



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PORTO NACIONAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE,
ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO**

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS DE ESPÉCIES DE MARSUPIAIS
(DIDELPHIDAE) OCORRENTES NO CERRADO DE APARECIDA
DO RIO NEGRO, TOCANTINS**

KERLIANE PEREIRA GALVÃO ANTUNES DE OLIVEIRA

PORTO NACIONAL - TO

2019

KERLIANE PEREIRA GALVÃO ANTUNES DE OLIVEIRA

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS DE ESPÉCIES DE MARSUPIAIS
(DIDELPHIDAE) OCORRENTES NO CERRADO DE APARECIDA
DO RIO NEGRO, TOCANTINS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ecologia e Conservação da Fundação Universidade Federal do Tocantins – *Campus* de Porto Nacional, como requisito à obtenção do título de mestre em Biodiversidade, Ecologia e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. José Fernando de Sousa Lima

PORTO NACIONAL - TO

2019

Kerliane Pereira Galvão Antunes de Oliveira

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS DE ESPÉCIES DE MARSUPIAIS (DIDELPHIDAE)
OCORRENTES NO CERRADO DE APARECIDA DO RIO NEGRO, TOCANTINS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ecologia e Conservação. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ecologia e Conservação e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 30/04/2019

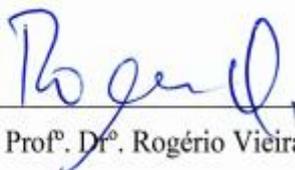
Banca Examinadora:



Prof^o. Dr^o. José Fernando de Sousa Lima (Orientador)



Prof^o. Dr^o. Thiago Nilton Alves Pereira, UFT



Prof^o. Dr^o. Rogério Vieira Rossi, UFMT

Porto Nacional, 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

O48e Oliveira, Kerliane Pereira Galvão Antunes de .
Estudos Citogenéticos de Espécies de Marsupiais (Didelphidae)
Ocorrentes no Cerrado de Aparecida do Rio Negro, Tocantins. / Kerliane
Pereira Galvão Antunes de Oliveira. – Porto Nacional, TO, 2019.
53 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Porto Nacional - Curso de Pós-Graduação
(Mestrado) em Biologia, Ecologia e Conservação, 2019.

Orientador: José Fernando De Sousa Lima

1. Didelphimorphia. 2. Cariótipos. 3. Banda C. 4. Banda RON. I. Título

CDD 577

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e forças para superar as dificuldades e conseguir conquistar mais um título, um dos que tanto almejei.

Aos meus pais Marinalva Galvão e Carlos Eduardo por todo apoio, amor e orações, a minha irmã Maria Eduarda pela inocência e o brilho de criança que me fez ver o lado bom das coisas, toda vez que sentia não haverem soluções para alguns problemas.

Ao meu noivo Sérgio Noletto por me ajudar a todo o momento em que precisei, por ser compreensível nos dias que eram os mais estressantes, pelo carinho e amor. Obrigada por ser meu braço direito e sonhar alto assim como eu.

A toda minha família, pelas orações, por me transmitirem energias positivas sempre e por acreditarem em mim, os feriados e datas comemorativas e especiais que fiquei longe, me abstive por um sonho, eram vocês a minha força.

Agradeço imensamente ao meu orientador Dr. José Fernando de Sousa Lima por todo conhecimento compartilhado, por ser compreensível e tirar todas as minhas dúvidas, explicando sempre da melhor forma possível, obrigada por ser um dos pilares principais para que eu chegasse até aqui.

Aos pesquisadores da área de citogenética e molecular, Deyla Oliveira, Eduardo Eler e Carlos Faresin, que me ajudaram bastante, enviando artigos para enriquecer meu conhecimento e também este trabalho,

Quero deixar registrado aqui, o meu agradecimento de coração a todos meus amigos, sem eles a vida de mestranda não teria a diversão e a empolgação que teve, e os dias cinzas, com eles ficavam coloridos e cheios de flores! Em especial a Sirlei Vodonis, Welloyanne Pátilla, Aline Lopes, Evenny Coelho, Mikaelly e Dayanna Lustosa, sendo que esta última foi a minha fada, minha companheira e amiga fiél de laboratório, me ajudou com toda sua criatividade e alegria em pessoa, nossas orações surgiram efeitos tremendos, que foram os melhores para cada uma de nós. Toda turma do PPGBEC 2017/1, gratidão!

Aos professores do PPGBEC, pelos ensinamentos e por tudo que aprendi com eles, levarei a diante, e pretendo aperfeiçoar cada dia mais.

Aos técnicos do laboratório de microscopia da UFT, Alexandre e Assuério, por me ajudarem a conseguir reagentes e disponibilizarem o microscópio para fotografar minhas metáfases, além de tudo obrigada pela amizade que construímos durante esse período.

A Unitins por me conceder o laboratório e o transporte para que eu realizasse a minha pesquisa, e as pessoas do coração gigante que conheci por lá, Rose, Elian, Eva, Poliana, Rebeca, Maisa, Marinara, Nayara, Seu Zezinho, Renato, Seu Chiquinho, Zé pereira, Arnaldo, Expedito, Tetê, Luzia e Elza, sem eles aquele lugar não teria sido o mesmo, cada um contribuiu de uma forma especial para minha conquista, sinto muita saudade e levarei essa amizade comigo sempre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), por me concederem a bolsa de mestrado, que foi de grande importância para a realização desse trabalho.

Por fim, agradeço a todos aqueles que me ajudaram de forma direta ou indireta durante esses dois anos, quero deixar aqui toda a minha gratidão.

“Foi o tempo que dedicastes à tua rosa que a fez tão importante.”

(Antoine de St. Exupery).

SUMÁRIO

1 INTRODUCAO	9
1.1 Considerações sobre os mamíferos	9
1.2 Importância dos estudos citogenéticos, com especial referência ao Tocantins	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Área de Estudo	13
2.2 Coleta de dados	14
2.3 Análise laboratorial	17
2.4 Análise dos dados	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
3.1 Comentários sobre <i>D. albiventris</i> e <i>D. marsupialis</i>	35
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

RESUMO

Na classe Mammalia, temos os pequenos mamíferos não voadores, que são representados pelos marsupiais e roedores. No Brasil, a fauna de marsupiais é representada por uma única ordem existente no país, Didelphimorphia, que compreende aproximadamente 56 espécies, distribuídas em 15 gêneros conhecidos. Tendo em vista que os marsupiais didelfídeos constituem um significativo componente da mastofauna brasileira e que o estudo dos cariótipos destes animais auxilia no reconhecimento e caracterização dos marsupiais, o presente estudo objetivou identificar espécies de marsupiais (Didelphidae), em áreas de Cerrado ainda não estudadas, do ponto de vista citogenético, em abordagem conjunta com sistemática, morfologia e distribuição geográfica. Para isso, foram analisadas nove amostras celulares, as quais estão distribuídas nas seguintes espécies: *Monodelphis* sp., *Gracilinanus agilis*, *Marmosa demerarae*, *Didelphis marsupialis* e *Didelphis albiventris*, coletadas na Fazenda Lagedinho, Município de Aparecida do Rio Negro, Tocantins. As amostras celulares desses exemplares foram preparadas em lâminas, cujas análises permitiram determinar o número diplóide ($2n$), do número de braços dos autossomos (NA), tipos e formas dos cromossomos e os padrões de bandas C e RON de todas as espécies. As análises conjuntas dos dados citogenéticos, morfológicos e as variações geográficas desses táxons contidos na literatura, permitiram obter os resultados como seguem: *Monodelphis* sp. ($2n=18$ e $NA=30$), corroboraram com seis espécies do mesmo gênero ocorrentes em outros estados, porém apresentaram variações quanto à forma dos cromossomos sexuais (X e Y) e padrões de bandeamentos C e RON. Os dados apontam que essa pode ser uma ocorrência inédita para o estado. Os cariótipos de *Didelphis albiventris* e *Didelphis marsupialis* ($2n=22$ e $NA=20$), *Micoureus demerarae* e *Gracilinanus agilis* ($2n=14$ e $NA=20$ e 24 , respectivamente) foram, em sua maioria, iguais aos analisados em trabalhos feitos em outros estados. Porém, no geral, apresentaram diferenças nos cariótipos, como nos padrões de distribuições que caracterizam sua localização no Tocantins. Essas situações podem estar relacionadas com fenômenos evolutivos cromossômicos, sob a influência de fatores bióticos e abióticos.

Palavras – Chave: Didelphimorphia, Cariótipos, Banda C, Banda RON.

ABSTRACT

In the Mammalia class, we have the small non-flying mammals, which are represented by marsupials and rodents. In Brazil, the marsupial fauna is represented by the only existing order in the country, Didelphimorphia, which comprises approximately 56 species, distributed in 15 known genera. Considering that the didelphid marsupials constitute a significant component of the Brazilian mastofauna and that the study of the karyotypes of these animals helps in the recognition and characterization of the species, the present study aimed to identify species of marsupials (Didelphidae), in areas of Cerrado not yet studied, from the cytogenetic point of view, in a joint approach with systematics, morphology and geographical distribution. For this, 9 cell samples were analyzed, which are distributed in the following species: *Monodelphis* sp., *Gracilinanus agilis*, *Marmosa demerarae*, *Didelphis marsupialis* and *Didelphis albiventris*, collected at Lagedinho farm, in Aparecida do Rio Negro, Tocantins. The cell samples of these specimens were prepared in slides, whose analyzes allowed to determine the diploid number ($2n$), number of autosomes (NA), types and forms of chromosomes and C and RON band patterns of all species. The joint analyzes of the cytogenetic, morphological and geographic variations of these taxa in the literature allowed us to obtain the results as follows: *Monodelphis* sp. ($2n = 18$ and $NA = 30$), corroborated with six species of the same genus occurring in other states, but presented variations as to sex chromosomes (X and Y) and C and RON banding patterns. The data indicate that this may be an unprecedented occurrence for the state. The karyotypes of *Didelphis albiventris* and *Didelphis marsupialis* ($2n = 22$ and $NA = 20$), *Micoureus demerarae* and *Gracilinanus agilis* ($2n = 14$ and $NA = 20$ and 24 , respectively) were, for the most part, the same as those analyzed in studies done in others States. However, in general, they presented differences in karyotypes, as in the patterns of distributions that characterize their location in Tocantins. These situations may be related to chromosomal evolution phenomena, influenced by biotic and abiotic factors.

Key words: Didelphimorphia, karyotypes, C Band, NOR Band.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a SEPLAN (2012), o Cerrado corresponde a 65,23% de todo o território tocantinense e o bioma amazônico (ecotonais com cerrado) é representado apenas em uma área a noroeste do estado 14,80%. A vegetação abrange formações florestais do tipo: Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão, formações campestres como Campo Sujo, Campo Rupestre, Campo Limpo e Veredas, e ainda o Cerrado Stricto Sensu, com suas subdivisões (COUTINHO, 1992; RIBEIRO; WALTER, 2008; NASCIMENTO, 2011). O Cerrado possui grande representatividade para o Brasil, contando que, na biodiversidade ele possui cerca de 251 espécies de mamíferos, destas, 96 são de marsupiais e roedores, porém, continua como uma das áreas menos estudadas (CARMIGNOTTO, 2005). Mas apesar de sua enorme importância para a conservação de espécies, o Cerrado brasileiro está em constante mudança devido à ação humana. A indústria de soja e a pastagem de gado revelam-se como os principais protagonistas da sua degradação (TOLLEFSON, 2018), realidade esta em que o Tocantins se enquadra. Como resultado temos a perda de habitat, isolamento de populações, dificuldade nos movimentos migratórios, diminuição da aptidão (menores taxas de sobrevivência e reprodução), provocando uma redução significativa das populações (RAMBALDI; OLIVEIRA, 2003).

1.1. Considerações sobre os mamíferos

A classe Mammalia apresenta uma ampla diversidade, tanto em números, em torno de 6.495 espécies (BURGIN *et al.*, 2018), quanto em formas, desde os menores mamíferos viventes, como os morcegos (ordem Chiroptera), que podem pesar 4g, até os maiores, onde podemos citar a baleia azul (ordem Cetacea), que pesa cerca de 160 toneladas (POUGH *et al.*, 2008; ANDRADE, 2009). Os mamíferos também apresentam os mais variados hábitos de vida, podendo ser natatórios, voadores, até cursoriais (corredor), escansoriais (escaladores), fossoriais (escavadores) e roedores, isto os facilitam a exploração dos mais variados habitats, possibilitando a distribuição por toda parte do mundo (POUGH *et al.*, 2008).

Na classe Mammalia, temos os pequenos mamíferos não voadores, que são representados pelos marsupiais e roedores. Cifelli; Davis (2003) sugerem que os marsupiais

apareceram primeiramente na América do Norte, e logo depois se dispersaram para a América do Sul, com a diversificação inicial dos marsupiais australianos, através da Antártica, no início do período terciário. Estes animais integram a infraclasse Methateria, e as ordens conhecidas são Didelphimorphia, com uma única família vivente, que são da família Didelphidae. Esta ordem é mais comum na América do Sul, ocorrendo um único caso, de *Didelphis virginianus*, na América do Norte. As ordens Notoryctemorphia, Paucituberculata, Microbiotheria, Dasyuromorphia, Peramelemorphia e Diprotodontia são encontrados nos continentes americanos e na região australiana (CARTELLE, 2012). Os marsupiais didelfídeos constituem um significativo componente da mastofauna neotropical (PASSAMANI, 2000).

No Brasil, a fauna de marsupiais é representada pela única ordem existente no país, Didelphimorphia, que compreende aproximadamente 56 espécies, distribuídas em 15 gêneros conhecidos (REIS *et al.*, 2011). Algumas espécies de Didelphimorphia são ameaçadas de extinção, devido a intensas atividades agropecuárias e ocupação antrópica, com isso há fragmentação do habitat destes animais, e, conseqüentemente a dispersão por parte destes, dificultando (reduzindo) a variabilidade genética e a adaptação em novos ambientes (PRIMACK; RODRIGUES, 2005). Os gêneros desta ordem, e suas respectivas quantidades de espécies, no Brasil, são apresentadas como: *Glironia* (1), *Caluromys* (2), *Caluromysiops* (1), *Hyladelphys* (1), *Chironectes* (1), *Cryptonanus* (3), *Lutreolina* (1), *Marmosops* (10), *Metachirus* (1), *Philander* (4), *Thylamys* (3), *Monodelphis* (16), *Micoureus* (6), *Didelphis* (4), *Gracilinanus* (3), (ROSSI *et al.*, 2006; GARDNER, 2008; PAVAN *et al.*, 2012).

Dentre esses gêneros, reconhecemos nesse estudo, o *Monodelphis*, que são popularmente chamados de gambás - de - cauda - curta. Apresentam hábitos terrestres, refugiando - se em tocas e se alimentam de insetos. Estes animais possuem a cauda menor que a cabeça e o corpo (FILHO *et al.*, 2015), as orelhas e os olhos relativamente pequenos, são predadores e semi fossoriais e não apresentam adaptação arborícola (PINE; HANDLEY, 2007). Os animais do gênero *Didelphis* apresentam médio porte, onívoros, comendo desde invertebrados, como os insetos, até vertebrados, como lagartos, roedores e aves de pequeno porte (NOWAK, 1991; PAGLIA *et al.*, 2012). Estes, possuem hábitos noturnos, e durante o dia descansam em buracos de troncos secos das árvores (SILVA; ROSSI, 2003). Um dos gêneros em estudo no presente trabalho, o *Micoureus*, com base em marcadores moleculares, foi considerado como subgênero de *Marmosa* (VOSS; JANSA, 2009; GUTIERREZ *et al.*, 2010), que são marsupiais de pequeno porte, com hábitos noturnos e preferencialmente

arborícolas, se alimentam basicamente de insetos e frutos (CHARLES-DOMINIQUE *et al.*, 1981; GARDNER; CREIGHTON, 2008). O gênero *Gracilinanus* apresenta o corpo pequeno e a cauda comprida e preênsil. Se alimentam de frutos e insetos e suas atividades são noturnas (MARTINS; BONATO, 2004).

1.2. Importância dos estudos citogenéticos, com especial referência ao Tocantins.

O Cerrado, do ponto de vista científico, permanece como um dos biomas menos estudados (KLINK; MACHADO, 2005), Lima *et al.*, (2005), afirmavam que os estudos de mamíferos eram pouco conhecidos na região Norte, com especial referência ao Tocantins. Em relação aos marsupiais, Cáceres *et al.*, 2006, afirmaram que estudos sobre a sua distribuição no bioma Cerrado, ainda é pouco conhecido. Mais recentemente, Melo; Sponchiado (2012), afirmam que os marsupiais são poucos conhecidos, especialmente em relação à região Norte do Cerrado.

Segundo Yonenaga (1977) e Kasahara (2009), o estudo do cariótipo permite evidenciar problemas em casos de definição cromossômica do sexo, função da heterocromatina constitutiva, mecanismos de origem dos rearranjos cromossômicos, conceito adaptativo dos polimorfismos nos cromossomos e distinções citotaxonômicas entre as espécies, auxilia no programa de manejo e reprodução de animais silvestres e na identificação de híbridos, tanto em animais de cativeiro quanto nos da natureza, inclusive esclarecem as relações filogenéticas e diferenças taxonômicas entre os grupos.

A citogenética vem contribuindo para a descrição de novas espécies de pequenos mamíferos não voadores, com o auxílio da caracterização cromossômica (FAGUNDES *et al.*, 2000; BONVICINO *et al.*, 2003; KASAHARA, 2009). Esta, combinada com análises morfológicas, também contribui na resolução de problemas taxonômicos (LIMA *et al.*, 2003; BONVICINO *et al.*, 2003; BONVICINO, 2012). Algumas pesquisas citogenéticas têm sido realizadas no Estado do Tocantins, que tem o cerrado como vegetação predominante. Estes estudos expõem a ocorrência de novas espécies e variações populacionais, em pequenos mamíferos não voadores (LIMA *et al.*, 2005), principalmente de roedores.

Sabe-se que na família Didelphidae são encontrados três conjuntos de números de cromossomos $2n=14$, 18 e 22, os quais têm sofrido revisões taxonômicas constantes (VOSS; JANSA, 2009). A análise cromossômica em marsupiais é de grande importância por desvendar uma gama de biodiversidade escondida em variados ambientes do Cerrado, sendo que cada fitofisionomia deste bioma pode conter populações de uma mesma espécie com

características genéticas distintas, mas com semelhanças na morfologia externa (ANDRADE, 2009). Embora, do ponto de vista citogenético, os marsupiais sejam considerados um grupo conservado com número diplóide estável, á medida que novas populações de marsupiais neotropicais são analisadas, uma grande variabilidade de fórmulas cromossômicas, padrões de bandeamento e morfologia dos cromossomos sexuais são detectadas (CASARTELLI *et al.*, 1986; SOUZA *et al.*, 1990; PALMA; YATES, 1996; SVARTMAN; VIANNA-MORGANTE, 1999; CARVALHO *et al.*, 2002; LIMA, 2004, KASAHARA, 2009).

De acordo com o contexto acima, os estudos citogenéticos se tornam relevantes para a presente pesquisa, por identificar e caracterizar as espécies já existentes, detectar a ocorrência de novas espécies e de espécies não registradas para o estado do Tocantins. Assim sendo, este trabalho teve como pretensão identificar e caracterizar espécies de marsupiais (Didelphidae), em áreas de Cerrado no município de Aparecida do Rio Negro, Tocantins, do ponto de vista citogenético, em abordagem conjunta com informações encontradas na literatura, sobre sistemática (morfologia externa e distribuição geográfica).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de estudo:

As amostras celulares disponíveis para o estudo são oriundas da coleta (Licença Permanente – SISBIO, 19773-1) no projeto: Estudo da Biodiversidade de Pequenos Mamíferos da Amazônia e Seu Uso Biotecnológico, (Programa Bionorte, CNPq, Processo número: 552032/2010-7), concluído em 2014, e com a autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da Unintins, número: 18505/2018.1. Os materiais de estudo são provenientes da área do cerrado, localizado na Fazenda Lagedinho (10°02'24"5, 49°04'4,2W), inserida no município de Aparecida do Rio Negro, Região Metropolitana de Palmas (Figura 1).

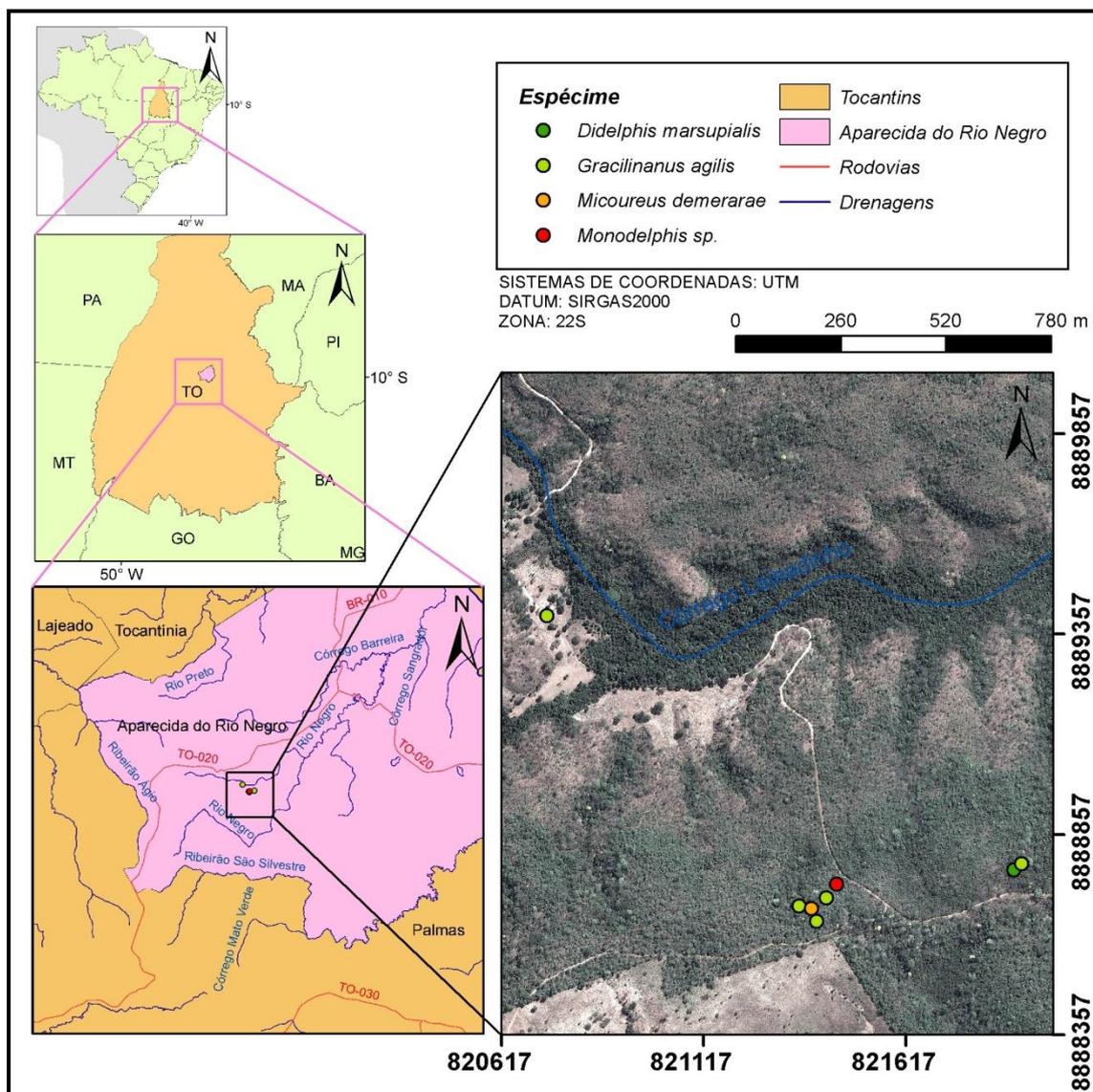


Figura 1. Mapa do município de Aparecida do Rio Negro, com as localizações onde os espécimes foram coletados, à direita.

2.2. Coleta de dados:

Os animais foram capturados em uma excursão de campo, com duração de 12 noites, em maio de 2014. Foram utilizadas armadilhas do tipo “*Live Trap*” (gaiolas) (*Tomahawk* - de arame galvanizado e *Sherman* – chapa de zinco galvanizada), distribuídas em transectos lineares distantes umas das outras de 15 em 15 metros, na sequência: 2:1:1 (*live trap* – solo e *Sherman* – árvore: *live trap* – solo: *live trap* – solo), com o propósito de capturar animais de hábitos terrestres, fossoriais e arborícolas.

Todos os marsupiais capturados foram transportados até o laboratório improvisado no campo (Figura 2), onde foram pesados e retiradas todas as medidas biométricas necessárias, conforme Emmons; Feer (1997): tamanho do corpo, da orelha, da pata traseira e da cauda dos animais. Foi coletado o material celular dos indivíduos eutanasiados, para estudos citogenéticos, inclusive o tecido muscular, para fazerem parte do “banco de tecidos” do LABIC (para futuros estudos moleculares). Logo após esses procedimentos, técnicas de taxidermia foram aplicadas, para a preparação da pele e crânio. Números de séries com as iniciais: FSL (Fernando de Sousa Lima), foram referentes ao número de campo do orientador e coletor (Tabela 1). Todos os exemplares analisados nesse estudo foram tombados na Coleção de mamíferos do Museu de Zoologia José Hidasí (MZJH) da Universidade Estadual do Tocantins (Unitins), em Porto Nacional.



Figura 2: Laboratório improvisado no campo para preparações citogenéticas, com a técnica de laboratório (Rosicleide Vieira).

Tabela 1. Lista dos indivíduos estudados, com informações sobre o número de campo, sexo, habitat/vegetação e coordenadas. (*) animal coletado em área da Agrotins; (*-) = área replantada na margem de represa. Coordenadas em itálico = parâmetros aproximados.

Espécie	Nº de Campo	Sexo	Habitat	Coordenadas
<i>*Didelphis albiventris</i>	FSL 272	♂	*-área replantada Cerradão	10°24'16,4"S;48°22'00",4W
<i>Didelphis marsupialis</i>	FSL 280	♂		10°02'22,6"S;48°03'49,8"W
<i>Gracilinanus agilis</i>	FSL 286	♀	Cerradão	10°02'22,1"S;48°03'49,2"W
	FSL 289	♀	Cerradão	10°02'25,7"S; 48°04'7,2" W
	FSL 294	♀	Mata-Galeria	<i>10°02'25,0"S; 48°04'5,0"W</i>
	FSL 295	♂	Mata-Galeria	<i>10°02'26,9"S; 48°04'5,8"W</i>
	FSL 298	♀	Cerradão	10°02'2,3"S; 48°04'27,9"W
<i>Marmosa demerarae</i>	FSL 282	♂	Cerradão	<i>10°02'25,9"S; 48°04'6,2"W</i>
<i>Monodelphis</i> sp.	FSL 281	♂	Mata-Galeria	10°02'23,9"S; 48°04'4,2"W

As identificações dos exemplares começaram no campo, a partir de observações dos indivíduos durante a coleta, foram tiradas medidas biométricas, analisados os padrões de colorações, taxidermia (pele e crânio) e posteriormente no LABIC, com base no Guia de campo de Emmons; Feer (1997) e, principalmente, Reis *et al.*, (2011). Todas as etapas de identificações e observações acima foram feitas principalmente pelo Dr. Marlyson Jeremias Rodrigues da Costa, do Centro de Estudos Avançados de Biodiversidade (CEABio), da Universidade Federal do Pará (UFPA), o qual veio especialmente para participar dessa excursão de campo como membro da equipe do Projeto Bionorte da UFPA.

O material celular coletado no campo seguiu o procedimento recomendado por Baker *et al.*, (1982), com adaptações, onde foi extraída a medula óssea do fêmur dos animais. Essas amostras celulares foram fixadas em uma solução na proporção 3:1 (3 partes de álcool metílico para 1 parte de ácido acético), e conservadas em “freezer” do Laboratório de Biodiversidade e Conservação (LABIC), para serem utilizadas quando necessário. O que foi feito, a começar por esse estudo.

2.3. Análise laboratorial:

Foram analisadas nove amostras celulares disponíveis no LABIC, as quais estão distribuídas nas seguintes espécies: *Monodelphis* sp. (1 amostra), *Gracilinanus agilis* (5 amostras), *Micoureus demerarae* (1 amostra), *Didelphis marsupialis* (1 amostra) e *Didelphis albiventris* (1 amostra), para a presente pesquisa (Tabela 1).

Para obter a identificação e caracterização citotaxonômica das espécies em estudo, foram realizadas preparações citogenéticas de cada amostra celular, a partir do procedimento para preparação de lâminas, de acordo com a técnica de Baker *et al.*, (1982):

- a. O material foi centrifugado a 1000 rpm por 6 minutos e retirado o sobrenadante;
- b. O sedimento foi ressuspenso e procedeu-se a fixação adicionando lentamente o fixador Carnoy, preparado com metanol e ácido acético, na proporção 3:1. Em seguida, foi centrifugado e trocado o fixador pelo menos 3 vezes.
- c. Para preparação das lâminas, pingou-se uma ou duas gotas da suspensão celular sobre uma lâmina mantida horizontalmente sobre um suporte de arame, colocado em banho-maria a 60°C. Em seguida, a lâmina foi retirada do banho-maria e secada ao ar.

Para a visualização das metáfases e análise dos seus cromossomos, utilizou-se técnica clássica de **coloração convencional**, nas lâminas devidamente confeccionadas, que consistiu em:

- a. A lâmina foi incubada em ácido clorídrico a 1N, aquecido até 60°C (por 5 minutos), em seguida, foi lavada em água destilada.
- b. Depois, foi corada com solução de Giemsa, preparada com 2mL de solução comercial e 30 ml de tampão fosfato (0,1M), PH 6,8, durante 10 minutos. Então, lavou-se em água destilada e foi deixada para secar a temperatura ambiente.

As **técnicas de Bandeamentos** adotadas foram duas: 1) Banda C - que possibilitaram visualizar regiões de heterocromatina constitutiva, que é altamente condensada, repetitiva e rica em sequências A-T ou C-G, geralmente localizadas nas regiões centroméricas dos cromossomos, e a 2) Banda RON (Região Organizadora de Nucléolos) - onde as regiões organizadoras de nucléolos são produzidas por proteínas nucleolares facilmente identificáveis pela impregnação de nitrato de prata e visualizadas em regiões secundárias

dos cromossomos. Os métodos adotados, nas duas técnicas citadas foram os de Sumner (1990) – para **banda C** e Howell; Black (1980) – para **banda RON**, respectivamente, com modificações necessárias, como segue:

Banda C

- a. A lâmina foi deixada para envelhecer por dois dias a 37°C;
- b. A lâmina foi incubada em solução de ácido clorídrico 0,2N por 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida foi lavada em água destilada. Depois, foi incubada em solução de hidróxido de bário octahidratado a 5%, em banho-maria a 60°C, por 1 a 3 minutos. Em seguida, foi lavada em água destilada;
- c. A lâmina foi mergulhada rapidamente em solução de ácido clorídrico 1N, a 60° C, e lavada em água destilada;
- d. A lâmina foi incubada em solução salina de 2 x SSC, pH 7,0, a 60°C por 1 hora. Em seguida foi lavada em água destilada;
- e. Foi corada com solução de Giemsa preparada com 2 mL da solução comercial (Merck) e 28 mL de tampão fosfato 0,1M, pH 6,8, durante 20 a 30 minutos. Em seguida, a lâmina foi lavada em água destilada e secou a temperatura ambiente.

Banda RON

- a. A lâmina foi incubada em solução de ácido clorídrico 1N, a 60° C, durante 3 minutos. Depois deixou-se secar ao ar;
- b. Pingou-se sobre o material, 1 gota de solução de coloidal reveladora (1 g de gelatina em 50 mL de água destilada mais 0,5 mL de ácido fórmico) e, em seguida, 2 gotas de solução de nitrato de prata a 50%;
- c. A lâmina foi coberta com lamínula e incubada em câmara úmida, a 60° C, durante 3 minutos. Em seguida, lavou-se a lâmina em água destilada e depois foi corada em solução de Giemsa (ver coloração convencional), durante 30 segundos. Então, foi lavada em água destilada e deixada para secar.

2.4. Análise dos dados:

Cada exemplar foi analisado ao microscópio óptico com diferentes técnicas de colorações, para se estabelecer o número diploide ($2n$) da espécie e o número de braços autossômicos (NA). A classificação morfológica dos cromossomos foi feita visualmente, como metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos. As melhores metáfases (3 a 5 quantidades) foram fotografadas nos microscópios Trinocular BEL Photonic adaptado com TABS cop e com display digital para microscopia (do Laboratório da Universidade Estadual do Tocantins) e no LEICA DM 500 HD (do Laboratório de Microscopia da Universidade Federal do Tocantins), com objetiva 100 de imersão. Cariogramas foram montados com os cromossomos, formando pares de acordo com o tamanho e posição dos centrômeros, em ordem decrescente, procurando identificar o par sexual. Todo o procedimento de montagem dos cariogramas foi feito com o auxílio dos programas PHOTOSHOP CS6 e GIMP 2.

Com os dados de caracterizações citogenéticas obtidos de cada espécie, estes foram comparados com resultados conhecidos para esses táxons, oriundos de outras áreas, regiões ou estados, inclusive, em relação à morfologia externa e distribuição geográfica, quando necessário.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram analisados, citogeneticamente, 9 exemplares (5 machos e 4 fêmeas), distribuídos em quatro gêneros e cinco espécies de marsupiais pertencentes a família Didelphidae. As amostras celulares desses exemplares foram preparadas em lâminas, 155 no total, cujas análises permitiram determinar o número diploide ($2n$), número de braços autossomos (NA), tipos e morfologia dos cromossomos e os padrões de bandeamentos C e RON de todas as espécies aqui estudadas. As tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 mostram os dados comparativos citogenéticos em relação ao $2n$, NA, morfologia dos pares sexuais, banda C, banda RON, entre as espécies aqui estudadas e as encontradas nas literaturas para as mesmas espécies em estados divergentes.

Monodelphis sp. Burnett, 1830

Foi estudada a amostra celular de um indivíduo macho (FSL 281) e foram preparadas e analisadas 11 lâminas, sendo observado um total de 55 células, que permitiram obter os resultados a seguir.

A coloração convencional permitiu constatar que o número diploide ($2n$) é $2n=18$ e o número de braços de cromossomos autossômicos (NA) é $NA=30$, apresentando o conjunto de cromossomos autossômicos constituído de oito pares, sendo os três primeiros de tamanhos grandes, o par um (1) é submetacêntrico e o maior do conjunto, o dois (2) foi metacêntrico e o par três (3) subtelocêntrico, inclusive os pares quatro (4), cinco (5), seis (6) e sete (7). Contudo os pares 4 e 5 são de tamanhos médios e os 6 e 7 são pequenos, apenas o par 8 é acrocêntrico. Já os cromossomos alossômicos ou sexuais, o X é um pequeno acrocêntrico e o Y é puntiforme, um minúsculo acrocêntrico (Figura 3).



Figura 3. Cariograma de *Monodelphis sp.* (FSL 281 - ♂) em coloração convencional.

Em banda C, apesar da qualidade da metáfase, foi possível constatar heterocromatina constitutiva nos centrômeros de todos os cromossomos autossômicos, inclusive, distalmente nas extremidades dos braços longos(q) no par 2 (2q, aqui em um dos membros) e, principalmente, no par 3 (3q). Em relação ao X, marcações foram evidenciadas, também, na região centromérica e o Y, se mostrou totalmente heterocromático (Figura 4).

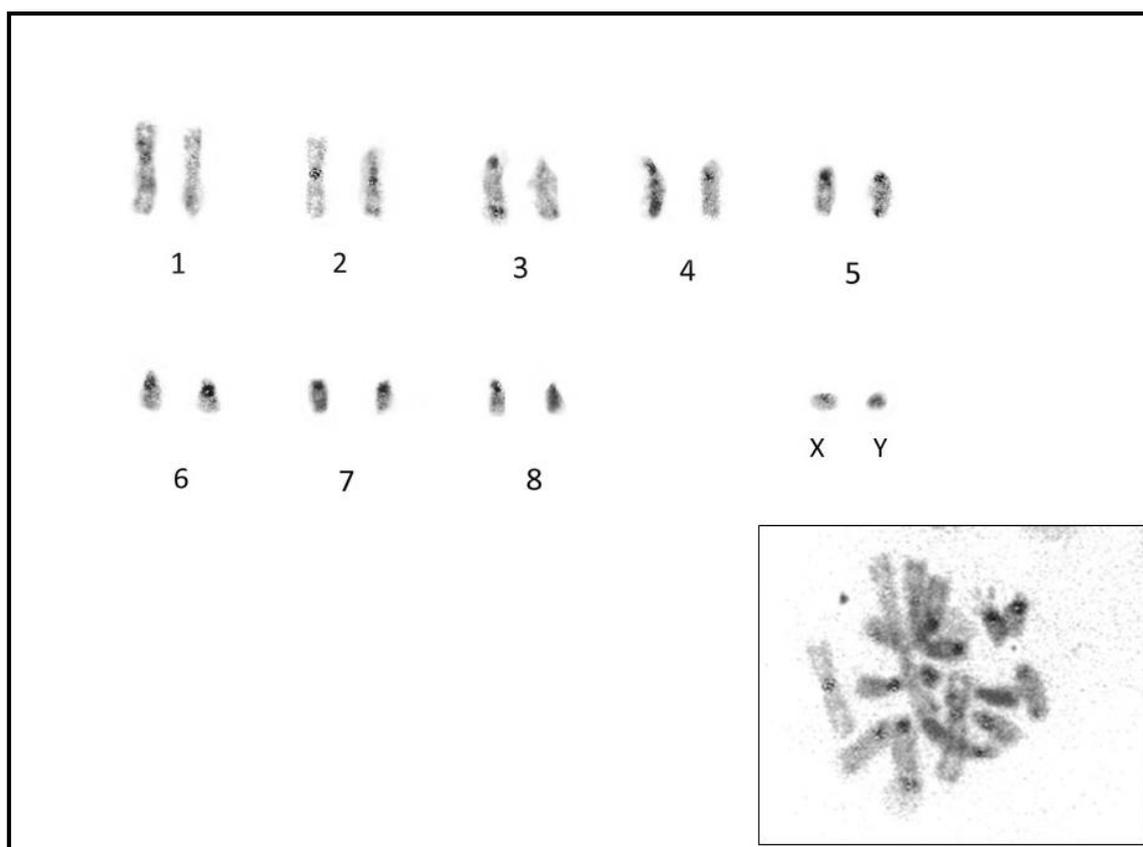


Figura 4. Cariograma de *Monodelphis sp.* (FSL 281 - ♂) em Banda C.

A banda RON localizou – se nos braços curtos (p) do par 7 (7p) e no braço curto do cromossomo sexual X (Xp) (Figura 5).

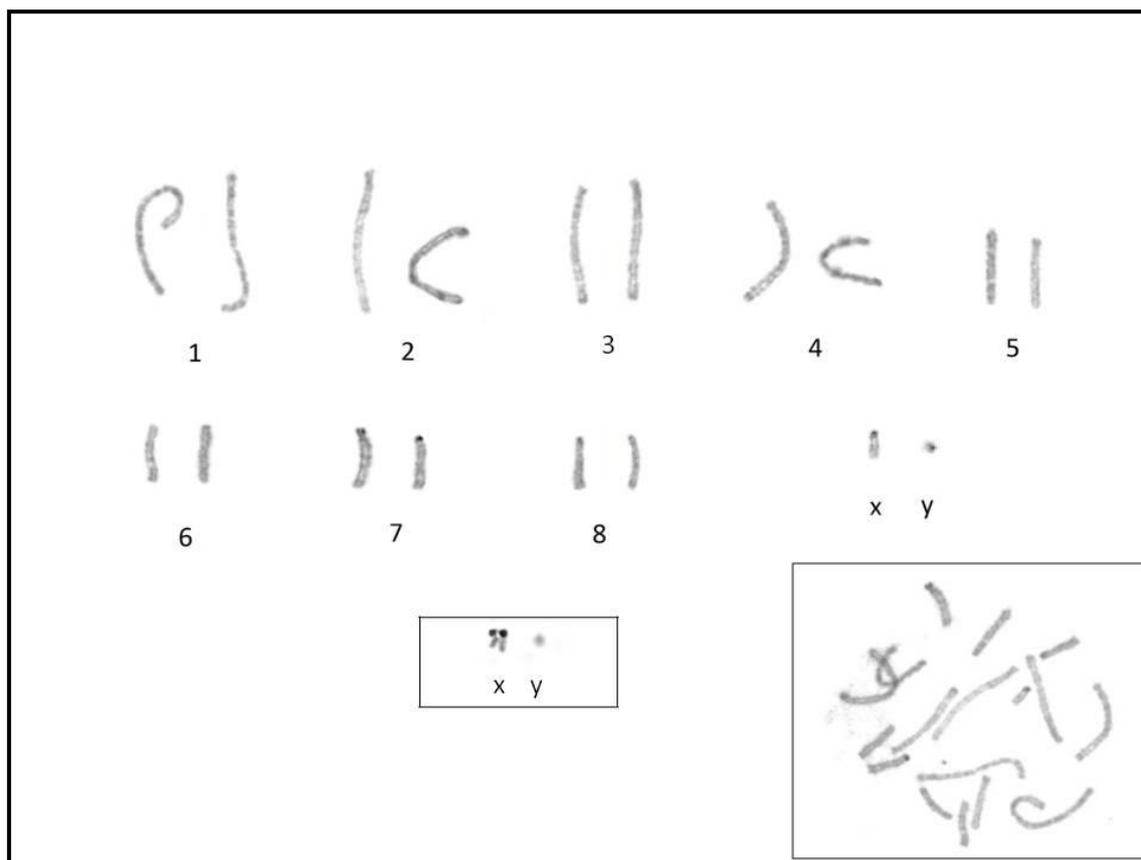


Figura 5. Cariograma de *Monodelphis* sp. (FSL 281 - ♂) em banda RON. Em destaque, quadro menor, o par sexual de outra célula, com melhor padrão de marcação.

Os dados de *Monodelphis*, do presente estudo confirmam o $2n$, constituído por oito pares de autossomos, já descritos para o gênero em outros estados do Brasil, onde constata-se uma variação do $NA=20$ a 32 (SVARTMAN, 2009; FARESIN - SILVA *et al.*, 2017). Nosso padrão cariotípico (quanto ao número e forma de cromossomos) apresenta semelhanças com os descritos para espécies do Amazonas: *Monodelphis* aff. *adusta*, *M. emiliae* e *M. brevicaudata*, as quais apresentam $2n=18$ e $NA=30, 32$ (PATTON *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2002; ANDRADE, 2009; FARESIN - SILVA *et al.*, 2017). O mesmo acontece para *M. kunsi*, citados para os estados de Goiás (CARVALHO *et al.*, 2002; SVARTMAN, 2009). Dados levantados de *M. domestica* (com ampla distribuição no Brasil, do nordeste ao sudeste) apresentados por Svartman, (2009) e Andrade, (2009), mostram variável o $NA= 20, 22, 24, 28, 30$ e 32 , estes são, respectivamente, encontrados nos estados do Ceará, Goiás e Tocantins; Bahia, Espírito Santo e, por último, Rio Grande do Sul. Das espécies citadas de *Monodelphis*, logo acima, foram detectadas as seguintes variações: 1) o único par acrocêntrico é citado, geralmente, como par 6, exceto em relação á *M. kunsi* de Goiás e *M. brevicaudata* de Roraima e Pará (CARVALHO *et al.*, 2002; ANDRADE, 2009), citado como par 8 (coincidente com este trabalho); 2) em relação ao par sexual X e Y, estes

se apresentaram em todas as espécies como os menores cromossomos do cariótipo, porém com variações quanto á forma do X, onde apareceram como acrocêntrico, submetacêntrico e subtelocêntrico, inclusive, o Y.

As diferenças de localizações do par acrocêntrico ser o 6 ou o 8, podem ser explicadas pela metodologia, que recomenda que os pares sejam montados na ordem decrescente de tamanho. Em relação às diferenças da forma do X e Y, os da nossa amostra são coincidentes com: *M. touan*, *M. domestica* (apesar do NA=28), *M. aff. Adusta* e *M. brevicaudata*, estudados por Carvalho *et al.*, (2002) e Faresin - Silva *et al.*, (2017), por se apresentarem na forma acrocêntrica e submetacêntrica. Destacando as duas últimas espécies em relação á forma “puntiforme” do Y, idêntico aos da nossa amostra.

Os nossos padrões de banda C, evidenciam marcações em todas as regiões pericentroméricas dos autossomos, e no X, o Y (puntiforme) se apresenta todo heterocromático, como encontrados em *M. touan*, *M. aff. adusta*, *M. brevicaudata* e *M. emiliae* e *M. domestica* (CARVALHO *et al.*, 2002; FARESIN - SILVA *et al.*, 2017). Estes autores, ao contrário de nossos resultados nos pares 2q e 3q, não citam a presença de marcações em braços longos de autossomos. Em Andrade (2009), a banda C marcou no par 6p de *Monodelphis sp.* (com NA=32) do meio-leste do Amazonas.

Em relação ao bandeamento RON, no nosso *Monodelphis sp.*, as marcações são no par 7p e no Xp (nos braços curtos). A presença de RONs no par 7 são vistas igualmente em indivíduos com NA=30: *M. aff. adusta*, *M. brevicaudata* e *M. emiliae* e com NA=32: *Monodelphis sp.*, todos do Amazonas (FARESIN - SILVA *et al.*, 2017). Já a presença de RONs no Xp, só foi detectado em *M. brevicaudata*, *M. domestica* e *M. touan* (CARVALHO *et al.*, 2002; FARESIN - SILVA *et al.*, 2017).

De acordo o exposto acima, percebe-se que o nosso *Monodelphis sp.* em relação as espécies de NA=30, possui algumas peculiaridades nas características de bandas C e RON. Estas se mostraram mais semelhantes com *M. aff. adusta* e *M. brevicaudata*. Porém, estas duas espécies não apresentam bandas C nos braços longos de seus cromossomos, apenas centroméricas, e, no que diz respeito a presença de RONs, foram coincidentes com a nossa espécie em relação ao par Xp, somente *M. touan*, *M. brevicaudata* do Amazonas (Rio Negro, ao noroeste, lado esquerdo do Rio Amazonas) e *M. domestica* do Goiás. Das duas espécies que apresentaram maiores características citotaxonômicas com nossa espécie de *Monodelphis*, foram: *M. aff. adusta* e *M. brevicaudata*, *M. adusta* não é citada com

ocorrência no Brasil, caso esta *M. aff. adusta*, seja confirmada pertencente a espécie coletada ao sul do estado do Amazonas, por Faresin - Silva *et al.*, (2017), não apresenta nenhuma marcação de RON no X. Em relação a *M. brevicaudata*, Reis *et al.*, (2006) apresentam informações sobre o comprimento e padrão de coloração bem diferente da nossa espécie. Por exemplo, (dados da nossa espécie está entre parêntese): comprimento total está entre 176 a 259 mm (os dois exemplares estudados foram 147 e 146 mm); coloração dorsal é grisalha, lateralmente avermelhado, e ventralmente com pelos de ápice creme, base cinza (dorsalmente é acinzentado com pigmentos laranja nos lados da cabeça, ventralmente é mais claro).

Recentemente, Pavan (2019), apresenta uma revisão do grupo *M. glirina* (com base na morfologia e DNA), onde afirma que *M. glirina*, foi considerada por muito tempo sinônimo de *M. brevicaudata*, e apresenta *M. glirina* com coloração compatível com os dos nossos exemplares, inclusive de comprimento (Figura 6). Esse padrão de coloração encontrado, pelo citado autor, foi em exemplares coletados nos Rios Xingu e Tocantins, sendo neste último até a margem esquerda. Bem mais recentemente, informações dadas pelo mastozoólogo Dr. Rogério Rossi da UFMT (com. pess.), após análises de fotos da pele dos nossos dois exemplares, afirma que estes são jovens e apresentam características iguais, nessa fase de desenvolvimento, de mais uma espécie, *M. domestica*. Lembramos que de acordo com a literatura consultada (SVARTMAN, 2009; ANDRADE, 2009), este apresenta o X e Y acrocêntricos (o Y as vezes, puntiforme), com um padrão de bandas C típicas, centroméricas, RONs nos pares 5p e Xp e o NA=30, só foi confirmado no Espírito Santo.



Figura 6. Vistas dorsais, laterais e ventrais das peles de *Monodelphis* sp. (jovem) de Aparecida do Rio Negro, Tocantins (A) e *Monodelphis glirina* da Serra dos Carajás, Pará (B) conforme Pavan, 2019, mostrando semelhanças na morfologia externa (fenótipos).

Sendo assim, acreditamos que *Monodelphis* sp. aqui estudado, pode se enquadrar em três situações de prioridade: 1) pertencer ao grupo glirina, *M. cf. glirina*, que tem suas características morfológicas aqui definidas para o lado esquerdo do Rio Tocantins, estendendo sua área de ocorrência; 2) sendo *M. domestica*, este cariótipo é registrado pela primeira vez, para o Município de Aparecida do Rio Negro, Tocantins e 3) considerada a menos provável, tratar-se de uma nova espécie. Estas observações reforçam os comentários sobre o grupo com $2n = 18$, composto de espécies do gênero *Monodelphis*, que estes variam bastante quanto às formas dos cromossomos autossômicos, sexuais e posições das bandas RONS (LANGGUTH; LIMA, 1988; KASAHARA, 2009). Em relação a presença de RONS em cromossomos sexuais, Hsu *et al.* (1975) citam que isto poderia ser considerado como caráter derivado, já que, inicialmente, estavam presentes em cromossomos autossomos e acabaram por aparecer no cromossomo X do par sexual, e isto acontece possivelmente, devido a rearranjos do tipo translocação ou transposição.

Tabela 2. Dados citogenéticos comparativos de *Monodelphis* sp. analisado no presente estudo e os da literatura. Dados cariotípicos: $2n$ = número diploide; NA = número do braço autossômico; X/Y= pares sexuais; C= heterocromatina constitutiva; RON = Região Organizadora Nucleolar; p = braço curto; q = braço longo. As letras identificam a morfologia dos cromossomos sexuais: m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; sbt= subteloentrico; a = acrocêntrico; O local, mostrou o estado em que as espécies foram encontradas e as referências mostraram o autor de cada informação dada.

Espécies	2n	NA	X/Y	C	RON	Local	Referências
<i>Monodelphis</i> sp.	18	30	a/a	1, 2q, 3q, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	7p, Xp	TO	Presente estudo
	18	32	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6p, 7, 8	3p	AM	Andrade, 2009
	18	32	sm/a		7p	AM	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017

<i>M. adusta</i>	18	30	a/-	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	7p	AM	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017
<i>M. emiliae</i>	18	30	sm/-	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	7p	AM	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017
	18	30	sm/-			PA	Patton <i>et al.</i> , 2000
<i>M. brevicaudata</i>	18	30	sm/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	7q, Xp, Yq	AM	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017
	18	30	sm/a			PA	Patton <i>et al.</i> , 2000
	18	30	a/-	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	Xp	RO, PA	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
	18	32	sbt/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, Xp, Y	Xp, Yq	PA	Andrade, 2009
<i>M. kungsi</i>	18	30	sm/a		5p	GO	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
<i>M. domestica</i>	18	28	a/-		Xp	GO	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
	18	20	a/-	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X,Y	5p, Xp	GO	Svartman; Vianna- Morgante,1999 , 2003, 2009
	18		a/-			TO	Pereira <i>et al.</i> , 2008
	18	20	a/a			CE, GO	Pagnozzi <i>et al.</i> , 2002
	18	30	a/-			ES	Paresque <i>et al.</i> , 2004
	18	22	a/a			BA	Pereira; Geise, 2017
<i>M. touan</i>	18	28	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, X e Y	Xp	AM	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017

*Tabela de acordo com modelos de Andrade, 2009 e Faresin – Silva *et al.*, 2017.

Didelphis Linnaeus, 1758

Na região de estudo foi coletado apenas um exemplar de *D. marsupialis*, mas pela disponibilidade de amostra de um indivíduo de *D. albiventris* coletado no município de Palmas, resolvemos aqui incluí-lo.

Didelphis albiventris Lund, 1840

Foi estudado o material celular de um indivíduo macho (FSL 272) e foram preparadas e analisadas 6 lâminas, com um total de 40 células encontradas, que permitiram obter os resultados a seguir.

A coloração convencional permitiu constatar que o $2n=22$ e $NA=20$ apresentou um conjunto de cromossomos autossômicos constituído de 10 pares de cromossomos acrocêntricos médios e pequenos com variação gradativa de tamanhos. O par sexual, X e Y, se mostraram morfologicamente acrocêntricos e os menores do conjunto cromossômico, sendo o Y o menor. (Figura 7). Três pares (1 a 3) apresentaram-se médios, pelo tamanho relativo com os demais, e os sete pares pequenos (4 ao 10), a variação é bem discreta ou imperceptível, especialmente, os últimos pares.

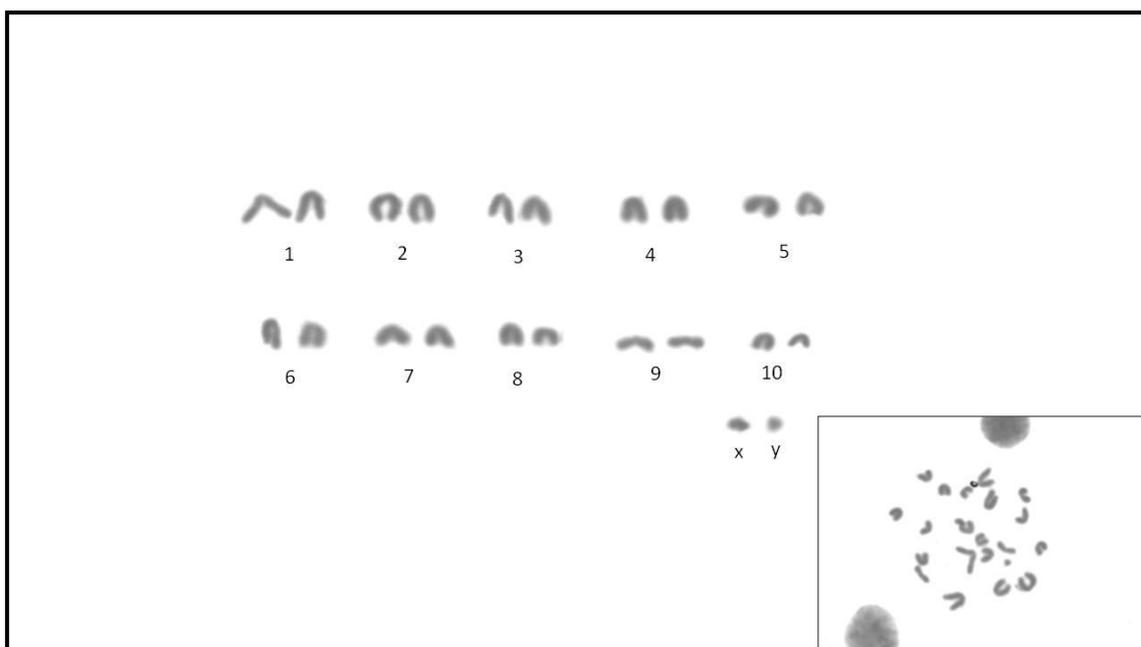


Figura 7. Cariograma de *Didelphis albiventris* (FSL 272 - ♂) em coloração convencional.

Apesar de algumas sobreposições na metáfase, foi possível constatar a presença de heterocromatina constitutiva na região centromérica, de todos os cromossomos autossômicos, com variação de intensidade de coloração, sendo mais tênue nos últimos pares. A variação entre os membros dos pares se explica devido à presença de sobreposições. Os cromossomos sexuais mostraram a banda C pericentromérica no cromossomo X e o cromossomo Y inteiramente heterocromático (Figura 8).

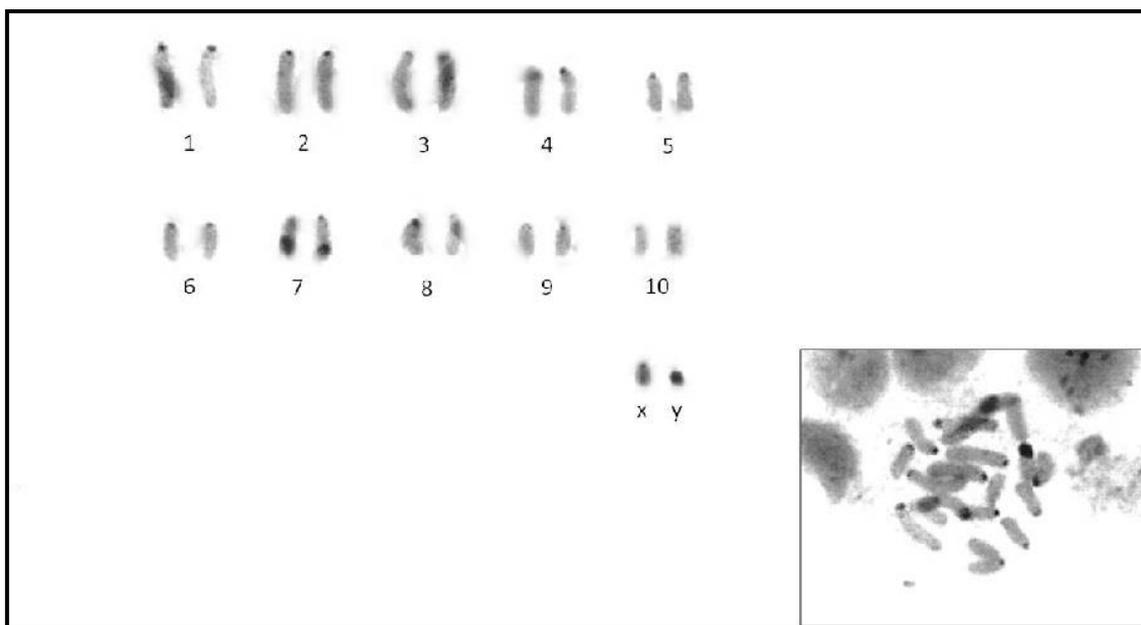


Figura 8. Cariograma de *Didelphis albiventris* (FSL 272 - ♂) em Banda C.

O bandejamento RON foi localizado na região telomérica dos braços longos nos pares 1 (1q), 2 (2q), 4 (4q), 5 (5q) e 6 (6q), 7 (7q), 8 (8q). (Figura 9).

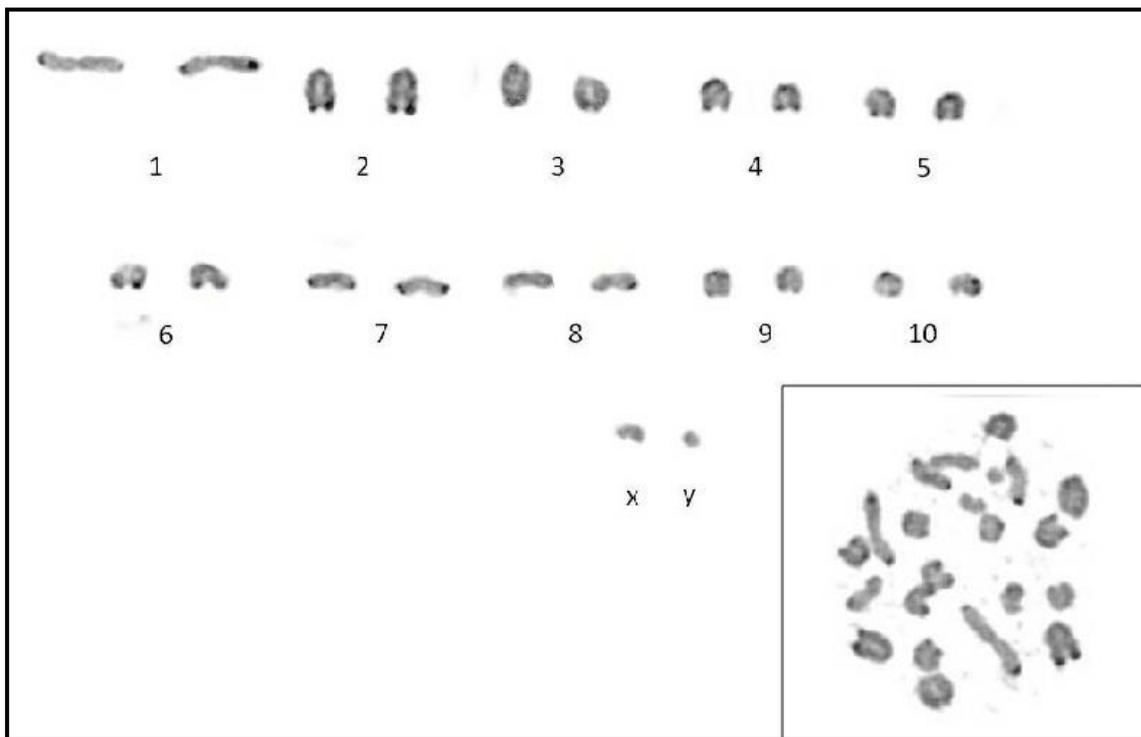


Figura 9. Cariograma de *Didelphis albiventris* (FSL 272 - ♂) em Banda RON.

A amostra celular de *D. albiventris* examinada está de acordo com indivíduos da mesma espécie descritos na literatura de diferentes regiões do Brasil e compartilham o mesmo $2n$ e o NA. O padrão cariotípico (quanto ao número e forma dos cromossomos) está de acordo com dados apresentados por Carvalho *et al.*, (2002) com animais dos estados de Goiás, Tocantins e Roraima, Paresque *et al.*, (2004), com exemplares do Espírito Santo e Svartman (2009), com estas espécies coletadas no estado de São Paulo.

Em todas as metáfases de $2n = 22$ estudadas, as regiões pericentroméricas de todos os autossomos existiam evidências de banda C, inclusive no cromossomo sexual X. O cromossomo Y apareceu todo heterocromático. Esses resultados foram observados em todas as metáfases analisadas e estes são idênticos com os apresentados nas células analisadas por Yonenaga-Yassuda *et al.*, (1982), Casartelli *et al.*, (1986), ambos do estado de São Paulo, Carvalho *et al.*, (2002) de Goiás, Tocantins e Roraima, Testoni (2006) de Santa Catarina e Vergara *et al.*, (2010) do Rio Grande do Sul.

As RONS foram encontradas nas regiões teloméricas dos braços longos dos pares 1q, 2q, 4q, 5q, 6q, 7q e 8q do presente estudo. Esses amplos números de RONS distribuídos em sete pares, inclui pares citados por alguns autores: Casartelli *et al.*, (1986), a RON, marcou apenas nos braços longos de um par não identificado, Carvalho *et al.*, (2002), que

marcou nos braços longos dos pares 4q e 5q, assim como em Testoni (2006). Já em Vergara *et al.*, (2010) a banda RON, foi localizada na região telomérica dos pares 5 e 7. Nossos resultados são de acordo com a afirmação de Nagamachi *et al.*, (2015), em consonância com os autores acima, sobre a presença de RONs múltiplas no gênero e, em geral nos braços longos dos cromossomos.

Segundo Hsu *et al.*, (1975) já afirmavam que a RON num cístron único e longo seria um caráter ancestral, sendo que rearranjos subsequentes responderiam pela ocorrência de RONs múltiplas em grupos mais derivados. Esta afirmação é reforçada com o que disseram Graves; Watson (1991) e amplamente aceita atualmente, que estudos cariológicos apontam ser o $2n=14$, extremamente conservativo e por isto básico, na maioria dos grupos de marsupiais.

Apesar do reconhecimento da existência de múltiplas RONs no *Didelphis*, nossas observações aqui realizadas, mostram ser possível uma distinção intraespecífica nos cariótipos de *D. albiventris* em relação ao padrão de bandeamento de RONs em diferentes regiões do Brasil. Possivelmente, essa variação no padrão dos diferentes estados, tenha relação com os seus respectivos tipos de ambiente/bioma, os quais encontramos: cerrado, floresta amazônica, pampas, dentre outros, e, é claro, os seus respectivos climas.

Tabela 3. Dados citogenéticos comparativos de *Didelphis albiventris* analisado no presente estudo e os da literatura. Dados cariotípicos: $2n$ = número diploide; NA = número do braço autossômico; X/Y= pares sexuais; C= heterocromatina constitutiva; RON = Região Organizadora Nucleolar; p = braço curto; q = braço longo. As letras identificam a morfologia dos cromossomos sexuais: m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; a = acrocêntrico; O local, mostrou o estado em que as espécies foram encontradas e as referências mostraram o autor de cada informação dada.

2n	NA	X/Y	C	RON	Local	Referências
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y	1q, 2q, 4q, 5q, 6q, 7q, 8q	TO	Presente estudo
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y		SP	Yonenaga-Yassuda <i>et al.</i> , 1982
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y		SP	Casartelli <i>et al.</i> , 1986
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y	4q, 5q	GO, TO, RO	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y	4q, 5q	SC	Testoni, 2006

22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, X e Y	5, 7	RS	Vergara <i>et al.</i> , 2010
----	----	-----	-------------------------------------	------	----	------------------------------

* Tabela de acordo com modelos de Andrade, 2009 e Faresin - Silva *et al.*, 2017.

Didelphis marsupialis Linnaeus, 1758

Foi analisada a amostra celular de um indivíduo macho (FSL 280) e foram preparadas e analisadas 12 lâminas, totalizando 88 células, que nos permitiram obter os seguintes resultados.

A coloração convencional permitiu constatar que o $2n=22$ e $NA=20$, apresentou um conjunto de cromossomos autossômicos constituído de 10 pares de cromossomos acrocêntricos grandes a médios, com variações gradativas de tamanhos. O par sexual foi o menor do conjunto cromossômico, sendo o X acrocêntrico e o Y com forma puntiforme, possivelmente, um diminuto acrocêntrico (Figura 10). Na maioria das metáfases observadas, três pares (1, o maior a 3), foram os que mais se destacaram em relação ao tamanho, quando comparados aos demais, por isso considerados grandes. Já os sete pares (4 ao 10), a variação de tamanho é gradativa e bem discreta.

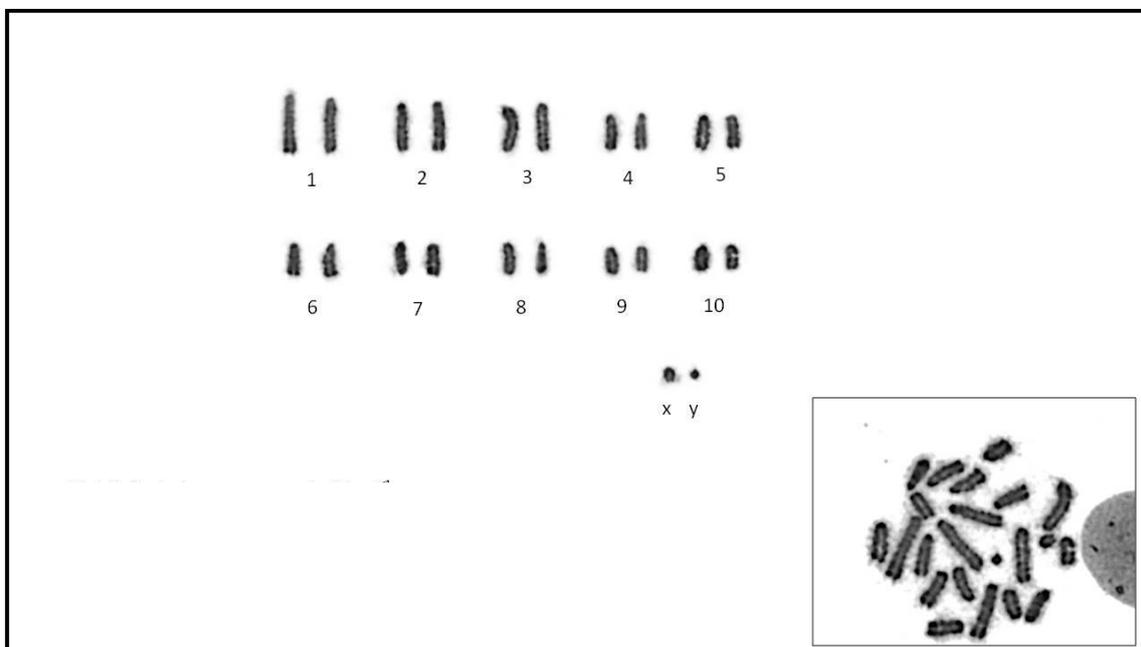


Figura 10. Cariograma de *Didelphis marsupialis* (FSL 280 - ♂) em coloração convencional.

A técnica da Banda C permitiu evidenciar a presença de heterocromatina na região centromérica da maioria dos cromossomos autossômicos, inclusive no X. No geral, as marcações evidenciaram de forma tênue, exceto nos pares 1, 2 e 10, que não apresentaram marcações. O Y se apresentou totalmente heterocromático (Figura 11).

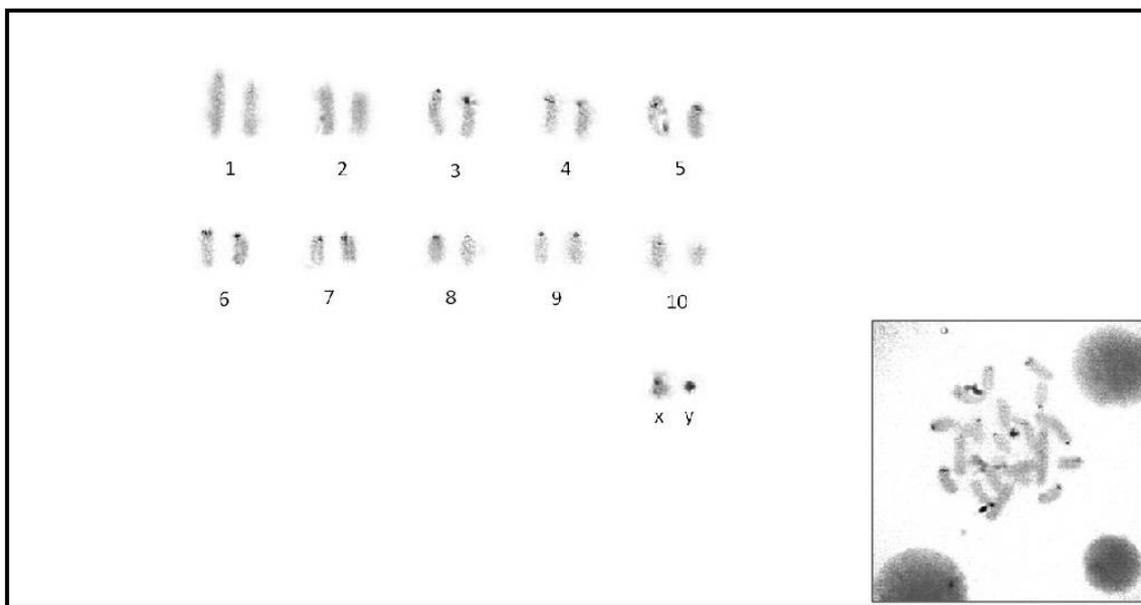


Figura 11. Cariograma de *Didelphis marsupialis* (FSL 280 - ♂) em Banda C.

O bandejamento RON pôde ser observado em três pares cromossômicos, nos braços curtos dos pares 5p e 8p, e nos braços curtos e longos do par 7pq (Figura 12).

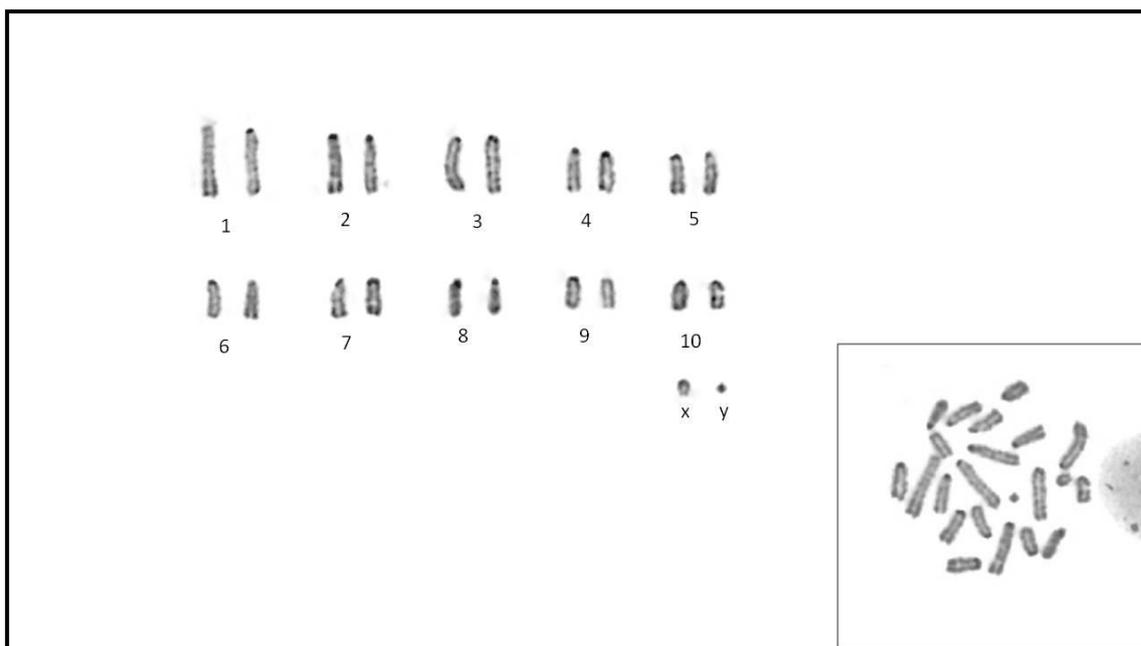


Figura 12. Cariograma de *Didelphis marsupialis* (FSL 280 - ♂) em Banda RON.

Os nossos dados de *D. marsupialis* confirmaram o $2n=22$ e $NA=20$, com 10 pares de cromossomos autossômicos acrocêntricos, juntamente com os sexuais, sendo o Y um diminuto acrocêntrico, puntiforme. O padrão morfológico dos cromossomos desta espécie foram condizentes com o que falam Yonenaga-Yassuda *et al.*, (1982) com exemplares de São Paulo, Casartelli *et al.*, (1986) de São Paulo e Amazonas, Patton *et al.*, (2000) do Amazonas, Carvalho *et al.*, (2002) de Roraima e Amapá, Lima (2004) e Pereira *et al.*, (2008), ambos do Tocantins e Faresin - Silva *et al.*, (2017) com exemplares do Amazonas e Pará.

Nos nossos padrões de bandas C obtidos, observou a presença tênue de marcações centroméricas na maioria dos cromossomos (exceto nos pares, 1, 2 e 10). Essa situação de marcações centroméricas são iguais as encontradas para a mesma espécie coletada no Amapá e Pará, por Carvalho *et al.*, (2002), no caso em todos os autossomos, inclusive no X. Estes mesmos autores afirmam, ainda, que a mesma característica foi encontrada para *D. albiventris*, coletado no Tocantins. Em relação a ausência de marcações centroméricas nos autossomos de *D. marsupialis* e, também, a ocorrência de marcação difusa, são citadas para exemplares dos estados de São Paulo, Amazonas e Pará (YONENAGA-YASSUDA *et al.*, 1982; CASARTELLI *et al.*, 1986; SVARTMAN, 2009; FARESIN - SILVA *et al.*, 2017). Essas marcações consideradas difusas não têm a necessidade de estarem em todos os cromossomos autossômicos, entretanto, estas podem aparecer em alguns autossômicos e serem identificadas nos braços longos (ANDRADE, 2009; SVARTMAN, 2009). Não sendo essa realidade de constatações de manchas mais escuras nos braços longos dos pares 1, 2 e 10 do nosso exemplar, acreditamos que o mesmo deve ter características idênticas as encontradas por Carvalho *et al.*, (2002). A ausência de bandeamento nestes pares citados pode ser explicada pela técnica aplicada, por exemplo, excesso de tempo no bário, por isso a característica muito clara, fosca (Figura 11), pela exposição de tempo em excesso no bário.

As regiões organizadoras de nucléolos surgiram nos braços curtos de três pares cromossômicos: 5p, 7pq e 8p, mas em uma metáfase (de qualidade inferior a apresentada) surgiram marcações nos braços longos, que acreditamos ser no par 7. A distribuição das RONS foi a mesma encontrada por Yonenaga-Yassuda *et al.*, (1982), Svartman; Vianna-Morgante (2003), Faresin - Silva *et al.*, (2017), para exemplares coletados no Pará, Amazonas e São Paulo.

Tabela 4. Dados citogenéticos comparativos de *Didelphis marsupialis* analisado no presente estudo e os da literatura. Dados cariotípicos: 2n = número diploide; NA = número do braço autossômico; X/Y= pares sexuais; C= heterocromatina constitutiva; RON = Região Organizadora Nucleolar; p = braço curto; q = braço longo. As letras identificam a morfologia dos cromossomos sexuais: m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; a = acrocêntrico; O local, mostrou o estado em que as espécies foram encontradas e as referências mostraram o autor de cada informação dada.

2n	NA	X/Y	C	RON	Local	Referências
22	20	a/a	3p, 4p, 5p, 6p, 7p, 8p, 9p, X e Y	5p, 7pq, 8p	TO	Presente estudo
22	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, X		AP, PA	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
22	20	a/a	X e Y	5p, 7pq, 8p	SP	Yonenaga-Yassuda <i>et al.</i> , 1982
22	20	a/a		5p, 7pq, 8p	SP	Svartman, Vianna-Morgante, 2003
22	20	a/a		5p, 7pq, 8p	AM, PA	Faresin - Silva <i>et al.</i> , 2017

* Tabela de acordo com modelos de Andrade, 2009 e Faresin - Silva *et al.*, 2017.

3.1. Comentários sobre *D. albiventris* e *D. marsupialis*

Percebe-se uma grande similaridade cariotípica no gênero *Didelphis*, Carvalho *et al.*, (2002), Lima (2004), Saranholi *et al.*, (2008) e Svartman (2009) citam que espécies diferentes do gênero (*D. marsupialis*, *D. aurita*, *D. imperfecta*) apresentam cariótipos idênticos em coloração comum. Inclusive, o cariótipo, 2n=22, é semelhante para outros gêneros da família, como: *Chironectes*, *Lutreolina* e *Philander*, diferenças detectadas são, principalmente, em relação ao par sexual (CARVALHO *et al.*, 2002; LIMA, 2004; SARANHOLI *et al.*, 2008; SVARTMAN, 2009).

A morfologia externa das duas espécies aqui estudadas são facilmente detectáveis, conforme dados retirados de Emmons; Feer (1997) e Reis *et al.*, (2006), que apresentam as seguintes características: *D. albiventris* apresenta um padrão geral mais claro, grisalho, conferido pela predominância de pelos negros misturados a pelos esbranquiçados. A face apresenta três listras pretas, duas delas sobre os olhos e uma na frente. As orelhas são pretas na base e branca rosada na metade distal, daí o nome de gambá-de-orelha-branca. Sua cauda é preênsil e provida de pelos em até dois terços basais, sendo o restante nu. O comprimento

cabeça – corpo está entre 305 – 890 mm e a cauda entre 290 – 430 mm. *D. marsupialis* apresenta em sua face uma listra escura na fronte e outra sobre cada olho. As orelhas são grandes e desprovidas de pelos e o pavilhão auditivo é completamente negro, daí o nome gambá-de-orelha-preta. Sua coloração dorsal pode ser negra ou grisalha, devido à presença de longos pelos brancos que se sobressaem aos pelos de cobertura negros. Sua cauda é preênsil e preta em sua parte basal, seguida por um branco amarelado, sendo coberta de pelos apenas na região próxima ao corpo. Comprimento cabeça – corpo está entre 405 – 500 mm e cauda entre 366 – 497 mm.

Suas distribuições geográficas no Brasil estão de acordo com dados compilados de Melo; Sponchiado (2012): *D. albiventris* ocupa tanto formações abertas quanto florestais e sua área de distribuição abrange toda a Caatinga, Cerrado e Pampa, também ocorrendo na Mata Atlântica, *D. marsupialis* ocorre no norte do Brasil, com ampla distribuição na bacia amazônica e marginalmente no Cerrado. Em relação ao estado do Tocantins, Lima *et al.*, (2005) confirmou a ocorrência de ambas espécies no município de Porto Nacional (centro-sul) e na região do Jalapão (centro-leste).

Marmosa demerarae Thomas, 1905

Foi analisada a amostra celular de um indivíduo macho (FSL 282) e foram preparadas e analisadas 14 lâminas, totalizando 94 células encontradas, que nos permitiram obter os seguintes resultados.

A coloração convencional possibilitou a exibição de $2n=14$ e $NA=20$, com 6 pares de cromossomos autossômicos, três pares submetacêntricos grandes (1, 2 e 3), um par metacêntrico médio (4) e dois pequenos pares acrocêntricos (5 e 6). O X e Y são acrocêntricos, sendo Y, o menor do conjunto (Figura 13).

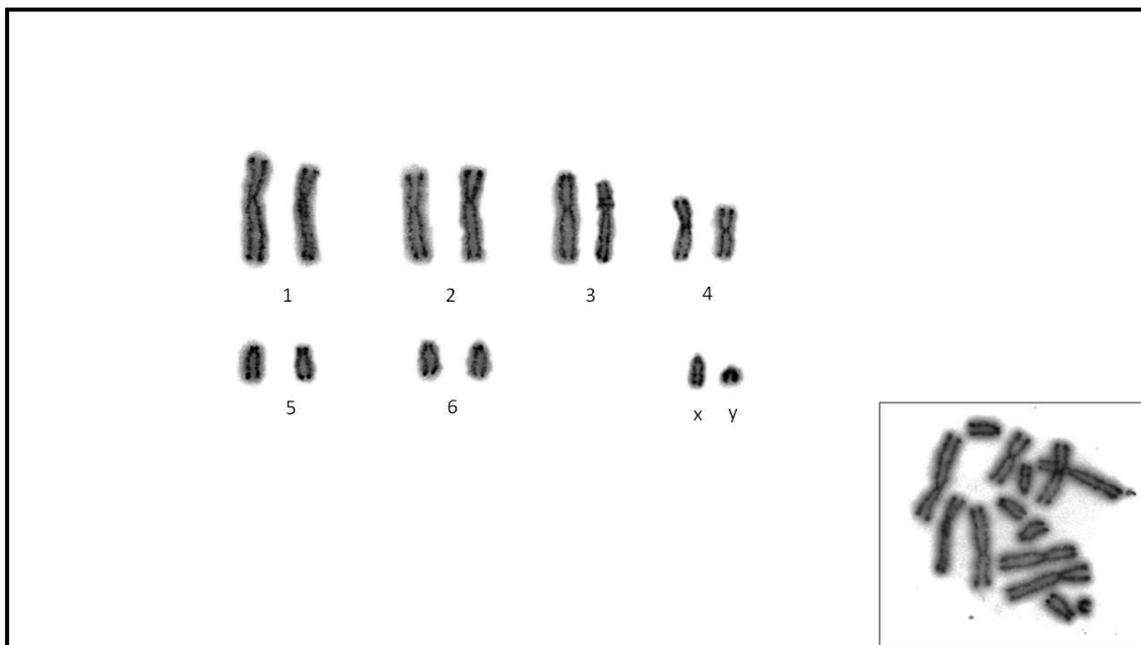


Figura 13. Cariograma de *Marmosa demerarae* (FSL 282 - ♂) em coloração convencional.

Os Padrões de bandas C revelaram blocos de heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas em todos os pares de autossomos. O cromossomo sexual X exibiu marcação na região pericentromérica, e nos braços longos, na parte proximal ao centrômero apresentou uma estreita faixa eucromática. Já o Y exibiu-se inteiramente heterocromático (Figura 14).

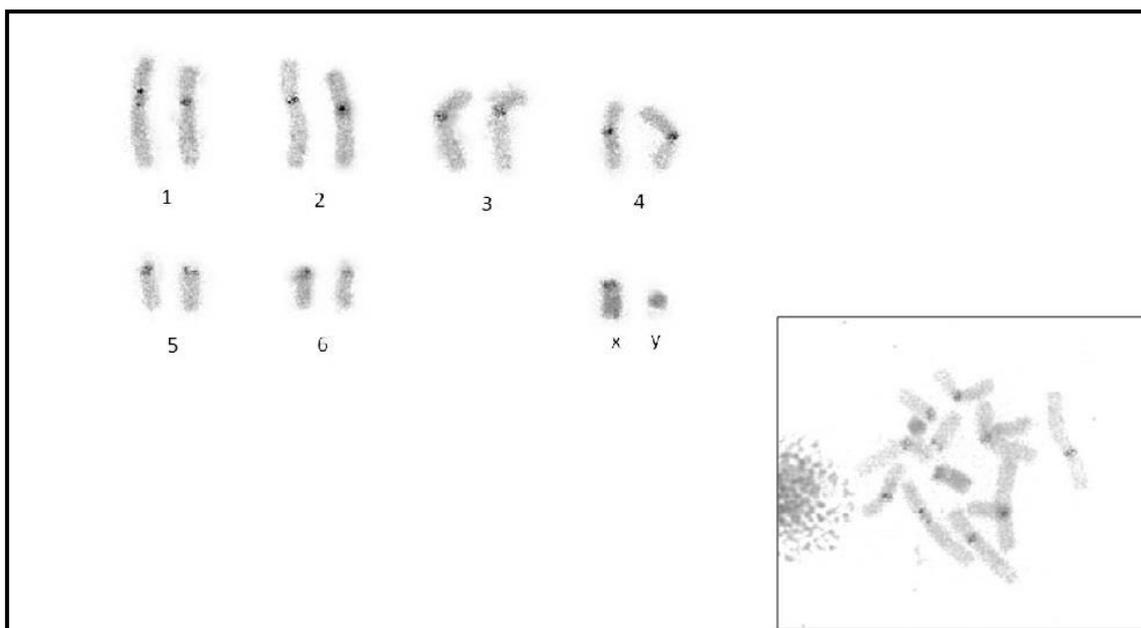


Figura 14. Cariograma de *Marmosa demerarae* (FSL 282 - ♂) em Banda C.

Na região organizadora de nucléolos (RON), houve marcações nos braços longos do par 5q e nos braços curtos do par 6p (Figura 15).

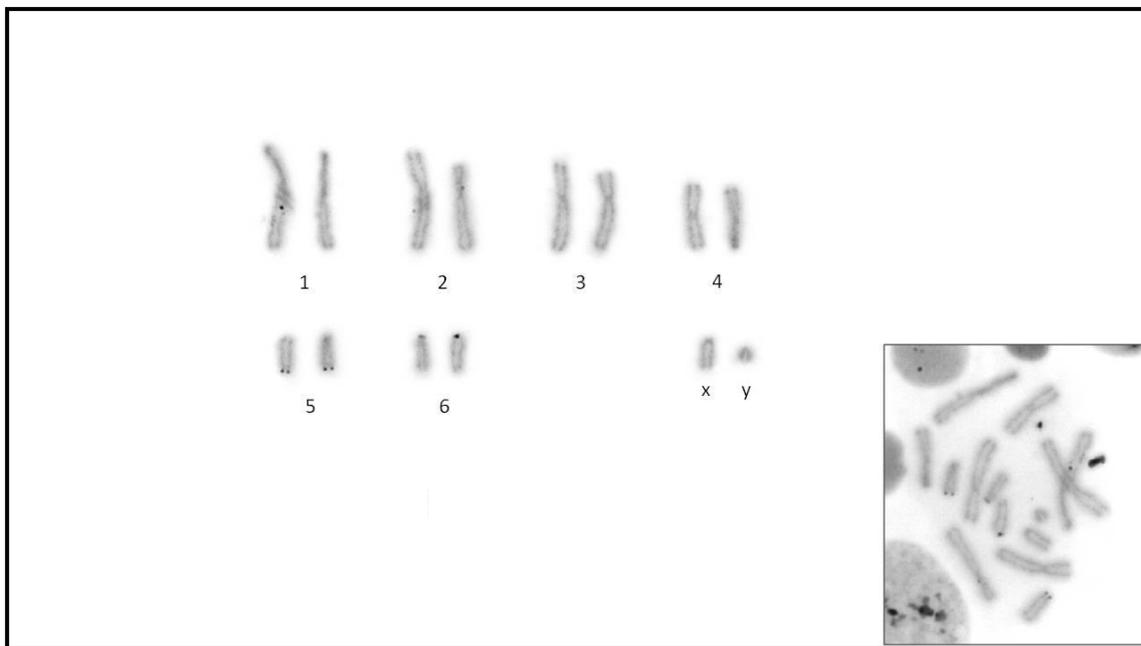


Figura 15. Cariograma de *Marmosa demerarae* (FSL 282 - ♂) em Banda RON.

O exemplar de *Marmosa demerarae*, aqui estudado, apresentou semelhanças cariotípicas com os demais indivíduos da mesma espécie, mas de outras regiões do Brasil. Os nossos cariótipos foram iguais aos de Pagnozzi *et al.*, (2000) do Ceará, Mato Grosso, Bahia, Goiás e São Paulo, Sousa, (2005) da Bahia e Pereira *et al.*, (2008), coletados no estado de São Paulo. Variações podem ser encontradas em relação ao $NA=20-24$, mas essas variações estão relacionadas com os distintos graus de condensações da cromatina, nos pares 5 e 6, os quais podem ser considerados acrocêntricos ou subtelocêntricos por alguns autores (PEREIRA *et al.*, 2008). Carvalho *et al.*, (2002), obteve um cariótipo com $2n = 14$ e $NA = 24$ relatado em cinco indivíduos de *M. demerarae* das localidades de Goiás e Rio Grande do Sul, se opondo ao que foi encontrado em nossos resultados, em relação ao X, os resultados apontam o X menor que o par 6. Esse tipo de dúvida, quanto a forma dos pares 5 e 6, tivemos em relação ao par 5, pois na maioria das células fotografadas, sempre percebia-se um par com o braço curto mais proeminente. Entretanto resolvemos concordar com Pereira *et al.*, (2008), no que se refere ao grau de condensação da cromatina.

O padrão de banda C revelou blocos de heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas em todos os pares de autossomos e no X. O cromossomo X também

apresentou, no braço longo, uma pequena faixa eucromática proximal ao centrômero, e o Y, é inteiramente heterocromático estando de acordo com o que relatam Pagnozzi *et al.*, (2000), e Faresin - Silva (2008). Em Carvalho *et al.*, (2002), os espécimes coletados no estado do Goiás, afirmam o que foi encontrado em nosso trabalho para *Marmosa demerarae*, porém, estes mesmos autores, estudando animais do Rio Grande do Sul, apresentaram banda C diferente do que foi encontrado, com coloração evidente apenas nos pares 1 a 4 e ausente nos outros autossomos, o sexual X, de uma fêmea mostrou bandas heteromórficas. O mesmo pôde ser visto em Svartman; Vianna-Morgante (1999), de São Paulo, que apresentou as mesmas características do anterior, no que diz respeito aos cromossomos autossomos.

As marcações no X, em exemplares do sul apresentaram-se apenas em torno do centrômero em banda C. As semelhanças dos nossos dados de banda C com os exemplares de Goiás indicam que estes, podem pertencer à mesma população originária. Sendo sua maior evidência, baseada nas marcações típicas nos sexuais (com blocos grandes e mais conspícuos em quase todo X heterocromático, exceto por uma faixa de eucromatina proximal no braço longo e o Y ser totalmente heterocromático). Características essas esperadas em indivíduos nativos da Amazônia (Nagamachi *et al.*, 2015).

A localização das regiões organizadoras de nucléolos nos exemplares de nossa amostra apresentaram marcações nos braços longos do par 5q e nos braços curtos do par 6p. Esse padrão foi concordante com o descrito por Carvalho *et al.*, (2002) do Goiás e Faresin - Silva, (2008), com *Marmosa demerarae* coletados no estado do Amazonas. Esta espécie pode apresentar a RON no par 5p, localizada na região telomérica do braço curto e no par 6q na região telomérica do braço longo (SOUSA, 2005), da Bahia. Essa diferença de inversão na localização do bandeamento, pode ser apenas uma mudança na posição dos pares 5 e 6, na hora de montar o cariógrama. Encontramos diferenças maiores nas espécies coletadas no estado do Rio Grande do Sul por Carvalho *et al.*, (2002) e Svartman; Vianna-Morgante (2003), de São Paulo, onde os bandeamentos RONS foram expostos nos braços curtos e longos do par 5 e nos braços curtos do par 6. Já os animais coletados em São Paulo, por Pereira *et al.*, (2008), exibiram em um único par (par 6p), RON nos braços curtos. Diante de algumas diferenças encontradas, podemos destacar que alguns indivíduos da espécie *Marmosa demerarae*, no bandeamento RON, de várias regiões do Brasil, marcam padrões diferentes do encontrado no Tocantins, isso acontece, provavelmente por influência de fatores externos, como os diferentes habitats, em que cada indivíduo se encontra, podendo ser antrópico ou não, além do clima que é diferente em cada região, e isso faz com que a

biologia de cada animal seja modificada, atribuindo hábitos diferentes no ambiente em que vivem, podendo acarretar em modificações cromossômicas com o passar dos anos.

As semelhanças dos nossos resultados de banda C e de RON de *M. demerarae*, com resultados de outros indivíduos do Cerrado (Carvalho *et al.*, 2002) e da região amazônica (Nagamachi *et al.*, 2015), nos leva concluir que *M. demerarae* são pertencentes a mesma entidade taxonômica. Formulando a hipótese de que a espécie “*demerarae*”, do norte do Brasil, é uma espécie diferente das ocorrentes na Mata Atlântica (Carvalho *et al.*, 2002; Paresque *et al.*, 2004).

Tabela 5. Dados citogenéticos comparativos de *Marmosa demerarae* analisado no presente estudo e os da literatura. Dados cariotípicos: 2n = número diploide; NA = número do braço autossômico; X/Y= pares sexuais; C= heterocromatina constitutiva; RON= Região Organizadora Nucleolar; p = braço curto; q = braço longo. As letras identificam a morfologia dos cromossomos sexuais: m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; a = acrocêntrico; O local, mostrou o estado em que as espécies foram encontradas e as referências mostraram o autor de cada informação dada.

2n	NA	X/Y	C	RON	Local	Referências
14	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, X, Y	5q, 6p	TO	Presente estudo
14	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, X, Y		CE, MT, BA, GO, SP	Pagnozzi <i>et al.</i> , 2000
14	20	a/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, Y	5q, 6p	AM	Faresin - Silva, 2008
14	24	a/a	1, 2, 3, 4, X	5q, 6p	GO	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
14	24	a/a	1, 2, 3, 4, X	5pq, 6p	RS	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
14	20	a/a	1, 2, 3, 4, X		SP	Svartman; Vianna-Morgante, 1999
14	20	a/a		5p, 6q	BA	Sousa, 2005
14	20	a/a		5pq, 6p	SP	Svartman; Vianna-Morgante, 2003
14	20	a/a		6p	SP	Pereira <i>et al.</i> , 2008

* Tabela de acordo com modelos de Andrade, 2009 e Faresin - Silva *et al.*, 2017.

Gracilinanus agilis Burmeister, 1854

Foram analisadas as amostras celulares de cinco indivíduos, sendo um macho (FSL 295) e quatro fêmeas (FSL 286, 289, 294 e 298), foram preparadas e analisadas 78 lâminas, totalizando 135 células encontradas, que nos permitiram obter os seguintes resultados.

A partir da coloração convencional, obteve - se o $2n=14$ e o $NA=24$, com 6 pares de cromossomos autossômicos, três pares de submetacêntricos grandes (1, 2 e 3), um par metacêntrico de tamanho médio (4) e dois pares de subtlocêntricos menores (5 e 6). O cromossomo sexual X é um submetacêntrico pequeno e menor que o par 6 (Figura 16). Os pares sexuais na figura em destaque são de animais da mesma espécie e coletados no mesmo local, que ilustra melhor a forma do X submetacêntrico, e em seguida, o par XY, apresentou a forma do menor acrocêntrico do complemento, o Y.

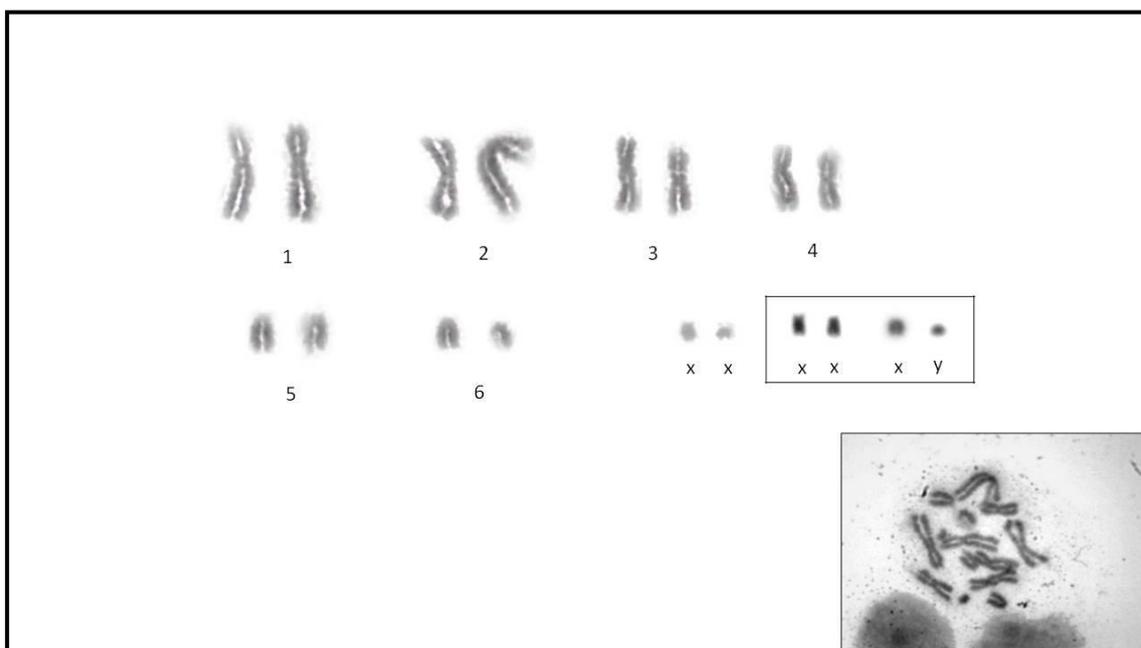


Figura 16. Cariograma de *Gracilinanus agilis* (FSL 286 - ♀) em coloração convencional. No quadro apresentou-se pares sexuais de outros indivíduos da mesma espécie (FSL 289 - ♀ e FSL 295 - ♂) e mesma localidade.

Em Análises de bandas C os padrões mostraram pequenos blocos de heterocromatina constitutiva localizadas nas regiões pericentroméricas de todos os autossomos, inclusive no X. O Y apresentou-se inteiramente heterocromático (Figura 17). O par sexual em destaque, no quadro, é da mesma espécie e da mesma localidade, ilustrando a marcação de banda C mais evidente.

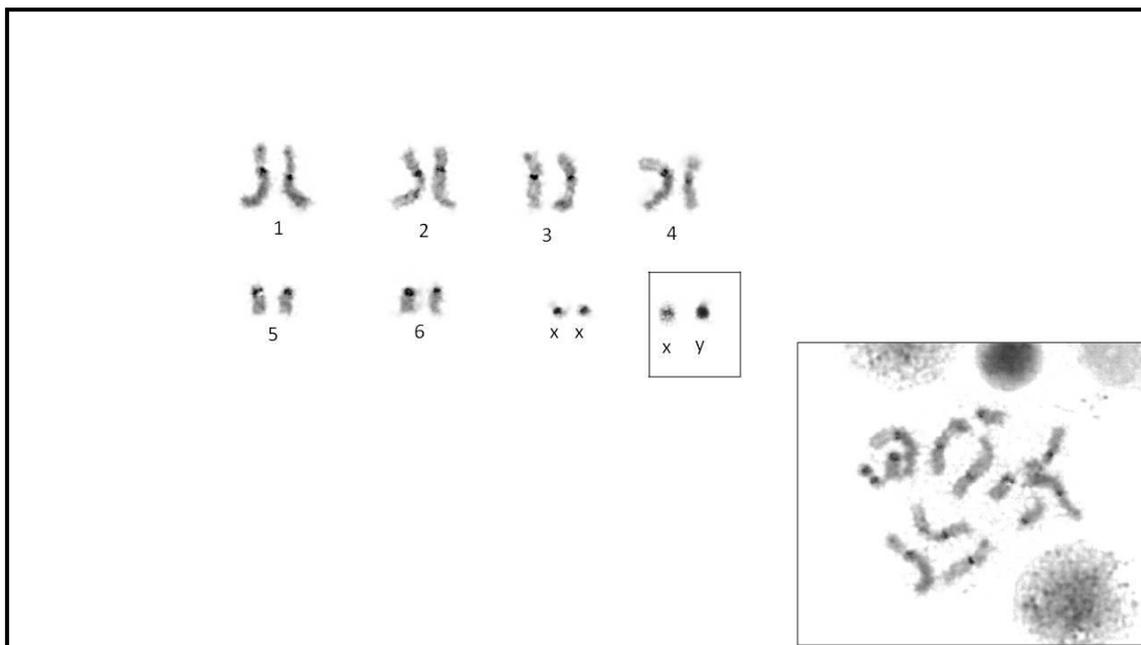


Figura 17. Cariograma de *Gracilinanus agilis* em Banda C (FSL 294 - ♀). O par sexual em destaque é de um macho da mesma espécie (FSL 295 - ♂) e local de coleta.

A análise de distribuição de RON corada em nitrato de prata revelou a marcação na região intersticial do braço curto do par 5p (Figura 18).



Figura 18. Cariograma de *Gracilinanus agilis* (FSL 298 - ♀) em Banda RON.

Em *Gracilinanus agilis* que foram analisados citogeneticamente, todos os exemplares apresentaram $2n=14$ e $NA=24$. Os dois exemplares coletados por Carvalho *et al.*, (2002) do Goiás e Minas Gerais e Geise; Astúa, (2009) de Minas Gerais também concordaram com o nosso padrão cariotípico, com exceção do cromossomo sexual X, que, segundo esses autores seria um metacêntrico. Isso, supostamente seriam interpretações divergentes da morfologia dos cromossomos sexuais.

Os padrões de bandas C, encontrados nesse estudo, corroboram com os resultados de outros autores, mostrando pequenos blocos de heterocromatina constitutiva localizados nas regiões pericentroméricas de todos os autossomos e no cromossomo X, e o cromossomo Y, inteiramente heterocromático (GARCIA *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2002), com *G. agilis* coletados no Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais. O bandeamento RON no trabalho de Sousa (2005), com exemplares provenientes do Piauí, Paraíba, Pernambuco e Tocantins, revelou que essas regiões estão presentes apenas no braço curto do par autossômico 5p, igualmente o que foi encontrado em nossas amostras com essa técnica. Já em Carvalho *et al.*, (2002) coletados nos estados do Goiás e Minas Gerais e Garcia *et al.*, (2010) do Mato Grosso, a região organizadora de nucléolos marcou nos braços curtos do par 6p. Por essas espécies possuírem um forte conservadorismo cromossômico, geralmente só apresentam um par com bandeamento RON, podendo ser no par 5 ou 6, onde foram evidenciados em todos os trabalhos que analisamos.

Tabela 6. Dados citogenéticos comparativos de *Gracilinanus agilis* analisados no presente estudo e os da literatura. Dados cariotípicos: $2n$ = número diploide; NA = número do braço autossômico; X/Y= pares sexuais; C= heterocromatina constitutiva; RON= Região Organizadora Nucleolar; p = braço curto; q = braço longo. As letras identificam a morfologia dos cromossomos sexuais: m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; a = acrocêntrico; O local, mostrou o estado em que as espécies foram encontradas e as referências mostraram o autor de cada informação dada.

2n	NA	XX/XY	C	RON	Local	Referências
14	24	sm/sm, sm/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, XX, XY	5p	TO	Presente estudo
14	24	sm/a	1, 2, 3, 4, 5, 6, X,Y	6p	MT	Garcia <i>et al.</i> , 2010
14	24	Sm/a		5p	PI, PB, PE, TO	Sousa, 2005
14	24	m/a		6p	GO, MG	Carvalho <i>et al.</i> , 2002
14	24	m/a			MG	Geise; Astúa, 2009

* Tabelas de acordo com modelos de Andrade, 2009 e Faresin - Silva *et al.*, 2017.

É importante notar que, apesar dos marsupiais didelfídeos possuírem cariótipos conservados, eles apresentaram certas diferenças ao serem analisados, não só em nível de gênero, mas também entre as diferentes espécies, como já vimos no decorrer do estudo, e também ocorrem divergências entre espécies iguais. Assim sendo, destacamos que cada indivíduo, de diferentes localidades do Brasil, possui peculiaridades cromossômicas, sejam elas, morfológicas, no padrão de coloração em seus bandeamentos, no número diploide ou na fórmula cariotípica.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cariótipos foram caracterizados para *Monodelphis* sp., com $2n=18$ e $NA=30$; *D. albiventris* e *D. marsupialis*, com $2n=22$ e $NA=20$; *Marmosa demerarae* e *Gracilinanus agilis* com $2n=14$ e $NA=20$ e 24 , respectivamente. Técnicas de bandeamentos C e RON foram aplicadas em todas as espécies e esses dados foram analisados em conjunto com dados de morfologia externa e de distribuição geográfica.

Monodelphis sp. teve mais relação com *M. glirina* e *M. domestica*, sendo o primeiro caso estaremos registrando pela primeira vez para o lado esquerdo do Rio Tocantins, sendo o segundo, *M. domestica*, este cariótipo é registrado pela primeira vez, para o município de Aparecida do Rio Negro, Tocantins.

D. albiventris e *D. marsupialis* apresentaram grande similaridade cariotípica, como é esperado no gênero. Aqui percebemos diferenças em relação ao tamanho dos primeiros três pares com os demais e o tamanho do cromossomo Y, que sempre se apresentava muito pequeno ou puntiforme, entre as duas espécies estudadas. *M. demerarae* apresentou maior semelhança nos padrões de bandas C (nos sexuais) e RON (autossômicos) com os exemplares de Goiás, indicando que o exemplar pode pertencer à mesma população originária, com características típicas de indivíduos nativos da Amazônia. Os padrões de bandeamentos C e RON em *G. agilis* são similares aos de espécies coletadas no Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, Piauí, Paraíba, Pernambuco e Tocantins. Tendo, em relação ao nordeste, maior semelhança quanto à localização da RON.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, R. A. Citogenética de marsupiais dos gêneros *Marmosops* e *Monodelphis* (Didelphidae) de cinco localidades na Amazônia. INPA/UFMA, Manaus, 2009.

BAKER, R. J., HAIDUK, M. W., ROBBINS, L. W., CANDENA, A., KOOP, B. F. Chromosomal studies of American bats and their systematic implications. In *Mammalian Biology in South America. Genoways. Special Publications Series*, Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburg, p. 303-327, 1982.

BONVICINO, C. Diversidade cariotípica em roedores da tribo Phyllotini (Cricetidae: Sigmodontinae) com enfoque nas espécies com ocorrência no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, n. 65, p. 11-18, 2012.

BONVICINO, C., LIMA, J. F. S., ALMEIDA, F. C. A new species of *Calomys* Waterhouse (Sigmodontinae, Rodentia) from cerrado of Central Brazil. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 2, p. 301-307, 2003.

BURGIN, C. J, COLELLA, J. P., KAHN, P. L., UPHAM, N. S. How many species of mammals are there? **Journal of Mammalogy**, v. 99, n. 1, p. 1–14, 2018.

CARTELLE, C. Das grutas à luz: os mamíferos pleistocênicos de Minas Gerais. **Bicho do Mato**, p.236, Belo Horizonte, 2012.

CASARTELLI, C., ROGATTO, S. R., FERRARI, I. Cytogenetic analysis of Brazilian marsupials (Didelphidae: Marsupialia). **Canadian Journal of Genetics and Cytology**. Universidade de São Paulo, p.21-29, Ribeirão Preto, 1986.

CARMIGNOTTO, A. P. Pequenos mamíferos terrestres do bioma Cerrado: padrões faunísticos locais e regionais. Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CÁCERES, N. C., MONTEIRO, F., EMYGDIO, L. A. Os Marsupiais do Brasil. *Biologia, Ecologia e Evolução*. 1ª edição. **Editora da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**, v.1, p. 366, Campo Grande, 2006.

CARVALHO, B. A., OLIVEIRA, L. F., NUNES, A. P., MATTEVI, M. S. Karyotypes of nineteen marsupial species from Brazil. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 1, p. 58-70, 2002.

CIFELLI, R. L., DAVIS, B. M. Marsupial origins. **Science**, v. 302, 2003.

COUTINHO, M. M. O Cerrado: Ecologia do Fogo. Departamento de Ecologia Geral, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 132-138, 1992.

CHARLES, D. P., ATRAMENTOWICZ, M., CHARLES, D. M., GERARD, H., HLADIK, A., HLADIK, C. M., PREVOST, M. F. Les Mammifères Frugivores arboricoles Nocturnes D' une Forêt Guyanaise: Inter – Relations Plantes – Animaux. *Revue d'Ecologie Terre et La Vie*, v. 35, n. 1, p.341-345, 1981.

EMMONS, L. H., FEER, F. Neotropical Rainforest Mammals. The University of Chicago Press. Chicago, 1997.

FARESIN-SILVA, C. E. Citogenética de cinco espécies de pequenos mamíferos não voadores de três localidades na Amazônia Central. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, p.67, Manaus, 2008.

FARESIN-SILVA, C. E., ANDRADE, R. A., SOUZA, E. M. S., ELER, E. S., SILVA, M. N. F., FELDBERG, E. Comparative cytogenetics of some marsupial species (Didelphimorphia, Didelphidae) from the Amazon basin. **Comparative Cytogenetics**, p.703-725, Manaus, 2017.

FAGUNDES, V., CHRISTOFF, A. U., SBALQUEIRO, I. J., MATTEVI, M. S., YONENAGA-YASSUDA, Y. Description of a New Species of *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) from Southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, v.81, p.838-851, 2000.

FILHO, N. M. G., FEIJÓ, A., LANGGUTH, A. Pequenos mamíferos do Ceará (Marsupiais, morcegos e roedores sigmodontíneos) com discussão taxonômica de algumas espécies. **Revista Nordestina de Biologia**, João Pessoa, 2015.

GARCIA, J. P., OLIVEIRA, J. A., CORRÊA, M. O. M., PESSÔA, L. M. Morphometric and cytogenetics of *Gracilinanus agilis* and *Cryptonanus* spp. (Didelphimorphia: Didelphidae) from Central and Northeastern Brazil. **Mastozoologia Neotropical**, p.53–60, Rio de Janeiro, 2010.

GARDNER, A. L., CREIGHTON, G. K. Genus *Marmosa* Lesson, 1842. In: GARDNER, A.L. (Ed.). **Mammals of South America**, 2. ed. University of Chicago Press, Chicago, p. 74-82, 2008.

GARDNER, A. L. **Mammals of South America**. v. 1. Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats. University of Chicago Press, Chicago, 2008.

GRAVES, J. A. M., WATSON, J. M. Mammalian sex chromosomes: evolution of organization and function. **Cromosoma**, p. 63-68, 1991.

GEISE, L., ASTÚA, D. Extensão da distribuição e ocorrência em simpatria de *Gracilinanus agilis* e *G. microtarsus* (Didelphimorphia, Didelphidae) com notas citogenéticas. **Biota Neotropica**, v.09, n.04, p.269–276, 2009.

GUTIÉRREZ, E. E., JANSA, A. S., VOSS, R. S. Molecular systematics of mouse opossums (Didelphidae: *Marmosa*): assessing species limits using mitochondrial DNA sequences, with comments on phylogenetic relationships and biogeography. **American Museum Novitates**, p. 1–22, 2010.

GUERRA, M. S. Introdução à Citogenética Geral. Laboratório de Genética, Universidade Federal do Pernambuco. **Editores Guanabara**, 1988.

HOWELL, W. M., BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

HSU, T. C., SPIRITO, S. E., PARDUE, M. L. Distribution of 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. **Chromosoma**, p.25–36, Massachusetts, 1975.

KASAHARA, S. Introdução à Pesquisa em Citogenética de Vertebrados. 1ª edição. **Sociedade Brasileira de Genética**, p.160 Ribeirão Preto, 2009.

KLINK, C. A., MACHADO, R. A. Conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v.1, n.1, p.147-145, 2005.

LANGGUTH, A., LIMA, J. F. S. The karyotype of *Monodelphis americana* (Marsupialia—Didelphidae). **Revista Nordestina de Biologia**, p.1-5, João Pessoa, 1988.

LIMA, J. F. S. Cariótipos e regiões organizadoras de nucléolos (RON) de *Didelphis e Marmosa* (Didelphidae) do Estado do Tocantins, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, v. 18, n. 2, p. 87-93, Botucatu, 2004.

LIMA, J. F. S., HIDASI, J., VEIGA, N. Estudo da Diversidade de Mamíferos de Médio a Grande Porte da Região do Jalapão, Tocantins, Brasil. Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências Naturais**, v. 1, n. 2, p. 233- 240, Belém, 2005.

LIMA, J. F. S., BONVICINO, C. R., KASAHARA, S. A new karyotype of *Oligoryzomys* (Sigmodontinae, Rodentia) from central Brazil. **Hereditas**, v. 139, p. 1-6, 2003.

MARTINS, E. G., BONATO, V. On the diet of *Gracilinanus microtarsus* (Marsupialia, Didelphidae) in an Atlantic Rainforest fragment in southeastern Brazil. **Mammalian Biology**, p. 58-60, 2004.

MELO, G. L., SPONCHIADO, J. Distribuição Geográfica dos Marsupiais no Brasil. In: CÁCERES, N. C. Os marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Conservação. 2ª Ed. UFMS, p. 345-362, Campo Grande, 2012.

NAGAMACHI, C. Y., FELDBERG, E., PIECZARKA, J. C., PEREIRA, A. L., FARESIN-SILVA, C.E., ROSA, C. C., SOUZA, E. M. S., PINTO, J. A., COSTA, M. J. R., MALCHER, S. M., PAIXÃO, V. S., SILVA, W. O. Citogenética de Pequenos Mamíferos Não-Voadores da Amazônia Brasileira, p.34, 2015.

NASCIMENTO, I. V. Cerrado: o fogo como agente ecológico. **Territorium**, v. 8, 2011.

NOWAK, R. M. Order Marsupialia. In: **Journal of Mammalogy**. Walker's mammals of the world. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p.10-113, 1991.

PAVAN, S. E. A revision of the *Monodelphis glirina* group (Didelphidae: Marmosini), with a description of a new species from Roraima, Brazil. **Journal of Mammalogy**, p.1-15, 2019.

PAVAN, S. E., ROSSI, R. V., SCHNEIDER, H. Species diversity in the *Monodelphis brevicaudata* complex (Didelphimorphia: Didelphidae) inferred from molecular and morphological data, with the description of a new species. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 165, p. 190–223, 2012.

PAGLIA, A. P., FONSECA, G. A. B., RYLANDS, A. B., HERRMANN, G., AGUIAR, L. M. S., CHIARELLO, A. G., LEITE, Y. L. R., COSTA, L. P., SICILIANO, S., KIERULFF, M. C. M., MENDES, S. L., TAVARES, V. C., MITTERMEIER, R. A., PATTON, J. L. Lista anotada dos Mamíferos do Brasil: 2ª edição. Occasional Papers in Conservation Biology, Arlington, n. 6, p. 1-76, 2012.

PARESQUE, R., SOUZA, W. P., MENDES, S. L., FAGUNDES, V. Composição cariotípica da fauna de roedores e marsupiais de duas áreas de Mata Atlântica do Espírito Santo, Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, p.5-33, 2004.

PASSAMANI, R. Análise da comunidade de marsupiais em Mata Atlântica de Santa Teresa, Espírito Santo. Museu de Biologia, Santa Teresa, p. 216, 2000.

PATTON, J. L., SILVA, M. N. F., MALCOLM, J. R. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 244, p.1-306, 2000.

PAGNOZZI, J. M., DITCHFIELD, A. D., YONENAGA-YASSUDA, Y. Mapping the distribution of the interstitial telomeric (TTAGGG)_n sequences in eight species of Brazilian marsupials (Didelphidae) by FISH and the correlation with constitutive heterochromatin. Do ITS represent evidence for fusion events in American marsupials? **Cytogenetic and Genome Research**, p. 278-284, 2002.

PALMA, R. E., YATES, T. L. The chromosomes of bolivian Didelphid marsupials. Pappers Museum Texas Tech University, p. 1–20, 1996.

PEREIRA, L. G., GEISE, L. Karyotype composition of some rodents and marsupials from Chapada Diamantina (Bahia, Brasil). **Brazilian Journal of Biology**, p. 509-518, 2007.

PEREIRA, N. P., VENTURA, K., JÚNIOR, M. C. S., SILVA, D. M. S., YONENAGA-YASSUDA, Y., PELLEGRINO, K. C.M. Karyotype characterization and nucleolar organizer regions of marsupial species (Didelphidae) from areas of Cerrado and Atlantic Forest in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, p.887-892, 2008.

PINE, R. H., HANDLEY, C. O. Genus *Monodelphis*. In: GARDNER, A. L., Ed. **Mammals of South America**, Chicago, Illinois: University of Chicago Press, 2007.

PRIMACK, R. B., RODRIGUES, R. Biologia da Conservação. Universidade Estadual de Londrina. **Editores Plantas**, 2005.

POUGH, F. H., JANIS, C. M., HEISER, J. B. A Vida dos Vertebrados. 4ª edição. **Atheneu Editora**, São Paulo, 2008.

RAMBALDI, D. M., OLIVEIRA, D. A. S. Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. MMA/SBF, p.510, Brasília, 2003.

REIS, N. R., PERACCHI, A. L., PEDRO, W. A., LIMA, I. P. Mamíferos do Brasil. p. 437, Londrina, 2011.

REIS, N. R., PERACCHI, A. L., PEDRO, W. A., LIMA, I. P. Mamíferos do Brasil. p. 439, Londrina, 2006.

RIBEIRO, J.F., WALTER, B.M.T. As Principais Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S.M., ALMEIDA, S.P., RIBEIRO, J.F. (Eds.). **Cerrado: ecologia e flora**, v.1. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 153-212, 2008.

ROSSI, R. V., BIANCONI, G. V., PEDRO, W. A. Ordem Didelphimorphia. In: REIS, N. R., PERACCHI, A. L., PEDRO, W. A., LIMA, I. P. (Eds.). **Mamíferos do Brasil**, p. 27-66, Londrina, 2006.

SARANHOLI, B. R., FONSECA, R. C. B., LIMA, J. F. S. Karyologic Survey of Not Flying Small Mammals from Tocantins, Brazil. **Estudos de Biologia**, p. 91-7, 2008.

SEPLAN – Secretaria do Planejamento e da Modernização da Gestão Pública. **Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da gestão territorial**, 6 ed. Palmas: SEPLAN, p. 80 , 2012.

SILVA, J., ROSSI, R. V. Gambá. Disponível em: WWW.editorasaraiva.com.br. Acesso em: 14 de Fevereiro de 2019.

SOLARI, S. New species of *Monodelphis* (Didelphimorphia: Didelphidae) from Peru, with notes on *M. adusta* (Thomas, 1897). **Journal of Mammalogy**. Departament of Biological Sciences, Texas Tech University, Lubbock, USA, v.88, n. 02, 2007.

SOUZA, M. J., MAIA, V., SANTOS, J. F. Nucleolar organizer regions, G- and C-band in some Brazilian species of Didelphidae. **Revista Brasileira de Genética**, v. 13, p. 767-775, 1990.

SOUZA, M. A. N., Pequenos mamíferos (Didelphimorphia, Didelphidae e Rodentia, Sigmodontinae) de algumas áreas da Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Brejo de Altitude do Brasil: Considerações citogenéticas e geográficas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SUMNER, A. T. Chromosome banding. **Unwin Hyman**, p. 433. London, 1990.

SVARTMAN, M., VIANNA-MORGANTE, A. M. Comparative genome analysis in American marsupials: chromosome banding and in-situ hybridization. **Chromosome Research**, v. 7, p. 267-275, São Paulo, 1999.

SVARTMAN, M., VIANNA-MORGANTE, A. M. Conservation of chromosomal location of nucleolus organizer in American marsupials (Didelphidae). **Genética**, p. 11-16, São Paulo, 2003.

SVARTMAN, M. American marsupial chromosomes: Why study them? **Genetics and Molecular Biology**. Departamento de Biologia Geral, UFMG. p.675-687, Belo Horizonte, 2009.

TESTONI, A. F., Análise Citogenética de *Rodentia* e *Didelphimorphia* no Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia, Blumenau-SC (Parque Nacional da Serra do Itajaí), Blumenau, 2006.

TOLLEFSON, J. Deforestation ticks up in Brazil's savannah: The Cerrado is the most threatened biome in Brazil, environmentalists proclaim. **Nature International journal of science**, 2018. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/d41586-01805695-9> > Acessado em 23 set. 2018.

YONENAGA, Y. Y. Perspectivas em Citogenética de Mamíferos Brasileiros. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 6, p. 431-433, 1977.

YONENAGA, Y. Y., KASAHARA, S., SOUZA, M. J., L'ABBATE, M. Constitutive heterochromatin, G- bands and nucleolus- organizer regions in four of Didelphidae (Marsupialia), **Genética**, p.71-77, 1982.

VERGARA, T. M., QUINTELA, F. M., SANTOS, M. B., GAVA, A., BORN, G. G. Análise citogenética de dois marsupiais (Didelphimorphia) da Região Sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Fundação Universidade do Grande do Sul, 2010.

VOSS, R. S., JANSA, S. Phylogenetic relationship and classification of didelphid marsupials, an extant radiation of new world metatherian mammals. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, p. 1-177, 2009.