

CARIÓTIPOS E REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLOS (RON) DE *Marmosa* E *Didelphis* (DIDELPHIDAE) DO ESTADO DO TOCANTINS, BRASIL.

J. Fernando de S. Lima

Departamento de Recursos Naturais, Setor de Ciências Florestais.

Universidade Estadual Paulista, UNESP/FCA, Caixa Postal 237.

CEP. 18603-970. Botucatu, SP, BRASIL.

E-mail: jfslima@hotmail.com

RESUMO

Cariótipos e regiões organizadoras de nucléolos (Ron) de *Marmosa* e *Didelphis* (Didelphidae) do Estado do Tocantins, Brasil. Foram estudados os cariótipos de dois marsupiais do estado de Tocantins: uma fêmea de *Marmosa murina* e um macho de *Didelphis marsupialis*. Em *M. murina*, $2n=14$ e $AN=22$, os 3 primeiros pares de cromossomos autossômicos são submetacêntricos, o quarto par é metacêntrico, o quinto par é subtlocêntrico, e o sexto par é acrocêntrico. O cromossomo X é acrocêntrico e heteromórfico. Regiões organizadoras de nucléolos (RON) estavam presentes na região pericêntrica do par número 5 e na região telomérica do par 6. Bandas RON foram identificadas também em um dos pares de cromossomos submetacêntricos. Em *D. marsupialis*, $2n=22$ e $AN=20$, os pequenos cromossomos acrocêntricos tem 4 bandas RON, enquanto que os maiores pares tem 5 ou 6.

Palavras-chave: Marsupiais, cariótipo, cromossomo, Didelphidae, Tocantins, Brasil.

ABSTRACT

Karyotypes and nucleolar organizer regions of *Marmosa* and *Didelphis* (Marsupialia, Didelphidae) from the state of Tocantins, Brazil. Karyotypes of two marsupials from the state of Tocantins were studied: one female *Marmosa murina* and one male *Didelphis marsupialis*. In *M. murina*, $2n=14$ and $AN=22$, the 3 first pairs of autosomal chromosomes are submetacentric, the fourth pair is metacentric, the fifth pair is subtolocentric, and the sixth pair is acrocentric. The X chromosome is acrocentric and heteromorphic. Nuclear regions (NORs) were present in the pericentric region of pair number 5 and in the telomeric region of pair 6. NORs were also present in one of the pairs of submetacentric chromosomes. In *D. marsupialis*, $2n=22$ and $AN=20$, the smaller acrocentric chromosomes had four NORs while the larger pairs of acrocentric chromosomes had five or six.

Key words: Marsupialis, karyotypes, chromosome, Didelphidae, Tocantins, Brazil.

INTRODUÇÃO

Em geral os marsupiais didelfídeos são de grande interesse para o estudo da evolução, não por serem os Theria viventes mais primitivos e pouco especializados, mas por representarem o estoque original da radiação Metatheria tanto australiana como sul americana, ocorrida em torno de 150 milhões de anos atrás.

Os didelfídeos são elementos típicos da fauna neotropical e apresentam uma grande variedade adaptativa a diversos nichos ecológicos. Além disso, constituem um excelente material para o estudo de padrões evolutivos em mamíferos primitivos (REIG et al., 1977). Nas Américas existem 71 espécies de didelfídeos, das quais somente uma tem distribuição na América do Norte (*Didelphis virginiana*), ocorrendo o restante na América Central e América do Sul (EMMONS, 1997).

Existem três tipos principais de cariótipos que caracterizam a família Didelphidae: $2n=14$ para os gêneros *Caluromys*, *Metachirus*, *Marmosops*, *Marmosa* e *Dromiciops* (REIG et al. 1977; SOUSA et al., 1990); $2n=18$ para o gênero *Monodelphis* (REIG e BIANCHI, 1969; REIG et al., 1977; MERRY et al. 1983; LANGGUTH e LIMA, 1988) e $2n=22$ para os gêneros *Didelphis*, *Chironectes*, *Lutreolina* e *Philander* (REIG et al., 1977).

Estudos cariológicos estabelecem $2n=14$, como extremamente conservativo e por isto básico, na maioria dos grupos de marsupiais (GRAVES e WATSON, 1991).

Técnicas de bandamentos G, C, NOR e estudos cariométricos têm sugerido que nos didelfídeos a uniformidade cromossômica não é tão rígida com se supunha (YONENAGA-YASSUDA et al., 1982; MERRY et al. 1983; ROFE e HAYMAN, 1985; LANGGUTH e LIMA 1988; SOUSA et al., 1990).

Com o propósito de divulgar os estudos dos pequenos mamíferos do estado do Tocantins, este trabalho tem o intuito de apresentar os cariótipos em coloração convencional e a distribuição das regiões organizadoras de nucléolos (RONS) de *Didelphis marsupialis* e *Marmosa murina*, comparando-os com os de outras espécies afins.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas duas espécies: uma fêmea de *Marmosa murina* (FSL 73) e um macho de *Didelphis marsupialis* (FSL 82). Os animais foram coletados em armadilhas na Mata Ciliar ao longo do Rio Tocantins, no município de Porto Nacional, latitude $10^{\circ}42'S$ e longitude $48^{\circ}25'W$, no estado do Tocantins. No Laboratório os animais foram sacrificados para obtenção de preparados citológicos da medula óssea segundo BAKER et al. (1982). Preparadas as lâminas, aplicaram-se as técnicas de coloração convencional e da região organizadora do nucléolo de acordo com HOWELL e BLACK

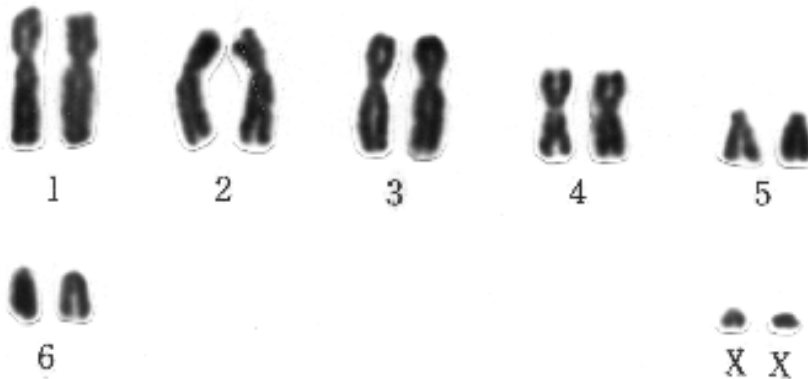
(1980).

Em média, 41 células por espécie tiveram seus cromossomos contados e desenhados para a melhor identificação das marcações de banda RON. A classificação dos cromossomos nas diferentes categorias, foi feita de acordo com WAINBERG (1972). O material, pele e crânio, dos exemplares coletados encontra-se depositado na coleção de mamíferos do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

RESULTADOS

No exemplar de *Marmosa murina*, o número diplóide foi 14 e o número autossômico foi 22. Os autossomos apresentaram forma submetacêntrica nos pares 1, 2 e 3; metacêntrica no par 4; subtelocêntrica no par 5 e acrocêntrica no par 6 (Fig. 1). O exemplar de *Didelphis marsupialis* mostrou $2n= 22$ e o $NF= 20$. Os autossomos são todos acrocêntricos e variam de tamanho nos pares 1 a 3. Do par 4 ao 10 os tamanhos são pouco variáveis (Fig. 2).

O cromossomo X nas duas espécies estudadas foi um pequeno acrocêntrico. Em *Marmosa murina* o par sexual foi heteromórfico (Fig. 1), e o cromossomo Y de *D. marsupialis* apresentou uma forma puntiforme (Fig. 2).



Foram observadas bandas RON em número de 4 na maioria das células analisadas das duas espécies estudadas variando de 3 a 6. Em *M. murina* (Fig. 3) foram identificadas bandas RON, no par 6, nos telômeros de braços longos e nos braços curtos de um dos pares submetacêntricos. Em *D. marsupialis* foram observadas bandas RON, em 2 dos pares autossômicos

menores, podendo ser os pares 4, 5, 6, 7 ou 8 (Fig. 4), que devido a semelhança no tamanho não foi possível identificar com precisão. Em algumas células foram encontradas bandas RON em número de 5 ou 6, quando apresentaram marcações nos telômeros de alguns dos pares acrocêntricos maiores.

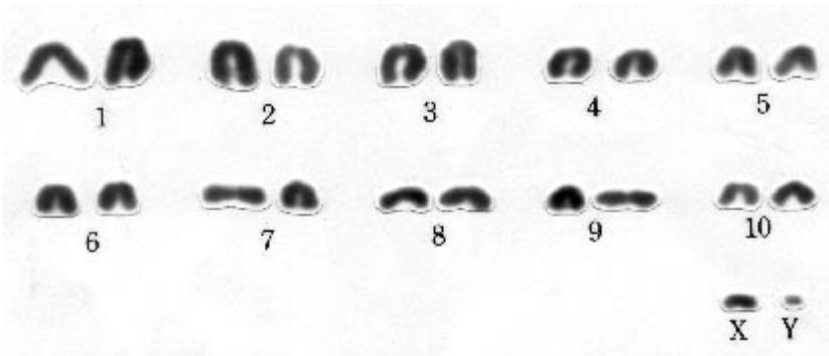


FIGURA 2 – Cariótipo de *Didelphis marsupialis* ($2n=22$ e $NF=20$), macho, em coloração convencional.

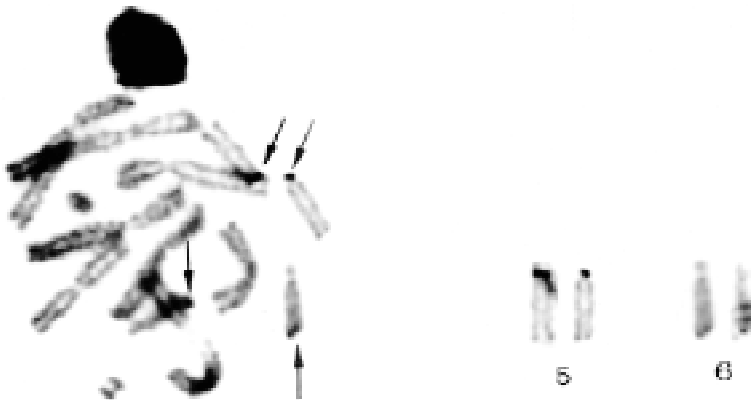


FIGURA 3 – Metáfase de *Marmosa murina*, fêmea, as setas mostram as RONs. Em destaque os pares marcados.

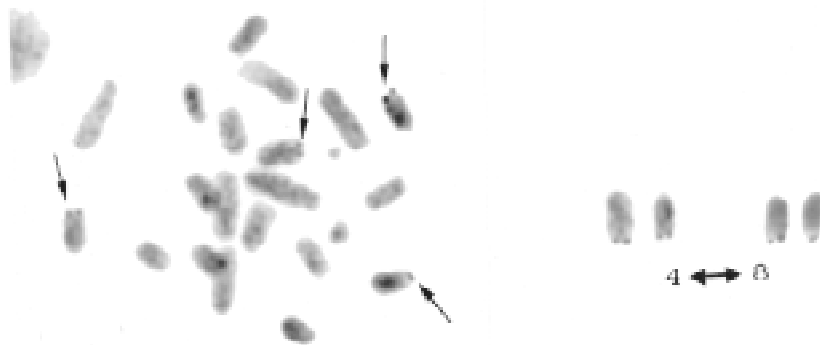


FIGURA 4 - Metáfase de *Didelphis marsupialis*, macho, as setas mostram as RONS. Em destaque os 2 pares marcados; podendo ser os pares 4, 5, 6, 7, ou 8 (4 ↔ 8).

DISCUSSÃO

O número diplóide do exemplar *Marmosa murina* aqui estudada é igual ao de todas as espécies do gênero, mas, o número autossômico somente coincide com *M. elegans* do Chile e a *Marmosa cinerea* do Paraná (NASCIMENTO *et al.*, 1994). O cromossomo X, é semelhante ao de exemplares de *M. cinerea* e *M. murina* de Pernambuco (SOUSA *et al.*, 1990), e difere de *M. cinerea*, da Bolívia e Venezuela; *M. pusilla*, da Argentina e *M. murina*, da Bolívia, Chile e Venezuela (REIG *et al.*, 1977), nas quais este se apresenta como meta ou submetacêntrico.

No exemplar estudado neste trabalho os cromossomos X são heteromórficos (Fig. 1), como em *Caluromys philander*, *C. lanatus*, *M. cinerea* e *M. murina* estudados por SOUSA *et al.* (1990). SVARTMAN (1998) observou variação interespecífica no X e no Y, em *Metachirus nudicaudatus*, *Caluromys philander*, *Micoreus cinereus* (= *Marmosa cinerea*), *Philander opossum*, *Marmosops incanus* e *Didelphis marsupialis*.

Em espécies do gênero *Marmosa* existe discordância entre os autores em relação a morfologia dos pares 5 e 6. Alguns os consideram como acrocêntricos e outros como submetacêntricos. Segundo REIG *et al.* (1977) existem duas hipóteses para explicar esta divergência de opiniões. A primeira, que as dificuldades estão na distinção e medição dos pequenos braços e a segunda, que seria devido a ocorrência de pequenos rearranjos cromossômicos. Pelo critério de classificação utilizado neste trabalho, a primeira hipótese foi a menos provável. Em relação as diferenças encontradas nos alossomos, especialmente no cromossomo X de todos os didelfídeos, a explicação é dada pela ocorrência de certos tipos de rearranjos, como

inversão pericêntrica ou mecanismos de adição ou deleção de segmentos de heterocromatina (SOUSA *et al.*, 1990).

As bandas RON em *M. murina* estão presentes na região pericentromérica (braços curtos) do par 5 e nos telômeros dos braços longos do par 6. A primeira situação foi verificada por SOUSA *et al.* (1990) em *C. philander*, *C. lanatus*, *M. cinerea* e *M. murina*, e a segunda situação, só nas 2 últimas espécies de *Marmosa*, todas de Pernambuco. NASCIMENTO *et al.* (1994) encontraram, também, em *M. cinerea*, do Paraná, banda RON na região pericentromérica do par 6. Dados publicados por YONENAGA-YASSUDA *et al.* (1982), citam marcação pericentromérica em *D. marsupialis* e *P. opossum*, em exemplares de São Paulo.

Foi constatada variação intraindividual de RONs em *M. murina*, em 45% das células analisadas (Fig. 3). SOUSA *et al.* (1990) descrevem em *M. murina*, de Pernambuco, bandas RON nos cromossomos submetacêntricos do par 3. No exemplar da espécie estudada não foi possível confirmar bandas nesse par.

O exemplar de *Didelphis marsupialis* possui tanto os cromossomos autossômicos como os sexuais, semelhantes aos constatados em quase todas espécies do mesmo gênero e também em *Philander opossum* e *P. mcilhennyi* (YONENAGA-YASSUDA *et al.*, 1982; REIG *et al.*, 1977). Entre as espécies de $2n=22$, somente *D. virginiana* e *Lutreolina crassicaudata* (REIG, *et al.*, 1977) apresentam o cariótipo diferente, o primeiro em relação aos autossomos e par sexual e o segundo só em relação aos cromossomos sexuais, sendo sempre o X um metacêntrico e o Y um acrocêntrico. O cromossomo Y, de diminuto tamanho, é considerado por todos os autores, como acrocêntrico (Fig. 2). A forma do cromossomo Y em *D. marsupialis* é comumente chamada de puntiforme, e já foi descrita para os gêneros *Caluromys*, *Marmosa*, *Monodelphis* e *Didelphis* por REIG e BIANCHI (1969), REIG *et al.* (1977) e SOUSA *et al.* (1990).

No exemplar de *D. marsupialis* as bandas RON foram encontradas em todas as células nos telômeros dos braços longos de 2 pares de cromossomos autossômicos, podendo ser alguns dos pares de 4 a 8, que possuem tamanho semelhante (Figs. 2 e 4). Em 42% das células analisadas encontrou-se de 5 a 6 bandas RON, quando surgiam nos telômeros dos braços longos de um dos cromossomos do par marcado ou em um par dos maiores acrocêntricos. Encontrou-se uma célula com três bandas RON.

YONENAGA-YASSUDA *et al.* (1982); CASARTELL *et al.* (1986) e SVARTMAN (1998) constataram uma variação de RON de 2 a 8 para didelfídeos e SOUSA *et al.* (1990), observou uma variação de 2 a 6. Os resultados deste trabalho são similares aos preconizados por SOUSA *et al.* (1990), para espécies do Nordeste.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Dra. Sanae Kasahara do Departamento de Biologia da UNESP, Rio Claro-SP, pela utilização dos Laboratórios e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, R.J.; HAIDUK, M.W.; ROBBINS, L.W.; CADENA, A. and KOOP, B.F. 1982. Chromosomal studies of South American bats and their systematic implications. In: MARES, M.A. and GENOWAYS, H.H., Eds., **Mammalian Biology in South American**. U.S.A., vol.6: 303-306.
- CASARTELLI, C.; ROGATTO, S. and FERRARI, I. 1986. Cytogenetic analysis of some Brazilian marsupialis (Didelphidae: Marsupialia). *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 21-29.
- EMMONS, L.H. 1997. **Neotropical rainforest mammals: a field guide**. Chicago, University of Chicago Press. pp. 11-37.
- GRAVES, J.A.M. and WATSON, J.M. 1991. Mammalian sex chromosomes: evolution of organization and function. *Cromosoma*, 101: 63-68.
- HOWELL, W.M. and BLACK, D.A. 1980. Controlled silverstaining of nucleolus organizer region with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- LANGGUTH, A. and LIMA, J.F.S. 1988. The karyotype of *Monodelphis americana* (Marsupialia - Didelphidea). *Revta. nordest. Biol.*, 6 (1): 1-5.
- MERRY, D.E.; PATHAK, S. and VANDEBERG, J.L. 1983. Differential NOR activities in somatic germ cells of *Monodelphis domestica* (Marsupialia, Mammalia). *Cytogenet. Cell Genet.*, 35: 244- 251.
- NASCIMENTO, A.P.; KAZMIERCZAK, I. and SBALQUEIRO, I.J. 1994. Padrões de heterocromatina constitutiva e banda RON em exemplares de *Marmosa* e *Metachirus* (Didelphidae). *Rev. Bras. Gen.*, 17(3): 139. (suppl.)
- REIG, O.A. and BIANCHI, N.O. 1969. The occurrence of an intermediate didelphid karyotype in the short-tailed opossum (Genus *Monodelphus*). *Experientia*, 25: 1210-1211.
- REIG, O.A.; GARDNER, A.L.; BIANCHI, N.O. and PATTON, J.L. 1977. The chromosomes of the Didelphidae (Marsupialia) and their evolutionary significance. *Biol. J. Linn. Soc.*, 9: 191- 216.
- ROFE, R. and HAYMAN, D. 1985. G-banding evidence for a conserved complement in the Marsupialia. *Cytog. Cell Genet.*, 39: 40-50.
- SOUSA, M.J.; MAIA, V. and SANTOS, J.F. 1990. Nuclear organizer regions, G- and C- bands in some brazilian species of Didelphidae. *Rev. Brasil. Genet.*, 13(4): 767-775.
- SVARTMAN, M. 1998. Evolução cariotípica de marsupiais da família Didelphidae. Douctoral thesis, Departamento de Biologia, USP, São Paulo, SP.

- YONENAGA-YASSUDA, Y.; KASAHARA, S.; SOUSA, M.J. and L'ABBATE, M.L. 1982. Constitutive heterocromatin, G-bands and nucleolus organizer regions in four species of Didelphidae (Marsupialia). *Genetica*, 58:71-72.
- WAINBERG, R.L. 1972. Cariologia y cariometria di *Monodelphis dimidiata* Wagner (Marsupialia: Didelphidae) *Physis*, 31(83): 327-336.