. 1990, LIMA & SEUÀNEZ, 1991), entre outros. O roedor *Deltamys kempi* (SBALQUEIRO et al, 1984; CASTRO, 1989) apresenta o sistema de determinação sexual múltiplo do tipo  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ , devido a uma translocação do cromossomo Y para um autossomo, modificando o 2n nos machos de 38 para 37. Esse sistema também é observado em alguns carnívoros da família Mustelidae, como no gênero *Herpetes* (FREDGA, 1972). Já no quiróptero *Artibeus lituratus*, observamos o sistema de determinação sexual do tipo  $XX/XY_1Y_2$ , com 31 cromossomos nos machos e 30 nas fêmeas (KASAHARA & DUTRILLAUX, 1983).

Em primatas, sistema múltiplos de determinação sexual são raros. Em catarrinos, há apenas um caso descrito, em *Presbytis cristatus* (DUTRILLAUX et al., 1984), que apresenta um sistema múltiplo do tipo  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ . Em platirrinos, três gêneros, além de *Alouatta*, apresentaram o sistema cromossômico de determinação sexual do tipo múltiplo: *Aotus*, *Callimico* e *Cacajao*. Em *Cacajao*, KOFFMANN & SALDANHA (1981) descrevem dois machos com  $2n=49$ , em contraste com as fêmeas

com  $2n=50$ . Os autores atribuem a diferenças entre os números diplóides a uma translocação do tipo Y-autossomo envolvendo um par de cromossomos acrocêntricos, heteromórfico nos machos.

As espécies pertencentes ao gênero *Alouatta* mostraram uma grande variação no tipo de sistema cromossômico de determinação sexual. Das cinco espécies analisadas até o momento, a única a apresentar um sistema cromossômico de determinação sexual constante do tipo XY/XX foi *Alouatta caraya*.

Nas outras espécies analisadas, esse sistema aparece modificado para  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$  em *Alouatta seniculus macconelli*, *A. s. sara*, *A. s. arctoidea* e *A. s. stramineus*, e, mais freqüentemente, para  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ , em *A. fusca clamitans*, *A. belzebul belzebul* e *A. palliata* (MA et al., 1975).

É importante salientar o fato de que, enquanto *A. palliata* e *A. belzebul belzebul* parecem manter a translocação entre o Y e um autossomo como um caráter constante, foram descritos machos de *A. seniculus seniculus* e de *A. fusca clamitans* que não apresentavam esse rearranjo.

Os cromossomos sexuais de *Alouatta* contribuem de uma forma acentuada para a atual diversidade cariotípica observada tanto inter como intra-específica no gênero. Em vista dos diferentes tipos de translocações Y-autossomo observadas, assim como dos diferentes autossomos envolvidos, é sugerido que esses processos sejam mais recentes que a radiação do gênero, originando-se a partir de processos de orto-seleção cariotípica.

## 6. OS CROMOSSOMOS SUPERNUMERÁRIOS EM *Alouatta*

Os indivíduos pertencentes à espécie *Alouatta seniculus* de nossa amostra apresentaram cromossomos supernumerários, que variaram em número de zero a três por célula. Essa característica citogenética é desconhecida em outros macacos, incluindo outras espécies de seu gênero, mas são comuns em *Prosimii* (RUMPLER & DUTRILLAUX, 1986).

A origem e significado desses cromossomos são desconhecidos. Segundo LIMA & SEUÀNEZ (1991), os cromossomos B observados em *A. seniculus*, cujo cariótipo é um dos mais singulares dentre as espécies desse gênero, teriam surgido como resíduos de rearranjos complexos. KING (1993) sugere que os cromossomos supernumerários podem ser produzidos durante translocações Robertsonianas, mas que normalmente são perdidos.

A variabilidade no número desses elementos sugere que eles apresentam pouca, ou nenhuma, informação genética essencial. Além disso, o próprio comportamento dos cromossomos supernumerários no bandamento C é variável, podendo apresentar-se positivamente (MINEZAWA et al., 1985; LIMA et al., 1990) ou negativamente (YUNIS et al., 1976) marcados. STANYON et al. (1995) sugerem que a presença desses cromossomos em *Alouatta seniculus* indica sua origem muito recente.

## 7. ESTUDOS CLADÍSTICOS E A EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA EM *Alouatta*

O cladograma obtido apresenta-se muito similar aos arranjos taxonômicos propostos até o momento baseados em dados morfológicos.

O monofiletismo de *Alouatta* foi comprovado por cinco sinapomorfias

(caracteres 1, 2, 3, 4, 21 e 27). Nota-se que *Alouatta palliata* pode, ao nível cromossômico, ser considerado como a espécie que apresenta o cariótipo menos derivado dentre as espécies de *Alouatta*, o que concorda com a proposta de HERSHKOVITZ (1949), baseada em dados morfológicos, e seguida por MITTERMEYER & COIMBRA-FILHO (1988).

Fundamentados nas interrelações cromossômicas envolvendo as espécies de *Alouatta* do presente trabalho na análise dos dados obtidos pelo emprego das técnicas de bandamento e de estudos cladísticos, propomos uma modificação na classificação das espécies da amostra e citados na literatura aqui considerados, como segue:

-As duas populações de *Alouatta fusca clamitans* analisadas (AFU1, com  $2n=49$  e AFU2, com  $2n=45$  e  $46$ ) correspondem na realidade a dois taxa distintos, provavelmente espécies diferentes.

-*A. belzebul nigerrima*, que apresentou um cariótipo mais similar ao de *A. seniculus* do que ao de *A. belzebul belzebul*, porém com diferenças originadas provavelmente a partir de inversões e fusões, é considerado como um táxon a parte.

-As espécies do gênero *Alouatta* poderiam ser classificadas em três grupos:

- a) Grupo PALLIATA : *Alouatta palliata*
- b) Grupo CARAYA: *Alouatta caraya*
- c) Grupo BELZEBUL: *Alouatta belzebul belzebul*
- d) Grupo FUSCA: *Alouatta fusca clamitans*  $2n=49$  e *A. f. clamitans*  $2n=45$  e  $46$ .
- e) Grupo SENICULUS: *Alouatta seniculus* e *Alouatta belzebul nigerrima*

Essa proposta difere bastante daquelas apresentadas anteriormente. HERSHKOVITZ (1949), classificou *A. palliata* e *A. caraya* no mesmo grupo, já que o aparelho hióide destas espécies são os menos especializados. *A. fusca*, *A. belzebul* e *A. seniculus* são classificados em um mesmo grupo, sendo que o autor considerou o aparelho hióide de *A. fusca* e *A. belzebul* como mediamente especializados, e o de *Alouatta seniculus* como o mais especializado dentre eles.

As comparações entre os diferentes cariótipos observados em indivíduos da mesma espécie e entre espécies diferentes permitem afirmar que os principais rearranjos observados na filogenia de *Alouatta* - inversões, fusões, fissões, translocações e mecanismos complexos - não diferem daqueles descritos para a maioria dos primatas. Assim, as inversões pericêntricas foram detectadas como os rearranjos mais comuns na especiação de pongídeos (DUTRILLAUX *et al.*, 1979) e dos platirrinos (DUTRILLAUX & COUTURIER, 1981; DUTRILLAUX *et al.*, 1986; DUTRILLAUX, 1988b). Já as inversões paracêntricas são freqüentes em calitriquídeos (BERDAD *et al.*, 1978; DANTAS, 1994). Por outro lado, as fusões e fissões cêntricas tiveram papel marcante na evolução de prossímios (RUMPLER *et al.*, 1988), além de terem sido indicadas como os principais mecanismos de diferenciação cromossômica em mamíferos (DUTRILLAUX, 1988b). Quanto aos mecanismos cromossômicos complexos, as subespécies de *Ateles paniscus* (*A. p. paniscus*, 2n=32 e *A. p. chamek*, 2n=34) diferem provavelmente devido a uma fusão *in tandem* (DE BOER & BRUIJN, 1990).

A análise do cladograma obtido, considerando 33 caracteres referentes aos braços cromossômicos em bandamento G sugere que a evolução cariotípica neste gênero apresenta uma tendência à diminuição do número diplóide.

Desta forma, *Alouatta palliata*, a espécie com o cariótipo mais conservado do gênero, apresenta o  $2n$  mais alto do gênero (54), seguida por *Alouatta caraya* ( $2n=52$ ), enquanto *Alouatta seniculus*, uma das espécie com o cariótipo mais derivado, apresenta  $2n= 43$  a 49. Este fato confirma a hipótese de que, nos platirrininos, há uma tendência à diminuição do número diplóide durante irradiação dos diversos gêneros (MEDEIROS, 1993).

Baseados nestes dados, verifica-se que o grupo *Alouatta fusca* está sofrendo uma redução no seu número diplóide, de  $2n=52$ , possivelmente o cariótipo ancestral, até  $2n=45$ , o mais derivado. Observa-se, ainda, que esta redução está ocorrendo na direção norte-sul, conforme mostrado na figura 37. Os segmentos cromossômicos específicos observados nos diferentes cariótipos parecem ter surgido a partir de rearranjos complexos, não identificáveis com o uso das técnicas empregadas neste trabalho, envolvendo segmentos e braços inteiros de cromossomos.

Em geral, os macacos platirrininos parecem ser cariotipicamente variáveis. Em *Saimiri*, três diferentes inversões pericêntricas apresentam distribuições geográficas distintas, de acordo com as subespécies (MOORE et al., 1990). As espécies e subespécies de *Ateles* foram descritas quatro diferentes inversões pericêntricas (KUNKEL et al., 1980; DE BOER & BRUIJN, 1990).

Entre os primatas, a situação citogenética dos macacos *Alouatta* assemelha-se àquela descrita para os macacos-da-noite, *Aotus* (MA, 1981; HERSHKOVITZ, 1983). Este gênero, amplamente distribuído na América do Sul, é um dos mais diversificados cariotipicamente dentre os mamíferos, existindo 14 populações definidas cariotipicamente. É provável que, à medida que mais grupos dentro de *Alouatta* sejam estudados cariotipicamente, encontrem-se uma variação igual ou até

superior àquela verificada em *Aotus*.

Uma das hipóteses que tenta explicar o alto polimorfismo cromossômico nos primatas do Novo Mundo seria de que a diferenciação cromossômica ocorreu como resultado do refúgio florestal durante o quaternário (MA, 1981; KUNKEL et al., 1980). As mutações cromossômicas teriam mais facilmente se fixado devido ao endocruzamento entre os membros de pequenos grupos isolados (MA, 1980). As espécies de *Alouatta* são encontrados em locais por vezes não habitados por nenhuma outra espécie de primata, como por exemplo manchas florestais, restos de queimada e até em pequenos arvoredos no cerrado (WOLFHEIM, 1983).

WILSON et al. (1974), BUSH et al. (1977) e LARSON et al. (1984) propuseram que há uma estreita relação entre a estrutura social das populações de animais, taxas de especiação e envolvimento de rearranjos cromossômicos nesses processos. Desta forma, a própria organização social das espécies de *Alouatta* deve ter facilitado a fixação de novas variantes cromossômicas.

Sendo animais sociais, as espécies de *Alouatta* vivem em grupos de, em média, 15 indivíduos, formados por um a três machos e várias fêmeas e imaturos (EISENBERG, 1989; CROCKET, 1993;). O macho dominante fecunda a maioria absoluta das fêmeas receptivas no grupo (CROCKET, 1993). Se uma nova variante surge, ao acaso, em um macho dominante, esta seria transmitida aos seus descendentes e, posteriormente, poderia chegar à homozigose devido ao alto grau de endocruzamento observado neste grupo, e avolumado pela crescente fragmentação do habitat natural destas espécies.

## V. CONCLUSÕES

Os estudos citogenéticos e cladísticos realizados em uma amostra de 34 exemplares pertencentes a quatro espécies do gênero *Alouatta*, juntamente *Cebus apella* e mais duas espécies citadas na literatura, sendo uma do mesmo gênero da amostra e a outra *Chiropotes satanas*, permitem as seguintes conclusões:

### 1. *Alouatta fusca* Humboldt, 1812

1) A subespécie *A. fusca clamitans* foi a que apresentou a maior variação cromossômica dentre as espécies analisadas, mostrando número diplóide igual a 52, 49, 45 e 46, com número de braços autossômicos igual a 72, 60, 64 e 64, respectivamente. Os principais rearranjos responsáveis por essa variação foram fusões cêntricas, inversões pericêntricas e translocações do tipo Y-autossomo, além de rearranjos complexos, que originaram segmentos característicos de cada complemento. O sistema cromossômico de determinação sexual mais freqüentemente observado foi o do tipo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ , não sendo entretanto um caráter constante, com um macho exibindo o original sistema XY/XX.

2) A variação observada em *A. fusca clamitans* apresenta-se fortemente associada à distribuição geográfica dos espécimes analisados. A análise desses dados em conjunto com os rearranjos que ocorreram na diferenciação dos citótipos leva a crer que as populações do sudeste e sul do país encontram-se em diferentes estágios de especiação cromossômica, podendo estar inclusive isoladas

reprodutivamente entre si.

3) A heterocromatina constitutiva distribui-se preferencialmente na região centromérica. Além disso, os cromossomos 2 e 17 em  $2n=49$  e 2 e 15 em  $2n=45$  e 46 apresentaram, respectivamente, segmentos teloméricos e intercalares. O par cromossômico 6 em  $2n=49$  e  $2n=45$  e 46 mostraram o braço curto inteiramente marcado no bandamento C.

4) As regiões organizadoras de nucléolo encontram-se situadas em dois a quatro pequenos cromossomos acrocêntricos, sendo do tipo duplo e localizando-se na região intercalar do braço longo. Esse resultado concorda com o número e com a posição de constrições secundárias observadas em coloração convencional.

## 2. *Alouatta caraya* Humboldt, 1812

1) ***A. caraya*** mostrou pouca variabilidade cariotípica, apesar de os indivíduos analisados terem sido capturados em localidades muito distintas. O número cromossômico (52) foi constante. O número de braços autossômicos foi de  $NA=68$  ou  $NA=70$ , devido a uma inversão pericêntrica homozigota em uma fêmea de Santa Catarina. Além disso, foi observada também uma inversão pericêntrica em um macho de mesma procedência, no cromossomo Y. O sistema de determinação sexual foi do tipo XY/XX em todos os espécimes observados.

- 2) O padrão de bandamento C de ***A. caraya*** mostrou segmentos heterocromáticos especificamente na região centromérica em todos os cromossomos.
- 3) Dois a quatro cromossomos acrocêntricos apresentaram-se marcados com o nitrato de prata no bandamento RON, correspondendo ao número de cromossomos observados com constrição secundária em coloração convencional (pares 20 e 21).

### 3. ***Alouatta belzebul*** Linnaeus, 1766

- 1) Os animais analisados, da subespécie ***A. b. belzebul***, apresentaram o número diplóide de  $2n=49$  nos machos e  $2n=50$  nas fêmeas e o  $NA=68$  constante. Essa variação deve-se a uma translocação do tipo Y-autossomo, envolvendo um par de autossomos acrocêntricos. O número de braços autossômicos foi igual a 54, com 11 pares de dois braços. Os dados obtidos para essa subespécie confirmam aqueles publicados anteriormente por LIMA & SEUÀNEZ, (1989) e ARMADA *et al.* (1988).
- 2) Comparações citogenéticas entre os cariótipos de ***A. b. belzebul*** da presente amostra e ***A. b. nigerrima*** da literatura mostram que essas duas subespécies apresentam grandes diferenças cromossômicas ao nível de número de braços autossômicos e de bandamento G..
- 3) O sistema de determinação sexual é do tipo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$ , tendo sido observado em todos os machos dessa espécie descritos até o momento.
- 4) Todos os cromossomos de ***A. belzebul belzebul*** apresentaram-se marcados

por bandamento C na região centromérica. Além disso, um par de submetacêntricos (par 4) e dois pares de acrocêntricos (pares 15 e 19) apresentaram segmentos teloméricos e intercalares, respectivamente.

5) Um par de submetacêntricos e um par de acrocêntricos apresentaram regiões organizadoras de nucléolos.

#### 4. *Alouatta seniculus* Linnaeus, 1766

1) As duas subespécies de *A. seniculus* analisadas, *A. s. macconelli* e *A. s. stramineus*, não apresentaram diferenças cariotípicas, corroborando com os dados descritos por LIMA & SEUÁNEZ (1991) para essa espécie. O número diplóide variou de  $2n=46$  a  $2n=49$ , devido à presença de zero a três cromossomos supernumerários. O genoma A é formado por 11 pares de cromossomos de dois braços, o X submetacêntrico e o Y acrocêntrico. Os cromossomos supernumerários eram todos acrocêntricos.

2) O cariótipo de *Alouatta seniculus* parece sofrer uma redução no número diplóide em direção sul-norte. Esta relação entre o número diplóide e a procedência dos animais não é tão clara quanto a observada em *A. fusca clamitans*, provavelmente pela ampla distribuição geográfica e grande número de subespécies de *A. seniculus* ainda não analisadas citogeneticamente.

3) O padrão de bandamento G assemelhou-se àquele publicado por LIMA et al.,

(1990) e LIMA & SEUÀNEZ (1991) para essas subespécies. Além disso, a análise comparativa entre os cariótipos de *A. seniculus* da amostra e aquele publicado para *A. belzebul nigerrima* (ARMADA *et al.* 1987) permite-nos afirmar que há um grande número de homologias entre esses dois taxa.

4) Nos animais analisados, o sistema de determinação sexual encontra-se modificado para  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ , devido a uma translocação envolvendo um segmento do braço curto de um cromossomo submetacêntrico, de tamanho entre os pares 6 e 7, e o braço longo do Y.

5) À exceção de dois pares (4 e 8), que não apresentaram segmentos heterocromáticos, os demais mostraram uma forte marcação em bandamento C, especificamente na região centromérica.

6) As regiões organizadoras de nucléolo encontram-se localizadas no par 9, metacêntrico, estando em número de duas em cada braço.

## 5. ESTUDOS CLADÍSTICOS

1) O cladograma obtido da matriz básica de dados, incluindo 33 caracteres, apresentou 206 passos e um índice de consistência de 75,9%.

2) O gênero *Alouatta* apresentou-se como um grupo monofilético, separado nitidamente das espécies usadas como grupo-externo. *A. palliata* apresentou o

cariótipo mais próximo do ancestral hipotético deste grupo, com o qual compartilha 23 simplesiomorfias.

3) A análise do cladograma sugere que alguns taxa do gênero ***Alouatta***, considerados como espécies únicas, sejam na verdade complexos de espécies, como no caso de ***Alouatta fusca clamitans*** e ***Alouatta belzebul***. Em ***A. fusca clamitans***, dois cariótipos distintos tem número e morfologia diferentes, apresentando inclusive segmentos próprios de cada um deles, que devem ter se originado a partir de rearranjos complexos durante a divergência dos dois citótipos. Já a análise comparativa dos cariótipos de ***A. belzebul belzebul*** e ***Alouatta belzebul nigerrima*** mostram que, apesar do mesmo número diplóide observado, há pouca semelhança no padrão de bandamento G dessas duas subespécies.

4) O cladograma obtido mostra que as espécies de ***Alouatta*** analisadas podem ser reunidas em cinco grupos distintos:

a) Grupo PALLIATA: ***A. palliata***

b) Grupo CARAYA: ***A. caraya***

c) Grupo BELZEBUL: ***A. belzebul belzebul***

d) Grupo FUSCA: ***A. fusca clamitans***

e) Grupo SENICULUS: ***A. seniculus*** e ***A. belzebul nigerrima***

5) A tendência observada no número diplóide das espécies de ***Alouatta*** é de diminuição. Neste processo, estariam envolvidos principalmente fusões e translocações.

6) A disposição dos taxa no cladograma resultante da metodologia cladística aplicada contrasta com aquela decorrente de dados morfológicos, revelando a necessidade de uma reavaliação da classificação taxonômica neste grupo. Para tal, é importante a continuidade de investigação, não só ao nível citogenético, como também eletroforético e molecular, em um maior número de indivíduos, estendendo-se inclusive nas áreas geográficas de distribuição do gênero.

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMADA, J.L.A.; BARROSO, C.M.L.; LIMA, M.M.C.; MUNIZ, J.A.P. & SEUANÉZ, H.N. (1987). Chromosome studies in *Alouatta belzebul*. *Am J Primatol* 13: 283-296.
- ARNASON, U. (1972). The role of chromosomal rearrangements in mammalian speciation with special reference to Cetacea and Pinnipedia. *Hereditas* 70: 113-118.
- AYONOADU, U. & REES, H. (1968). The influence of B-chromosomes on chiasma frequencies in black Mexican sweet corn. *Genetica* 39: 75-81.
- BABA, M.L.; DARGA, L. & GOODMAN, M. (1979). Immunodifusion systematic of the primates. Part V. The Platyrrhini. *Folia Primatol* 32: 207-238.
- BABU, A. & VERMA, R.S. (1986). Characterization of human chromosomal constitutive heterochromatin. *Can J Genet Cytol* 28: 631-644.
- BAKER, R.J. & BARNETT, R.K. (1981). Karyotypic orthoselection for additions of heterochromatic short arms in grasshopper mice (*Onychomys*: Cricetidae). *Southwest Naturalist* 26: 125-131.
- BAKER, R.J. & BICKHAM, J.W. (1980). Karyotypic evolution in bats: Evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. *Syst Zool* 29: 239-253.
- BAKER, R.J. & BICKHAM, J.W. (1986). speciation by monobrachial centric fusions. *Proc Nat Acad Science USA* 83: 245-248.
- BAKER, R.J.; BICKHAM, J.W. & ARNOLD, M.L. (1985). Chromosomal evolution in *Rhogeessa* (Chiroptera: Vespertilionidae): possible speciation by centric fusions. *Evolution* 39: 233-243.
- BAKER, R.J.; KOOP, B.F. & HAIDUK, M.W. (1983). Resolving systematic relationships with G-bands: A study of five genera of South American cricetine rodents. *Syst Zool* 32: 403-416.
- BARROS, R.M.S.; NAGAMASHI, C.Y & PIECZARCA, J.C. (1990). Chromosomal evolution in *Callithrix emiliae*. *Chromosoma* 99: 440-447.
- BATTAGLIA, E. (1964). Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia* 17: 245-299.

- BAVERSTOCK, P.R.; WATTS, C.H.S.; HOGARTH, J.T.; ROBINSON, A.C. & ROBINSON, J.F. (1977). Chromosome evolution in Australian rodents. II. The *Rattus* group. *Chromosoma*, 61: 227-241.
- BEDARD, M.T.; MA, N.S.F. & JONES, T.C. (1978). Chromosome banding patterns and Nucleolar Organizing Regions in three species of Callithrichidae (*Saguinus oedipus*, *Saguinus fuscicollis* and *Callithrix jacchus*). *J Med Primatol* 7: 82-97.
- BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C.S. & MOREIRA FILHO, O. (1983). Multiple sex chromosomes in the genus *Hoplias* (pisces, Erythrinidae). *Cytologia*, 48: 1-12.
- BIANCHI, N.O. (1978). *Duplicacion cromosomica y heterochromatina a nivel molecular y citologico*. 98 p. OEA. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Monografía. Série Biológica, nº19.
- BODMER, W.F. (1975). Analysis of linkage by somatic hybridization and its conservation by evolution. In: *Chromosome variations in human evolution*. Boyce, A.T (ed.), pp 53-61. London, Taylor and Francis Ltd.
- BROWN, S.W. (1966). Heterochromatin. *Science* 151: 417-425.
- BRUMBACK, R.A.; STATON, R.D.; BENJAMIN, S.A. & LANG, C.M. (1971). The chromosomes of *Aotus trivirgatus* Humboldt, 1812. *Folia Primatol* 15: 264-273.
- BUSH, G.L. (1975). Modes of speciation. *Ann Rev Ecol Syst* 6: 339-364.
- BUSH, G.L.; CASE, S.M.; WILSON, A.C. & PATTON, J.L. (1977). Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 74: 3942-3946.
- CABRERA, A. (1958). Catalogo de Mamíferos de America del Sur. *Rev Mus Cs Nat* 6: 1-732.
- CAMIN, J.H. & SOKAL, R.R. (1965). A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution* 19: 311-326.
- CANO, M.I.; HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P. & SANTOS, J.L. (1986). The relationship between chiasma frequency and bivalent length: Effects of genotype and supernumerary chromosomes. *Heredity*, 56: 305-310

- CASTRO, E.C. (1989). Ocorrência e Caracterização Cromossômica de Roedores Akodontinos no Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado, UFRS, Porto Alegre.
- CHIARELLI, B. (1980). The karyology of South american primates and their relationship to African and Asian species. In: *Evolutionary Biology of New World Monkeys and Continental Drift*. Ciochon, R.L., Chiarelli, B (eds.). Plenum Press, New York and Londres.
- CHEUNG, S.W.; SUN, L. & FATHERSTONE, T. (1989). Visualization of NORs in relation to the precise chromosomal localization of ribosomal RNA genes. *Cytogenet Cell Genet* 50: 93-97.
- CLARKE, M.R. (1983). Infant-killing and infant disappearance following male takeovers in a group of free-ranging howling-monkeys (*Alouatta palliata*) in Costa Rica. *Am. J. Primatol.*, 5:241-247.
- CLEMENTE, I.C.; GARCIA, M.; PONSÁ, M & EGOZCUE, J. (1987). High-resolution chromosome banding studies in *Cebus apella*, *Cebus albifrons* and *Lagothrix lagotricha*: Comparison with the human karyotype. *Am J Primatol* 13: 23-36.
- CLEMENTE, I.C.; PONSÁ, M.; GARCIA, M. & EGOZCUE, J. (1990). Evolution of the simiiformes and phylogeny of human chromosomes. *Hum Genet* 84: 493-506.
- COUTURIER, J.; RAZAFIMAHATRATA, E.; DUTRILLAUX, B.; WARTER, S. & RUMPLER, Y. (1986). Chromosomal evolution in the Malagasy Carnivora. I. R-banding studies of *Cryptoprocta ferox*, *Fossa fossana*, *Galidia elegans* and *Mungotictis decemlineata*. *Cytogenet Cell Genet* 41: 1-8.
- CRÉAU-GOLDBERG, N.; COCHET, C.; TURLEAU, C. & DE GROUCHY, J. (1981). Comparative gene mapping of man and *Cebus capucinus*: A study of 23 enzymatic markers. *Cytogenet Cell Genet* 35: 228-239.
- CRESPO, J.A. (1954). Presence of reddish howling monkey (*Alouatta guariba clamitans* Cabrera) in Argentina. *J. Mammal.* 35: 117-118
- CRONIN, J.E. & SARICH, V.S. (1975). Molecular systematics of the New World monkeys. *J Hum Evol* 4: 357-375.

- CROCKETT, C.M. (1983) Emigration by female red howler monkeys and the case for female competition. In: *Female Primates: Studies by Women Primatologists*, M. Small (ed.). Alan R. Riss, New York, pp. 159-173.
- DANTAS, S.M.M.M. (1994). Estudos citogenéticos em oito subespécies do gênero *Saguinus* (Primates). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará/ Museu Emílio Goeldi, Belém. PA.
- DE BOER, L.E.M. (1974). Cytotaxonomy of the platyrrhini (Primates). *Genen Phaenen* 17: 1-115, 1974.
- DE BOER, L.M.E.; DE BRUIJN, M. (1990). Chromosomal distinction between the red faced and black faced spider monkeys (*Ateles paniascus paniscus* and *A. p. chamek*). *Zoo Biology* 9: 307-316.
- DELSON, E. & ROSENBERGER, A.L. (1984). Are there any anthropoid primate living fossils? In: *Living fossils*, N. Eldredge & S. M. Stanley (eds), Springer-Verlag, New York, 1984, pp 50-61.
- DIETZ, R.S. & HOLDEN, J.C. (1970). Reconstruction of Pangea: Breaking and dispersion of continents, Permian to Present. *J Geophys Res* 75 (26): 4939-4955.
- DOLMANN, G. (1933). Primates, ser. 3 British Museum (Natural History). Booklet. Trustees of the British Museum, London (Apud Rosenberger, 1981).
- DUTRILLAUX, B. (1979). Chromosomal evolution in Primates: Tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (Prosimian) to man. *Hum Genet* 48: 251-314.
- DUTRILLAUX, B. (1988a). Chromosome evolution in primates. *Folia Primatol* 50: 134-135.
- DUTRILLAUX, B. (1988b). New interpretation of the presumed common karyotype of Platyrrhini monkeys. *Folia Primatol* 50: 226-229.
- DUTRILLAUX, B.; BIEMONT, E.; VIEGAS-PEQUIGNOT, E. & LAURENT, C. (1979). Comparison of the karyotype of four Cercopithecoidea: *Papio papio*, *P. anubis*, *Macaca macaca* and *M. fascicularis*. *Cytogenet Cell Genet* 23: 77-83.
- DUTRILLAUX, B. & COUTURIER, J. (1981). The ancestral karyotype of the Platyrrhini monkeys. *Cytogenet Cell Genet*. 30: 232-242.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J.; VIEGAS-PEQUIGNOT, E.; CHAUVIER, G. & TREBBAU, P. (1978). Présence d'une hétérochromatine abondante dans le

- caryotype de deux *Cebus*: *C. capuccinus* et *C. nigrivittatus*. *Ann Génét* 21: 142-148.
- DUTRILLAUX, B.; DESCAILLEAUX, J.; VIEGAS-PEQUIGNOT, E. & COUTURIER, J. (1981). Y-autosome translocation in *Cacajao calvus rubicundus* (Platyrrhini). *Ann Genet* 24 (4): 197-201.
- DUTRILLAUX, B.; WEBB, G.; MULERIS, M.; COUTURIER, J.; BUTLER, R. (1984). Chromosome study in *Presbytes cristatus*: Presence of a complex Y-autosome rearrangement in the male. *Ann Genet* 27: 1-34.
- EGOZCUE, J. (1977). Evolucion cromosomica en los primatas. *Invest y Ciência* 9: 72-81.
- EGOZCUE, J.; PERKINS, E.M. & HAGEMENAS, F. (1969). The chromosomes of *Saguinus fuscicolor illigeri* (Putheran, 1845) and *Aotus trivirgatus* (Humboldt, 1811). *Folia Primatol.* 10: 154-159.
- EISENBERG, J.F. (1981). *The mammalian radiation: The order Primates*. pp 156-165. University of Chicago Press, Chicago.
- EISENBERG, J.F. (1989). *Mammals of the Neotropics: The Northern Neotropics, Vol. 1, Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana*. Chicago, University Press, Chicago.
- FALK, D. (1979). Cladistic analysis of New World monkey sulcal patterns: Methodological implications for primate brain studies. *J. Hum Evol* 8: 637-645.
- FARRIS, J.S. (1970). Method for computing Wagner trees. *Syst Zool* 19: 83-92.
- FERRARI, I. & PEIXOTO, L.I.S. (1984). Estudos citogenéticos do *Saguinus bicolor bicolor*. In: *A primatologia no Brasil*. Vol 1. Melo, M.T. (ed). Sociedade Brasileira de Primatologia, Belo Horizonte.
- FLEAGE, J. G. (1988). *Primate Adaptation & Evolution*. Academic Press, New York.
- FORD, S.M. (1986). Systematics of the New World Monkeys. In: *Comparative Primate Biology: Systematics, Evolution, and Anatomy*. Vol. 1 .pp 73-135. Swindler, D.R. (ed). Alan R. Liss Inc, New York.
- FREDGA, K. (1972). Unusual sex chromosome inheritance in mammals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*, 259: 15-36.

- FREITAS, I.; SEUÀNEZ, H. (1982). Chromosome heteromorphism in *Cebus apella*. *Hum. Evol.* 10: 173-180.
- GARCIA, M.; FREITAS, L.; MIRÓ, R. & EGOZCUE, J. (1976). Banding patterns of chromosomes of *Cebus albifrons*. Comparative study with *Cebus apella*. *Folia Primatol* 25: 313-319.
- GARCIA, M.; MIRÓ, R.; ESTOP, A.M.; PONSÁ, M. & EGOZCUE, J. (1983). Constitutive heterochromatin polymorphism in *Lagothrix lagothricha cana*, *Cebus apella* and *Cebus capuccinus*. *Am J Primatol* 4: 117-126.
- GOODPASTURE, C. & BLOOM, S.E. (1975). Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53: 37-50.
- GRAY, J.E. (1821) *apud* ROSENBERGER, A.L. (1981). On the natural arrangement of vertebrate animals. *London Med Repost* 15:296-310
- GREENBAUM, I.F. & BAKER, R.J. (1978). Determination of the primitive karyotype for *Peromyscus*. *J Mamm* 59: 820-834.
- GROUCHY, J.; TURLEOU, C. & FINAZ, C. (1978). Chromosomal phylogeny of primates. *Ann Rev Brasil Genet* 12: 289-323.
- GUERRA, M. (1988). *Introdução à Citogenética Geral*, Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, R.J.
- HAIIDUCK, M.W. & BAKER, R.J. (1982). Cladistic analysis of G-banded chromosomes of nectar feeding bats (Glossophaginae, Phyllostomidae). *Syst Zool* 31:252-265
- HENDERSON, A.S.; EITHER, E.; YU, M.T. & ATWOOD, K.C. (1974). The chromosomal location of ribosomal DNA in the mouse. *Chromosoma* 49: 155-160.
- HENNIG, W. (1965). Phylogenetic systematics. *Ann Rev Entom* 10: 97-116.
- HERSHKOVITZ, P. (1949). Mammals of the Northern Colombia. Preliminary report n. 4: Monkeys (Primates) with descriptions of four new forms. *Folia Primatol* 4: 381-395.
- HERSHKOVITZ, P. (1972). The recent mammals of the Neotropical Region: A zoogeographic and ecological review. In: *Evolution, mammals and southern*

- continents*. Vol. 1. pp. 311-431. Keast, A.; Erk, F.C.; Glass, B. (eds). State University of New York, Albany.
- HERSHKOVITZ, P. (1977). *Living New World Monkeys (Platyrrhini)*. Vol. 1. The University of Chicago Press, Chicago. 1131 pags.
- HERSHKOVITZ, P. (1983). Two new species of night monkeys, genus *Aotus* (Cebidae, Platyrrhini): A preliminary report on *Aotus* taxonomy. *Am J Phys Anthropol* 4: 209-243.
- HERNANDEZ-CAMACHO, J. & COOPER, R. (1976). The non-human primates of Colombia. In: *Neotropical Primates: Field Studies and Conservation*, R. W. Thorington Jr & P. G. Heltne (eds). National Academy of Science, Washington, D.C. pp 35-69.
- HEWITT, G. (1973). Evolution and maintenance of B-chromosomes. *Chromosoma Today* 4: 351-369.
- HILL, W.C.O. (1962). *Primates: Comparative anatomy and taxonomy. Cebidae, Part B*. Vol V. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- HIRSCH, A., LANDAU, E.C.; TEDESCHI, A.C. & MENENGHETI, J.O. (1991). Estudo comparativo das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 (Platyrrhini, Atelidae) e sua distribuição geográfica na América do Sul. In: *A Primatologia no Brasil - 3*, A. B. Rylands and A.T. Bernardes (eds), pp 239-262. Fundação Biodiversitas and Sociedade Brasileira de Primatologia, Belo Horizonte.
- HOFFSTETTER, R. (1972). Relationships, origins, and history of the ceboid monkeys and caviomorph rodents: A modern reinterpretation. In: *Evolutionary Biology*. Dobzhansky, T, Hecht, M. K. and Steere, W. C. eds. pp. 323-347. Appleton Century Crofts, New York.
- HOFFSTETTER, R. (1977). *Phylogeny and geographical deployment of the Primates*. *J. Hum Evol.* 3: 327-350.
- HORWICH, R.H. (1983). Species status of the black howler monkey, *Alouatta pigra*, of Belize. *Primates* 24:288-289.
- HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolar organizer regions with protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia* 36: 1014.

- HSU, T.C. (1975). A possible function of constitutive heterochromatin: The bodyguard hypothesis. *Genetica* 79: 137-150.
- HSU, T.C. & HAMPTON, S.H. (1970). Chromosomes of Callitrichidae with special reference to an XX/X0 sex chromosome system in Goeldi's marmosets (*Callimico goeldii*, Thomas 1904). *Folia Primatol* 13: 183-195.
- HSU, T.C.; SPIRITO, S.E. & PARDUE, M.L. (1975). Distribution of 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma* 53: 857-869.
- JAMES, R.A. (1992). Genetic variation in Belizean black howler monkeys (*Alouatta pigra*). Tese, PhD, Rutgers University, USA.
- JAMES, R.A. & HORWICH, R.H. (1993). Phylogeny and conservation genetics of howler monkeys. AAZPA 1993 Regional Proceedings, pp 692-698.
- JOHN, B. (1973). The cytogenetic system of grasshopper and locusts, II. The origin and evolution of supernumerary segments. *Chromosoma* 44: 124-146.
- JOHN, B. (1981). Chromosome change and evolutionary change: A critique. In: *Evolution and Speciation*. pp 25-51. Atchley, W.R, Woodruff, A.D. (eds). Cambridge University Press, Cambridge,
- JOHN, B. & HEWITT, G.M. (1965). The B-chromosomes of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.). II The statics. *Chromosoma* 17: 121-138.
- JONES, R.N. (1975). B-chromosomes systems in flowering plants and animal species. *Int Rev Citol* 40: 1-100.
- JONES, R.W. & REES, C.H. (1982). *B Chromosomes*. London, Academic Press, 266 pp
- JONES, T.C.; THORINGTON, R.W. ; HU, M.M.; ADAMS, E. & COOPER, R.W. (1973). Karyotypes of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) from different geographic regions. *Am J Phys Anthropol* 38: 269-278..
- KASAHARA , S. (1978). Variabilidade cromossômica em quatro espécies de roedores da família Cricetidae e Muridae. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, USP, São Paulo, SP.
- KASAHARA, S. & DUTRILLAUX, B. (1983). Chromosome banding patterns of four species of bats, with special reference to a case of X-autosome translocation. *Ann. Genet.*, 26: 197-201.

- KAY, R.F. (1990). The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini). *J Hum Evol* 19: 175-208.
- KEY, K.H.L. (1981). Species, parapatry and the morambine grasshoppers *Systematic Zoology* 30: 425-458.
- KING, M. (1993). *Species Evolution: The Role of Chromosome Change*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 336 pp.
- KLUGE, A.G. & FARRIS, J. S. (1969). Quantitative phyletics and the evolution of annurans. *Syst. Zool.* 18: 1-32
- KOIFFMANN, C.P. (1977). Variabilidade cromossômica na família Cebidae (Platyrrhini, Primates). Tese de doutorado. Instituto de Biologia, USP, São Paulo.
- KOIFFMANN, C.P. & SALDANHA, P.H. (1974). Cytogenetics of Brazilian monkeys. *J. Hum. Evol.* 3: 275-282.
- KOIFFMANN, C.P. & SALDANHA, P.H. (1981). The karyotypes of *Cacajao melanocephalus*, Platyrrhini, Primates. *Folia Primatol* 52: 97-101.
- KOOP, B.F.; BAKER, R.J.; HAIDUK, M.W. & ENGSTROM, M.D. (1984). Cladistic analysis of primitive G-band sequences for the rats (*Orizomys*, Cricetidae). *Cytogenet Cell Genet* 35: 131-135.
- KUNKEL, L.M.; HETNE, P.G.; BORGAONKAR, D. S. (1980). Chromosomal variation and Zoogeography in *Ateles*. *Int. J. Primatol.* 1: 223-232.
- LANDE, R. (1979). Effective deme sizes during long term evolution estimated from rates of chromosomal rearrangements. *Evolution* 33: 234-251.
- LARSON, A., PRAGER, M., WILSON, A.C. (1984). Chromosomal evolution, speciation and morphological change in vertebrates: The role of social behavior. *Chromosomes Today*, 8: 215-228.
- LEAL-MESQUITA, E.R.R.B.P. (1991). Estudos citogenéticos em dez espécies de roedores brasileiros da família Echimididae. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia, USP, São Paulo.
- LEWIS, H. (1966). Speciation in flowering plants. *Science* 152:167-172.
- LIMA, M.M.C.; SAMPAIO, M.I.C., SCHNEIDER, M.P.C.; SCHEFFRAHN, W.; SCHNEIDER, H. & SALZANO, F.M. (1990). Chromosome and protein variation in red howler monkeys. *Rev Brasil Genet* 13 (04): 789-802.

- LIMA, M.M.C. & SEUANÉZ, H.N. (1989). Cytogenetic characterization of *Alouatta belzebul* with atypical pelage coloration. *Folia Primatol* 52: 97-101.
- LIMA, M.M.C.; SEUANÉZ, H.N. (1991). Chromosome studies in the red howler monkey, *Alouatta seniculus stramineus* (Patyrrhini, Primates): Description of an  $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$  sex chromosome system and karyological comparisons with other subspecies. *Cytogenet Cell Genet* 57: 151-156.
- MA, N.S.F. (1980) Chromosomal evolution in the owl monkey, *Aotus*. *Am J Phys Anthropol* 54: 293-303
- MA, N.S.F.; JONES, T.C.; THORINGTON, R.W.; MILLER, A. & MORGAN, L. (1975). Y-autosome translocation in the howler monkeys, *Alouatta palliata*. *J Med Primatol* 4: 299-307.
- MA, N.S.F.; ELLIOT, M.W.; MORGAN, L.; MILLER, A. & JONES, T.C.(1976) Translocation of Y chromosome to an autosome in the Bolivian owl monkey *Aotus*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 45: 191-202.
- MAIA , V; YONENAGA-YASSUDA, Y.; FREITAS, T.R.O.; KASAHARA, S.; SUNÉ-MATTEVI, M.; OLIVEIRA, L.F.; GALINDO, M.A. & SBALQUEIRO, I.J. (1984). Supernumerary chromosomes, Robertsonian rearrangements and variability of the sex chromosomes in *Nectomys squamipes* (Cricetidae, Rdentia). *Genetica*, 63: 121-128.
- MADDISON, W.P. (1984). Outgroups analysis and parsimony. *Syst Zool.* 33:83-103.
- MAYR, E.( 1977). *Populations, Species and Evolution*. Cambridge - Harvard University Press.
- MEDEIROS, M.A.A. (1994). Citogenética, evolução e especiação dos macacos aranha (Ateles, Primates). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.
- MILLER, D.A. (1977). Evolution of primates chromosomes. Man's closest relative may be the gorilla, not the chimpanzee. *Science* 198: 1116-1124.
- MINEZAWA, M. & BORDA, C.J.V. (1984). Cytogenetic study of Bolivian monkeys: I. Preliminary report on karyotype of *Cebus apella*, *Saimiri sciureus*, *Aotus azarae* and *Saguinus labiatus*. *Reports of New World Monkeys* 4: 53-67.
- MINEZAWA, M.; HARADA, M.; JORDAN, C. & BORDA, C.J.V. (1985). Cytogenetics of Bolivian endemic red howler monkeys (*Alouatta seniculus sara*):

- Accessory chromosomes and Y-autosome translocation related numerical variations. *Kyoto Univ. Overseas Res. Rep. of New World Monkeys* 5: 7-16.
- MOORHEAD, P.S.; NORWELL, P.C.; MELMAN, W.J.; BATTISP, D.M. & HUNGERFORD, D.A. (1960). Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 20: 613-615.
- MUDRY, M.D. (1990). Cytogenetic variability within and across populations of *Cebus apella* in Argentina. *Folia Primatol* 54: 206-216.
- MUDRY DE PARGAMENT, M.D.; LABAL DE VINUESA, M.; COLILLAS, O.J. & BRIEUX-DE-SALUM, S. (1984). Banding patterns of *Alouatta caraya*. *Rev Brasil Genet* 7 (2): 373-379.
- MUDRY, M.; PONSÁ, M.; BORRELL, A.; EGOZCUE, J. & GARCIA, M. (1994). Prometaphase chromosomes of the howler monkey (*Alouatta caraya*): G, C, NOR and restriction enzymes (RE-s) banding. *Am. J. Primatol.*, 33(1):121-132.
- MÜNTIZUNG, A. (1974). Accessory chromosomes. *Ann Rev Genet* 8: 243-266.
- NAGAMASHI, C.Y. (1995). Relações cromossômicas e Análises Filogenética e de Agrupamento na Família Callitrichidae (Platyrrhini, Primates). Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, R.S.
- NAGAMASHI, C.Y. (1982). Estudos citogenéticos em saguis brasileiros da espécie *Callithrix jacchus* (Callitrichidae, Primates). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP-SP.
- NAGAMASHI, C.Y. & PIECZARKA, J.C. (1988). Chromosome studies of *Saguinus midas niger* (Callitrichidae, Primates) from Tucuruí, Pará, Brazil: Comparison with the karyotype of *Callithrix jacchus*. *Am J Primatol* 14 (13): 277-284.
- NAGAMASHI, C.Y.; PIECZARKA, J.C. & BARROS, R.M.S. (1990). Cytogenetic study of *Saguinus midas midas* (Callitrichidae, Primates) from Jari, Brazilian Amazonia. Comparison with the karyotype of *Saguinus midas niger*. *Rev Brasil Genet* 13: 89-96.
- NAGAMASHI, C.Y.; PIECZARKA, J.C. & Barros, R.M.S. (1993). Karyotype comparisons among *Cebuella pigmaea*, *Callithrix jacchus* and *Callithrix*

- emiliae* (Callithrichidae, Primates) and taxonomic implications. *Genetica* 85: 249-257.
- NAPIER, P.H. (1976). *Catalogue of Primates in the British Museum (Natural History). Part 1: Families Callithrichidae and Cebidae*. British Museum, London.
- NAPIER, J.R. & NAPIER, P.H. (1967). *A Handbook of living Primates*. New York Academic Press, 456 pp.
- NAPP, D. S. (1990). Relações filogenéticas entre as subfamílias de Cerambycidae (Coleoptera). Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- NELSON, G.J. (1973). Classification as an expression of philogenetic relationships. *Syst. Zool.* 22: 344-359
- NELSON, G.J. & PLATNICK, N.I. (1981). *Systematics and Biogeography: Cladistics and Vicariancy*. New York, Colmbia University Press, 567 pp.
- NEVILLE, M.K. (1972). Social relations within the troops of red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *Folia Primatol* 18: 47-77
- OLIVEIRA, E.H.C. & LIMA, M.M.C. (1993). Estudos citogenéticos em *Cebus nigrivitattus*. *Resumos do XXXIX Congresso Brasileiro de Genética*, pp. 162, Caxambu, MG, Brasil
- OLIVEIRA, E.H.C.; SBALQUEIRO, I.J.; LIMA, M.M.C. & PINHEIRO, M. (1994). Estudos cariotípicos em *Alouatta fusca clamitans*. *Resumos do XL Congresso Brasileiro de Genética*, pp 126, Caxambu, MG, Brasil.
- ORLOSKY, F.J. & SWINDLER, D.R. (1975). Origins of New World primates. *J Hum Evol* 21: 77-83.
- PATHAK, S. & STOCK, A.D. (1976). The X chromosomes of mammals: karyological homology as revealed by banding techniques. *Genetics*, 78: 703-714.
- PATTON, J.L. (1977). B-chromosome systems in the pocket mouse *Perognathus baileyi*: Meiosis and C-band studies. *Chromosoma* 60: 1-15.
- PEQUIGNOT, E.V.; KOIFFMANN, C.P. & DUTRILLAUX, B. (1985). Chromosomal phylogeny of *Lagothrix*, *Brachyteles* and *Cacajao*. *Cytogenet Cell Genet* 39: 99-104.

- PIECZARKA, J.C.; BARROS, R.M.S.; FARIA Jr., F.M. & NAGAMASHI, C.Y. (1993). *Aotus* from the southeastern amazon region is geographically and chromossomically intermediate between *A. azarae boliviensis* and *A. infulatus*. *Primates* 34(2): 197-204.
- PIECZARKA, J.C. & NAGAMASHI, C.Y. (1988). Cytogenetic studies of *Aotus* from eastern Amazonia: Y/autosome rearrangement. *Am J Primatol* 14: 255-263.
- PIECZARKA, J.C. & NAGAMASHI, C.Y.; BARROS, R.M.S. (1989). The karyotype of *Ateles paniscus paniscus* (Cebidae, Primates): 2n=32. *Rev Brasil Genet* 12 (03): 543-551.
- PRETTEL, M.A. & DIAZ DE LA GUARDIA, G. R. (1978). Chromosomal polymorphism caused by supernumerary chromosomes in *Rattus rattus ssp frugivorus* (Rafinesque, 1814) (Rodentia, Muridae). *Experientia*, 34: 325-328.
- QMSIYEN, M.B.; BAKER, R.J. (1988). Comparative cytogenetics and determination of primitive karyotypes. *Cytogenet Cell Genet* 47: 100-103.
- REDFORD, K.H. & EISENBERG, J.F. (1991). *Mammals of the Neotropics: The Southern Cone, Vol. 2*. The University of Chicago Press, Chicago.
- ROSENBERGER, A.L. (1981). Systematics: The higher taxa. In: *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*. pp 9-27. Coimbra-Filho, A.F.; Mittermeier, R.A. (eds). Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, RJ.
- ROSENBERGER, A.L. (1992). Evolution of New World Primates. In: *The Cambridge Encyclopedia of Human Evolution*, pp 209-216. Jones, S., Martin, R., Pilbeam, D. (eds). Cambridge University Press.
- ROSENBERGER, A.L.; SETOGUSHI, T. & HARTWIG, W.C. (1991). *Laventiana annectens*, new genus and species: Fossil evidence for the origin of callithrichine New World monkeys. *Proc Nat Acad Sc USA* 19: 209-236.
- RUMPLER, Y. & DUTRILLAUX, B. (1986). Chromosomal evolution of Platyrrhini. *Mammalogy* 50: 83-107.
- RUMPLER, Y.; WATTER, S.; PETTER, J.J.; ALBIGNAC, R. & DUTRILLAUX, B. (1988). Chromosomal evolution of Malagasian lemurs. *Folia Primatol* 50: 124-129.
- RUMPLER, Y.; COUTURIER, J.; WARTER, S. & DUTRILLAUX, B. (1986). Chromosomal evolution in Malagasy lemurs. VII. Phylogenic relationships

- between *Propithecus*, *Avahi* (Indriidae), *Microcebus* (Cheirogalidae) and *Lemur* (Lemuridae). *Cytog. Cell Genet* 36:542-546.
- SAMPAIO, M.I.C. (1993). Filogenia molecular das subfamílias Alouattinae, Atelinae e Pithecinae (Platyrrhini, Primates). Tese de Doutorado. UFPA/Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém,PA.
- SBALQUEIRO, I.J. (1989). Análises cromossômicas e filogenéticas em algumas espécies de roedores da Região Sul. Tese de Doutorado. UFRS. Porto alegre, RS.
- SBALQUEIRO, I.J.; MATTEVI, M.S.; OLIVEIRA, L.F.B. (1984). An  $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  mechanism of sex determination in a South American rodent, *Deltamys kemp* (Rodentia, Cricetidae). *Cytogenet Cell Genet.*, 38: 50-55.
- SBALQUEIRO, I.J.; PERSSON, V.G.; LORINI, M.L. (1992) O cariótipo de *Leontopithecus caissara* (Callitrichidae, Primates). *Resumo do XIX Congresso Brasileiro de Zoologia*, pp. 172, Belém, Pará, Brasil.
- SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M.L.; STAHOPE, M.; CZEUSNIAK, J. & GOODMAN, M. (1993). Molecular phylogeny of New World monkeys (Platyrrhini, Primates). *Mol Phys Evol* 2: 225-242.
- SEABRIGHT, M. (1971). A rapid technique for human chromosomes. *Lancet* 2: 971-972.
- SEARLE, J.B. (1984). Three new karyotypic races of the common shrew *Sorex araneus* (Mammalian, Insectivora) and phylogeny. *Syst Zool* 33:184-194.
- SEUÀNEZ, H.N. (1979). *The phylogeny of human chromosomes*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 189 pp
- SEUÀNEZ, H.N.; ARMADA, J.C.; BARROSO, C.; REZENDE, C.; SILVA, V.F. (1983). The meiotic chromosomes of *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). *Cytog Cell Genet* 36: 517-524.
- SEUÀNEZ, H. N.; ALVES, G.; LIMA, M.M.C.; BARROS, R.S.; BARROSO, C.M.L. & MUNIZ, J.A.P.C.(1992). Chromosome studies in *Chiropotes satanas utahicki* Hershkovitz 1985 (Cebidae, Platyrrhini): A comparison with *Chiropotes satanas chirpotes*. *Am. J. Primatol.* 28:213-222.
- SEKULIK, R. (1983). The effect of female call on male howling in red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *Int. J. Primatol.*, 4: 291-305.

- SHORT, R.V. (1976). The origin of species. In: *Reproduction in Mammals. The evolution of reproduction*. pp 110-148. Austin, C.R., Short, R.V. (eds). Cambridge University Press.
- SIMPSON, G.G. (1945). The principles of classification and a natural classification of Mammals. *Bull Am Mus Nat Hist* 85.
- SIMONS, E.L. (1972). *Primate evolution: An introduction to man's place in nature*. 435 pp. Mcmillan Inc., New York, USA.
- SMITH, J.D.(1970). The systematic status of the black howler monkey, *Alouatta pigra* Lawrence. *J. Mammal.*, 51:358-369.
- SMUTT, B.; CHENEY, D.; SEYFARTH, R.; WRANGHAM, R. & STRUHSAKER, T. (1986). *Primate Societies*. University of Chicago Press, Chicago.
- SPOTORNO, A.E. (1982). Componentes y estimadores de filogenia: citogenetica, electrofóresis y biometria de filotinos. *Arch Biol Med Exper* 15 (2)
- STANYON, R.; TOFANELLI, S.; MORESCALCHI, M. A.; AGORAMOORTHY, G.; RYDER, O.A.; WIENBERG, J. (1995). Cytogenetic Analysys shows extensive genomic rearrangements between red howler (*Alouatta seniculus*, Linnaeus) subspecies. *Am J. Primatol* 35: 171-183.
- SUMNER, A.T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75: 304-306
- SWOFFORD, D.L. (1985). PAUP User's Manual (v. 2.4.1.) Illinois, Illinois Natural History Survey.
- SZALEY, F.S. & DELSON, E. (1979). *Evolutionar history of the primates*. Academic Press, New York, USA.
- THOMSON, R.L. (1984). B chromosomes in *Rattus fuscipes*. II The transmission of B chromosomes to offspring and population studies: Support for the paristic model. *Heredity* 52: 355-362.
- THOMSON, R.L.; WESTERMAN, M. & MURRAIM, N.D. (1984). B chromosomes in *Rattus fuscipes*. I. Mitotic and Meiotic chromosomes and the effects of B-chromosomes on chiasma frequency. *Heredity* 52: 355-362.
- TORRES DE CABALLERO, O.M.; RAMIREZ, C. & YUNIS, E.J. (1976). Genus *Cebus* Q- and G-band karyotypes and natural hybrids. *Folia Primatol* 26: 310-321.

- VIERGAS-PEQUIGNOT, E.; DUTRILLAUX, B.; PROD'HOMME, M. & PETTER, F. (1983). Chromosomal phylogeny of Muridae: A study of 10 genera. *Cytogenet Cell Genet* 35: 269-278
- VOLOBUJEV, V.T. (1980). B-chromosome systems of Mammals. *Genetica* 53: 333-337.
- VOLOBUJEV, V.T. (1981). B-chromosome systems of the Mammals. *Caryologia* 34:1-23.
- VOSA, C.G. & BARLOW, P.W. (1972). Meiosis and B chromosomes in *Listera ovata* (Orchidaceae). *Caryologia* 25: 1-8.
- WATROUS, L.E. & WHEELER, Q.W. (1981). The out-group comparison method of character analysis. *Syst Zool* 30: 1-11.
- WHITE, M.J.D. (1968). Models of speciation. *Science* 159: 1065-1070.
- WHITE, M.J.D. (1973). *Animal cytology and evolution*. Cambridge University Press. (Apud Seuànez, 1979)
- WILSON, A.C.; SARICH, V.M. & MAXSON, L.R. (1974). The importance of gene rearrangement in evolution. Evidence from studies on rates of chromosomal protein and anatomical evolution. *Proc Nat Acad Sci USA* 71: 3028-3030.
- WOLF, R. G. (1984). New specimens of the primate *Brasinella boliviana* from the early oligocene of Salla, Bolivia. *J. Vertebr. Paleontol*, 4: 570-574.
- WOLFHEIM, J.H. (1983). *Primates in the World: Distribution, abundance and conservation*. University of Washington Press.
- YATES, T.L.; BAKER, R.J. & BARNETT, R.K. (1979). Phylogenetic analysis of kariological variation in three genera of Peromyscine rodents. *Syst Zool* 28: 40-48.
- YUNIS, E.J.; TORRES DE CABALLERO, O.M.; RAMIREZ, C. & RAMIREZ, Z.E. (1976). Chromosomal variation in the primate *Alouatta seniculus seniculus*. *Folia Primatol* 25: 215-224.
- YUNIS, E. J. & YASMINEH, W. G. (1971). Karyology, systematics and chromosomal evolution in the rodent genus *Sigmodon*. *Publ. Mus. Mich. State Univ. Biol. Ser.* 4: 389-454.
- ZINGESER, M.R. (1968). Biology of the howler monkey (*Alouatta caraya*). XI. Characterization of the masticatory system. *Bibliotheca Primatol* 7: 141-151.