Cristiani Gifalli Iughetti

**Evolução Cromossômica: Estudo da Variabilidade
Cariotípica em *Platyrrhini* e das Homeologias e
Sinténias com Cromossomos Humanos**

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de
Doutor em Biologia/Genética**

**São Paulo
2008**

Cristiani Gifalli Iughetti

**Evolução Cromossômica: Estudo da Variabilidade
Cariotípica em *Platyrrhini* e das Homeologias e
Sinténias com Cromossomos Humanos**

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de
Doutor em Biologia/Genética**

Orientadora: Dra. Célia P. Koiffmann

**São Paulo
2008**

Gifalli-Iughetti, Cristiani
Evolução Cromossômica: Estudo da Variabilidade
Cariotípica em *Platyrrhini* e das Homeologias e Sintenias
com Cromossomos Humanos
273 pág.

Tese de Doutorado - Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo.
Departamento de Genética e Biologia Evolutiva

- 1 - Citogenética de primatas não-humanos
- 2 - Variabilidade cromossômica
- 3 - Homeologias com os cromossomos 14, 15 e X humanos
- 4 - Cromossomo Y em *Atelinae*
- 5 - Evolução cromossômica
- 6 - *Platyrrhini*, Primates

Comissão Julgadora

Orientador

DEDICATÓRIA

Algumas pessoas marcam a nossa vida para sempre, porque nos ajudam na construção, nos apresentam projetos de sonhos e nos desafiam a construí-los. Quando nos damos conta, já é tarde para lhes agradecer e é por isso que eu dedico esse trabalho aos meus pais, pois sem eles eu nada seria, e ao meu marido.

Dudu, não sei se foi a chuva, o vento, a lua ou o sol ou outro segredo do universo que colocou você no meu caminho, fazendo do presente o melhor dos sonhos do passado, e do futuro um amor eterno e sagrado...

A vocês, o meu eterno agradecimento.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Célia P. Koiffmann, por ter confiado a mim esse projeto e por todos os ensinamentos, estímulo, apoio, credibilidade e amizade pessoal.

Aos veterinários Dr. José Daniel Fedullo e Dr. Marcelo Guimarães e à bióloga Kátia Cassaro da Fundação Parque Zoológico de São Paulo; aos veterinários Dr. Rodrigo Teixeira e Dr. Adauto Nunes e à bióloga Cecília Pessutti do Zoológico Municipal Quinzinho de Barros; ao colega Paulo Auricchio pelo exemplar de *Callicebus* do Zôo Parque de Itatiba e de *Cacajao* do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro; à veterinária Dra. Renata G. Vieira do CEMAS; à colega Patrícia Beloto Bertola pelos espécimes de *Callithrix* da Barragem Paraitinga; às biólogas Valéria do Socorro Pereira e Dália Rizel Nogueira da Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte; ao veterinário Dr. Júlio César Souza Jr. e à bióloga Zelinda Maria Braga Hirano do Projeto Bugio; e à bióloga Ana Cláudia de Abreu Sorg do Zoológico Municipal de Limeira. Agradeço a todos pelas amostras cedidas para o desenvolvimento desse projeto.

Ao biólogo Carlos Yamashita do IBAMA, ao Dr. Daniel Antônio Salati Marcondes (Diretor de Meio Ambiente da CESP, 1998) e ao veterinário Dr. Sílvio Marsaru Ichihara (CESP) por terem propiciado o estudo de bugio de Porto Primavera, por ocasião da captura e posterior realocação de *Alouatta caraya*.

Às veterinárias Dra. Maria Eugênia Laurito Summa e Dra. Adriana Silva, às biólogas Anelisa Ferreira de Almeida Magalhães e Brígida Fries e à Wilma Clarice Geraldi (Diretora de Divisão), do DEPAVE-3, pela oportunidade de aprendizado, pelas ricas amostras e pelo lindo exemplar do livro "Fauna Silvestre: quem são e onde vivem os animais na metrópole

paulistana" da Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente da Prefeitura do Município de São Paulo.

Às amigas de laboratório Carla, Ilana, Cláudia, Mariana "Mini", Monica, Estela, Luceleni, Rose, Maria e as que já não estão mais conosco (Cláudia Fagali, Mariana, Carol e outros que por lá passaram) pela amizade e apoio e pelos momentos de aprendizagem e de brincadeira durante tanto tempo de convívio e por terem sempre me ajudado de alguma forma durante esses anos.

Aos grandes e verdadeiros amigos Nathália e Fred pelo precioso, árduo e feliz período em que trabalhamos intensamente juntos para o desenvolvimento da técnica de microdissecção cromossômica e aos demais alunos, funcionários e professores dos Laboratórios de Genética Humana (Profa. Dra. Angela Maria Vianna Morgante), Ictiogenética (Profa. Dra. Lurdes Foresti de Almeida Toledo) e Biologia Molecular de Dípetros (Prof. Dr. Eduardo Gorab) por permitir a nossa "invasão" consensual inúmeras vezes durante o desenvolvimento deste protocolo.

A todos os amigos e funcionários do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, especialmente a Profa. Dra. Anita Wajntal, Profa. Dra. Cristina Miyaki, Toninha, Tânia, Fábio, Neide, Elenice, Deisy e Luzia, pelo carinho, amizade e momentos de conversa descontraída, mesmo que poucos.

Ao meu amigo Dr. Eugene Harris pelas ótimas conversas, "importações", artigos em PDF, discussões e parcerias de trabalho.

Às minhas eternas amigas Patrícia, Luciana, Nádia e Carla por todos os momentos em que estivemos juntas e por saber que, mesmo não estando sempre tão perto, o amor será o mesmo. Agradeço pela força, por acreditarem em mim, pelo ombro amigo, pelo choro aflito e pelo sorriso querido. Sei que sempre estaremos juntas.

Aos meus amados, irmão, sogro, sogra, cunhadas e cunhados por serem muito especiais e fazerem parte da minha vida, por dizerem algumas vezes o que eu realmente precisava ouvir e pela imensa compreensão durante as difíceis fases desse trabalho.

Às minhas "vózinhas" pelos exemplos de lutas e vitórias a serem seguidos, pelo infinito amor, agradável companhia e deliciosa comida.

A todos os meus sobrinhos, verdadeiros e postigos, Carolina, Cauê, Caio, Maria Fernanda, Maria Júlia, Gabriela, Giullia, Giulia, Manoela, Clara, Henrique e a futura Luísa por me fazerem entender o verdadeiro sentido da vida e pela imensa alegria de tê-los ao meu lado. Amo vocês.

A todos os tios e tias, primos e primas que tornam a nossa família tão especial e abençoada. Em especial, a "Gifallaiada" (originais e agregados) pelos prazerosos e hilariantes encontros familiares e pela sincera amizade sempre presente e ajuda a todo e qualquer momento.

À FAPESP pelo auxílio financeiro (bolsa de Doutorado e Reserva Técnica), sem o qual esse trabalho não seria possível.

A todos os que, diretamente ou indiretamente, me ajudaram e estiveram ao meu lado durante o tempo de desenvolvimento desse projeto.

A Deus, pelo dom da existência e por todos os que me cercaram de cuidado, amor e carinho no correr desses anos. A Ele, toda a gratidão pelo suporte que recebi em todos os momentos, tranquilos ou difíceis.

INTRODUÇÃO

**ORIGEM, DISTRIBUIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E
FILOGENIA**

Frönicke (2005) postulou que os primatas divergiram de outras ordens de mamíferos placentários por volta de 78 milhões de anos atrás, o que coincide com a maior reorganização da fauna terrestre e com a divergência, diversificação e radiação dos mamíferos (Klonisch *et al.*, 2001). Porém, existe um consenso crescente que aponta a provável origem dos primatas entre 85 a 90 milhões de anos atrás, no mínimo (Miller *et al.*, 2005).

A infra-ordem *Platyrrhini* (primatas neotropicais ou macacos do Novo Mundo) representa o *taxon* com o maior número de espécies entre os primatas. Sugestões recentes propõem 110 espécies e 95 subespécies, o que significa quase a metade das espécies da ordem Primates (Rylands *et al.*, 2000). Este grupo apresenta um grande espectro de modificações morfológicas e comportamentais o que às vezes dificulta a determinação das características morfológicas homólogas (Fleagle, 1988) e é considerado irmão da infra-ordem *Catarrhini*, que une macacos do Velho Mundo, Grandes Macacos e Humanos (Nowak, 1999). Dados moleculares apontam que a data para a origem da divergência *Platyrrhini/Catarrhini* estaria entre 35 a 50 milhões de anos atrás (Goodman *et al.*, 1998; Dumas *et al.*, 2005; Seuánez *et al.*, 2005; Steiper e Young, 2006) e a análise de fósseis sugere que a maioria das linhagens já se encontrava diferenciada desde o Mioceno (Fleagle, 1988). Ainda não se entende como os macacos do Novo Mundo colonizaram a América do Sul. Está claro que a sua origem é africana, mas o período de ligação da África e América do Sul data de aproximadamente 90 milhões de anos atrás, e quando esses primatas apareceram na América do Sul os dois continentes já estavam separados (Graphodatsky, 2007).

Atualmente os primatas neotropicais estão distribuídos em uma vasta região do Novo Mundo, se estendendo do México ao norte da Argentina (Fleagle, 1988; Goodman *et al.*, 1998; Seuánez *et al.*, 2005; Steiper e Young,

2006). Desde então a radiação filética desta infra-ordem explica, morfológica e cariotipicamente, a ampla diversidade das diferentes *taxa* (Dumas *et al.*, 2005; Seuánez *et al.*, 2005). Um melhor entendimento do processo evolutivo destes primatas requer dados obtidos pela morfologia tradicional, biogeografia e citogenética em associação a estudos moleculares (Seuánez *et al.*, 2005).

A filogenia dos *Platyrrhini* tem sido repetidamente investigada e a origem monofilética é a hipótese mais aceita (Rosenberger, 1981; Rosenberger, 1984; Hink e Lalley, 1985; Dutrillaux *et al.*, 1986; Ford, 1986; Fleagle, 1988; Kay, 1990; Rosenberger *et al.*, 1990; Schneider *et al.*, 1993; Harada *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1997; Goodman *et al.*, 1998; Horovitz *et al.*, 1998; Stanyon *et al.*, 2000; De Oliveira, 2001; Schneider *et al.*, 2001; Singer *et al.*, 2003; Schneider *et al.*, 2004; Ray *et al.*, 2005; Seuánez *et al.*, 2005; Wienberg, 2005; Dumas *et al.*, 2007), apesar de não existir um consenso nas relações filogenéticas entre os 16 gêneros (Goodman *et al.*, 1998; Schneider *et al.*, 2004) cujos representantes são encontrados na diversificada fauna do Brasil (Sampaio e Schneider, 1986). Como estudos comparativos de morfologia, biogeografia, seqüências de DNA nuclear e mitocondrial e citogenética produzem diferentes filogenias (Horovitz *et al.*, 1998), como observado na Figura 1, trabalhos mais detalhados serão necessários para que uma conclusão final seja alcançada (De Oliveira *et al.*, 2002). Se um conjunto de dados diferentes compartilha uma história comum, devem mostrar o mesmo padrão filogenético. Assim, o uso de diferentes fontes de caracteres pode proporcionar informações valiosas para a elucidação das relações filogenéticas (Nieves *et al.*, 2005).

Figura 1: Filogenias modificadas dos gêneros de macacos do Novo Mundo. a) Rosenberger *et al.* (1984), b) Ford (1986), c) Schneider *et al.* (2001) e d) Ray *et al.* (2005). Revisão em Dumas *et al.* (2007).

Embora a variabilidade cromossômica intra e interespecífica e intrapopulacional sugira uma revisão da taxonomia (Gifalli, 2003) e o número de espécies possa estar subestimado, com espécies não reconhecidas ou até não descobertas (Ma *et al.*, 1975; Stanyon *et al.*, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; Mudry *et al.*, 2001; Hartwig, 2005; Wienberg, 2005; Dumas *et al.*, 2007), os macacos do Novo Mundo estão atualmente agrupados em três famílias: *Atelidae* (gêneros *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix* e *Brachyteles*), *Cebidae* (gêneros *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Callithrix*, *Cebuella*, *Cebus*, *Saimiri* e *Aotus*) e *Pitheciidae* (gêneros *Pithecia*, *Cacajao*, *Chiropotes* e *Callicebus*) (Rosenberger, 1981; Ford, 1986; Kay, 1990; Schneider *et al.*, 1993; Harada *et al.*, 1995; Barroso *et al.*, 1997; Goodman *et al.*, 1998; Horovitz *et al.*, 1998; Canavez *et al.*, 1999b; Meireles *et al.*, 1999b; Neusser *et al.*, 2001; Schneider *et al.*, 2001; Steiper e Ruvolo, 2003; Ray *et al.*, 2005; Seuánez *et al.*, 2005); porém, para alguns (Singer *et al.*, 2003; Stanyon *et al.*, 2003b), a posição de *Callicebus* permanece incerta.

A pequena distância cromossômica que separa essas famílias sustenta a hipótese da origem monofilética desses primatas (Stanyon *et al.*, 2000; De Oliveira, 2001), mas não existe um consenso de como esses três grupos estão relacionados uns com os outros (Rosenberger, 1981; Ford, 1986; Kay,

1990; Schneider *et al.*, 1993; Harada *et al.*, 1995; Horovitz *et al.*, 1998; Schneider *et al.*, 2001; Steiper e Ruvolo, 2003; Ray *et al.*, 2005; Dumas *et al.*, 2007).

As relações filogenéticas na família *Atelidae* não estão claramente estabelecidas. Os estudos morfológicos apresentaram resultados contraditórios: Ford (1986) colocou *Brachyteles*, *Lagothrix* e *Ateles* em uma tricotomia não resolvida; Rosenberger (1981, 1984) e Rosenberger *et al.* (1990) arranjaram o ramo em *Brachyteles* e *Ateles* formando um clado [agrupamento monofilético (Barroso *et al.* 1997)], seguido por *Lagothrix* e então *Alouatta*; e Kay (1990) separou essa família em dois clados irmãos, um agrupando *Alouatta* e *Brachyteles* e o outro reunindo *Lagothrix* e *Ateles*. Dutrillaux *et al.* (1986), inferindo os rearranjos cromossômicos, relatou que *Brachyteles*, *Lagothrix* e *Ateles* formam um ramo evolutivo separado e distinto, do qual *Lagothrix* é mais relacionado à *Ateles* do que à *Brachyteles*. Já, os resultados de Schneider *et al.* (1993), Meireles *et al.* (1999b) e Schneider *et al.* (2001) baseados em seqüências de DNA foram mais homogêneos e agruparam *Brachyteles* com *Lagothrix* (Hartwig, 2005) em um clado, seguido por *Ateles* e depois *Alouatta*; e as reconstruções moleculares obtidas por Nieves *et al.* (2005) mostraram uma relação filogenética próxima entre *Ateles*, *Lagothrix* e *Brachyteles*, enquanto *Alouatta* é colocado como basal dentro dos *Atelidae*, concordando com os dados obtidos por Ruíz-García e Alvarez (2003).

Gerbault-Serreau *et al.* (2004) confirmaram a monofilia de *Callitrichinae*, que forma um grupo monofilético com cinco gêneros (*Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Callithrix* e *Cebuella*) (Singer *et al.*, 2003; Stanyon *et al.*, 2003b), apesar das relações filogenéticas desta subfamília ainda ser tema de debates (Schneider *et al.*, 2001; Sena *et al.*, 2002; Singer *et al.*, 2003). Os dados de Canavez *et al.* (1999b) resultaram

em uma topologia com *Saguinus* aparecendo como o gênero mais basal seguido por *Leontopithecus*, enquanto *Callimico* apareceu como o ramo irmão do clado formado por *Callithrix* e *Cebuella* (Kay, 1990; Nagamachi *et al.*, 1999a; Mundy e Kelly, 2001; Singer *et al.*, 2003; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004). Canavez *et al.* (1996), Horovitz *et al.* (1998) e Neusser *et al.* (2001) encontraram resultados semelhantes que indicavam *Callimico* como uma linhagem derivada, porém contradizem outras análises que mostravam *Callimico* como a linhagem mais basal (Rosenberger, 1984; Ford, 1986; Kay, 1990; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004) e *Saguinus* como o *taxon* mais derivado (Hershkovitz, 1977). Os tamarins (*Saguinus* e *Leontopithecus*) claramente são mais basais que os marmosets (*Callithrix*, *Cebuella* e *Callimico*) (Ford, 1986; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004).

Algumas análises citogenéticas (Stanyon *et al.*, 2000) e de filogenias (Neusser *et al.*, 2001) coincidem em colocar *Saimiri* como um ramo irmão das linhagens que levam ao clado dos *Callitrichinae*, e que divergiu por cinco fusões e uma fissão, indicando que *Saimiri* é mais proximamente relacionado aos *Callitrichinae* do que *Cebus*, um resultado não evidente nos resultados moleculares.

A distância estimada entre *Callithrix* e *Cebuella* é mais semelhante à encontrada entre espécies congêneras do que entre dois gêneros. *Callithrix* aparece como um gênero parafilético porque o grupo amazônico, *argentata*, está mais associado com *Cebuella pygmaea* do que com as espécies de *Callithrix* do grupo *jacchus*. Resultados apontando uma proximidade entre estes dois gêneros sugeriram a inclusão de *Cebuella pygmaea* (monoespecífica) no gênero *Callithrix*, como *Callithrix pygmaea* (Rosenberger, 1981; Groves, 1993; Canavez *et al.*, 1996; Barroso *et al.*, 1997; Porter *et al.*, 1997; Nagamachi *et al.*, 1999a). O estudo de um híbrido de uma fêmea de *Callithrix jacchus* (2n = 46) com um macho de *Cebuella*

pygmaea ($2n = 44$), com um número diplóide de 45 cromossomos, deu suporte adicional à inclusão de *Cebuella* dentro do gênero *Callithrix* (Neusser *et al.*, 2005).

As reconstruções filogenéticas baseadas em dados moleculares mostram um clado bem estabelecido para *Pitheciidae*, tendo *Callicebus* como a linhagem mais basal (Schneider *et al.*, 2001). Enquanto estes estudos associam *Callicebus* com *Pithecia*, *Cacajao* e *Chiropotes*, nos resultados baseados em cariólogia comparada é impossível ligar *Callicebus* com qualquer outro gênero de *Platyrrhini* (Seuánez *et al.*, 2005). O clado (*Pithecia* (*Cacajao*, *Chiropotes*)) está bem estabelecido pelos estudos morfológicos (Rosenberger, 1981; Ford, 1986; Kay, 1990) e moleculares (Alves *et al.*, 1998; Horovitz *et al.*, 1998; Schneider *et al.*, 2001; Bonvicino *et al.*, 2003).

ESTUDOS CROMOSSÔMICOS

As comparações cariotípicas foram desenvolvidas há décadas para investigar e identificar espécies relacionadas e progressivamente mais distantes (Dutrillaux e Couturier, 1983; Medeiros *et al.*, 1997; O'Brien e Stanyon, 1999; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). As análises cromossômicas em primatas começaram com a descrição de cromossomos metafásicos uniformemente corados (Yunis e Prakash, 1982; Müller e Wienberg, 2001; Müller *et al.*, 2001; Wienberg, 2005). As técnicas de bandamento, usadas como base para o estudo das filogenias de primatas (Dutrillaux, 1979b; Dutrillaux e Couturier, 1981; Clemente *et al.*, 1990; Medeiros *et al.*, 1997), surgiram na década de 70 (Seabright, 1971) e permitiram uma noção mais detalhada do que formou o genoma humano durante os milhões de anos de evolução dos primatas (Dutrillaux e Couturier, 1983; O'Brien e Stanyon, 1999; Wienberg, 2005). Ficou claro que humanos e grandes macacos diferiam pouco na morfologia dos cromossomos, sendo que vários mostravam os mesmos padrões de bandamento. Mesmo fora da ordem Primates, em outros mamíferos, foi observado que o bandamento era muito semelhante ao humano (Wienberg, 2005).

Embora muitos mapas comparativos baseados em bandamento fossem confirmados pelo mapeamento genômico, dúvidas existiam quanto à confiança da citogenética de primatas como ferramenta para os estudos evolutivos (Wienberg, 2005). Esta técnica, provavelmente, mascara a complexidade dos eventos genômicos, não sendo informativa para rearranjos complexos ou para pequenos fragmentos cromossômicos translocados (Yunis e Prakash, 1982; O'Brien *et al.*, 1988; Campa e Stanyon, 1992; Jauch *et al.*, 1992; Koehler *et al.*, 1995a; Müller e Wienberg, 2001; Müller *et al.*, 2001) e, portanto, a identificação dos mecanismos genéticos que produzem tais rearranjos necessita de caracterização do ponto de quebra em nível molecular (Eichler e DeJong, 2002; Enard e Pääbo, 2004). Claramente a

filogenia cromossômica dos primatas do Novo Mundo, baseada em comparações de padrão de bandas, necessita de uma revisão (Wienberg e Stanyon, 1997; Stanyon *et al.*, 2000; Gifalli, 2003).

Com os diferentes Projetos Genoma, numerosas ferramentas moleculares e sondas de DNA se tornaram disponíveis para os estudos cromossômicos (Lengauer *et al.*, 1991; Enard e Pääbo, 2004; Wienberg, 2005; Graphodatsky, 2007) que definiriam homeologias [homologias interespecíficas (Schneider *et al.*, 2001)] com alto grau de precisão e proporcionariam o estudo da evolução cariotípica e da variabilidade cromossômica em diferentes *taxa* de mamíferos (Wienberg *et al.*, 1990; Jauch *et al.*, 1992; Stanyon *et al.*, 1992; Telenius *et al.*, 1992; Wienberg *et al.*, 1992; Ried *et al.*, 1993; Scherthan *et al.*, 1994; Koehler *et al.*, 1995a; Stanyon *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Ferguson-Smith, 1997; O'Brien *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998; Consigliere *et al.*, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998; García *et al.*, 1999; Haig, 1999; O'Brien e Stanyon, 1999; García *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001; Carbone *et al.*, 2002; Eichler e DeJong, 2002; Ruiz-Herrera *et al.*, 2002a; Gifalli, 2003; Wienberg, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Vislumbrou-se que as limitações impostas pela descrição morfológica dos cromossomos seriam superadas e as sondas moleculares distinguiriam os cromossomos de mamíferos com base no seu conteúdo de DNA (Wienberg, 2005).

A técnica mais informativa para o estudo da evolução cromossômica é a hibridação *in situ* fluorescente (FISH) dessas sondas em cromossomos fixados em lâminas, porém o bandamento cromossômico ainda é uma ferramenta importante na obtenção de um mapa de referência (Stanyon *et al.*, 2001; Wienberg, 2005). Esta técnica emprega bibliotecas de DNA

cromossomo-específicas humanas como sondas (WCP - "whole chromosome painting") que, quando hibridadas em diferentes cromossomos de outras espécies, mostram como os grupos sintênicos foram evolucionariamente fragmentados em grupos gênicos menores, ilustrando que a evolução genômica é marcada por um alto grau de conservação de sintenias (grupos de ligação) cromossômicas, apesar das inúmeras reorganizações, possibilitando a comparação genômica entre várias espécies e uma reconstrução filogenética mais precisa (Wienberg *et al.*, 1990; Jauch *et al.*, 1992; Stanyon *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998; Consigliere *et al.*, 1998; Müller *et al.*, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998; Müller *et al.*, 2000, 2001; Seuánez *et al.*, 2001; Eichler e DeJong, 2002; García *et al.*, 2003; Gifalli, 2003; Enard e Pääbo, 2004; Frönicke, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007; Graphodatsky, 2007).

Uma das técnicas para a produção das sondas de pintura cromossômica utiliza a microdissecção de cromossomos com agulhas de vidro (Lengauer *et al.*, 1991). Outra maneira para a obtenção de tais sondas é a partir de uma suspensão fluída de cromossomos, que são separados através da citometria de fluxo (Ferguson-Smith, 1997) em tubos diferentes. Após qualquer destes procedimentos, o DNA é amplificado pela DOP-PCR ("Degenerate Oligonucleotide-Primed-Polymerase Chain Reaction") com um "primer" degenerado (Telenius *et al.*, 1992). A biblioteca de cromossomo artificial bacteriano (BAC) também é uma ferramenta para os estudos genômicos comparativos (Qian *et al.*, 2004) e envolve a clonagem de fragmentos de DNA genômico de aproximadamente 150 kb.

Após a FISH ser introduzida na citogenética comparativa, as supostas homeologias identificadas pelo bandamento puderam ser

comprovadas ou refutadas (Wienberg *et al.*, 1990; Jauch *et al.*, 1992; Sherlock *et al.*, 1996; Chowdhary *et al.*, 1998), uma vez que podem não refletir a homeologia sintênica em nível de DNA (Wienberg *et al.*, 1990; Sherlock *et al.*, 1996; Mudry *et al.*, 1998; Nickerson e Nelson, 1998; Müller *et al.*, 2001; Stankiewicz *et al.*, 2001).

A identificação das associações sintênicas entre genomas relacionados [segmentos contíguos homeólogos a dois cromossomos humanos diferentes (Andersson *et al.*, 1996; Chowdhary *et al.*, 1998; Haig, 1999)] facilita a reconstrução da evolução cromossômica e a identificação dos elementos ortólogos funcionais (Scherthan *et al.*, 1994; Rettenberger *et al.*, 1995; Mikkelsen *et al.*, 2007). Sintenia conservada é definida como a associação sintênica em duas espécies separadas (Andersson *et al.*, 1996; Haig, 1999) sem levar em consideração a ordem dos genes, devido à ocorrência de inversões e outros rearranjos intracromossômicos (Müller *et al.*, 2000; Robinson e Seiffert 2004), ou dos segmentos assintênicos não-contíguos intercalados entre os dois marcadores (Andersson *et al.*, 1996), bem como o tamanho dos segmentos pode ser diferente por subseqüentes translocações para outras regiões do genoma (Robinson e Seiffert 2004).

As espécies podem diferir com relação ao número e morfologia de seus cromossomos, devido aos blocos sintênicos estarem reunidos em diferentes combinações. O número cromossômico pode aumentar ou diminuir pela fissão ou fusão dos cromossomos, respectivamente. Blocos que estão juntos em uma espécie podem estar separados em diferentes cromossomos de outra (Yang *et al.*, 1997b). As novas combinações dos blocos sintênicos são resultantes de eventos de recombinação meiótica ilegítima (recombinação homóloga não alélica) que ocorreram durante a radiação dos mamíferos. Este mecanismo pode levar a produtos geneticamente equilibrados ou não-equilibrados, sendo que os últimos normalmente são

eliminados pela seleção natural e somente os primeiros são passados na linhagem germinativa para as gerações futuras (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Os segmentos dentro dos blocos podem estar invertidos e os centrômeros reposicionados, com pouco ou nenhum efeito fenotípico (Searle, 1991). Algumas vezes, estas mudanças evitam a reprodução bem sucedida entre populações e podem ser um fator importante para o surgimento de novas espécies (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

Uma sintenia cromossômica, quando encontrada intacta em várias espécies, pode ser considerada ancestral. Associações de vários grupos sintênicos vistos em diferentes espécies podem indicar características derivadas comuns (sinapomorfias) que filogeneticamente ligam aquelas espécies (Stanyon *et al.*, 2000). Grupos sintênicos mantidos têm sido mostrados para a maioria dos cromossomos (Wienberg e Stanyon, 1997), parecendo menos conservados em *loci* com localizações pericêntricas e terminais do que em regiões centrais dos braços cromossômicos (Eichler, 1998). Parece existir uma força de manutenção intensa, e a pequena frequência com que estes grupos são desfeitos faz com que a citogenética molecular seja uma ferramenta importante na identificação das modificações e reestruturações cromossômicas que ocorreram durante a evolução dos diferentes grupos (De Oliveira, 2001). Um mesmo grupo sintênico pode ser independentemente separado por fissões ou translocações cromossômicas, mas é menos provável que o mesmo grupo seja unido em linhagens diferentes (Müller *et al.*, 2000). As sinapomorfias, quando integradas com outros dados incluindo as comparações morfológicas clássicas, se tornam marcas cladísticas valiosas para a taxonomia dos *Platyrrhini* (Stanyon *et al.*, 2000).

A pintura cromossômica permite a análise dos rearranjos intercromossômicos envolvidos na diferenciação cariotípica, que têm

reorganizado os genomas de mamíferos e de outros vertebrados e que pontuaram a adaptação e a formação das espécies (Wienberg *et al.*, 1990; Jauch *et al.*, 1992; Stanyon *et al.*, 1992; Wienberg *et al.*, 1992; Ried *et al.*, 1993; Koehler *et al.*, 1995a; Stanyon *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998; Mudry *et al.*, 1998; Nickerson e Nelson, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998; García *et al.*, 1999; O'Brien e Stanyon, 1999; Müller *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001; Müller *et al.*, 2001; Stankiewicz *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2001; Carbone *et al.*, 2002; Gifalli, 2003; Wienberg, 2005). Estes rearranjos são frações das alterações cromossômicas que ocorreram durante a evolução (Müller *et al.*, 2000). Estimativas baseadas na pintura cromossômica mostram que as translocações são eventos raros, da ordem de 1 para 10 milhões de anos de evolução e, portanto, podem ser consideradas únicas, já que é improvável que sejam recorrentes nas diferentes linhagens filogenéticas (Wienberg *et al.*, 1997).

As sondas WCP têm a vantagem de retratar uma visão ampla das mudanças cromossômicas em um experimento, mas seu poder de resolução é baixo (Cardone *et al.*, 2002) e falham na identificação de pequenas regiões (Wienberg e Stanyon, 1995; Haig, 1999; Müller *et al.*, 2000), alterações intracromossômicas (Wienberg *et al.*, 1990; Wienberg e Stanyon, 1995; Sherlock *et al.*, 1996; Müller *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2001; Carbone *et al.*, 2002; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004; Wienberg, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007; Graphodatsky, 2007), rearranjos subcromossômicos (Wienberg e Stanyon, 1995; Müller *et al.*, 2000) e ordenação dos genes dentro dos segmentos homeólogos (O'Brien e Stanyon, 1999; Seuánez *et al.*, 2001; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). A pintura "cross"-espécie também

não é bem sucedida entre grupos de animais cujo DNA divergiu há mais de 105 milhões de anos (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Além disso, essas sondas cromossômicas criam grandes regiões de fluorescência ao longo dos cromossomos, fazendo com que pequenas regiões dentro destas bandas fluorescentes, que não contenham DNA homeólogo, possam ser erroneamente identificadas (Sherlock *et al.*, 1996), ou mesmo pequenos segmentos podem não ser marcados devido à fraca hibridação do DNA (Wienberg e Stanyon, 1997).

Segundo Müller *et al.* (2000), os rearranjos intracromossômicos podem ser de 3 a 4 vezes mais frequentes do que os intercromossômicos e, portanto, são fontes abundantes de dados cladísticos para a reconstrução da filogenia dos primatas. Sondas sub-regionais ou de sequência única, como as obtidas por microdissecção de braços, bandas ou segmentos cromossômicos e por clonagem em vetores, podem ser usadas para definir com mais precisão os pontos de quebra e delinear os rearranjos intracromossômicos complexos e pequenos que ocorreram durante a evolução dos primatas dentro das sintenias conservadas, que não são facilmente visualizados com bandamento cromossômico, ajudando a resolver os problemas causados pelos limites das comparações por bandamento e pintura cromossômica (Wienberg *et al.*, 1990; Ried *et al.*, 1993; Müller *et al.*, 2000; Romagno *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000, 2001; Wienberg, 2005). A localização de blocos sintênicos de genes, utilizando os conhecimentos do mapa genético humano, corroborará ou não as homeologias entre os cromossomos humanos e os de primatas neotropicais sugeridas na literatura (Gifalli, 2003).

A Zoo-FISH e a Zoo-FISH recíproca permitiram a extensão da ferramenta de hibridação "cross"-espécie para experimentos com sondas e

preparações metafásicas originárias de espécies pertencentes a diferentes ordens euterianas, identificando os pontos de quebra cromossômica na evolução cariotípica, estabelecendo o mapeamento genômico comparativo e revelando a conservação de grandes blocos cromossômicos entre espécies que poderiam ter divergido há mais de 90 milhões de anos (Scherthan *et al.*, 1994; Rettenberger *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Wienberg *et al.*, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; García *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 2001; Neusser *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; Gifalli, 2003; Dumas *et al.*, 2007; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007; Mikkelsen *et al.*, 2007). Estes blocos foram delineados mesmo para cromossomos que não compartilham qualquer semelhança morfológica ou no padrão de bandamento (Scherthan *et al.*, 1994; Rettenberger *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995, 1997; Gifalli, 2003; Mikkelsen *et al.*, 2007).

A construção de bibliotecas de primatas não-humanos proporcionaria uma maneira mais prática para investigar as bases genéticas pertinentes à evolução e às doenças humanas (Eichler e DeJong, 2002), ajudando na identificação de mudanças e características conservadas entre as espécies de primatas (Enard e Pääbo, 2004). Bibliotecas de BAC de primatas estão disponíveis para *Pan troglodytes*, *Macaca mulatta*, *Papio anubis* e também para uma espécie de primata do Novo Mundo, *Ateles geoffroyi*, que seriam muito valiosas não apenas no estudo genômico comparativo, mas também no seqüenciamento em larga escala (Qian *et al.*, 2004).

Os macacos neotropicais formam um dos grupos taxonômicos mais

variáveis cariológicamente (Quadro I) (Ma *et al.*, 1975; Consigliere *et al.*, 1996; Wienberg e Stanyon, 1998; Barros *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; García *et al.*, 2002; Barros *et al.*, 2003; Gifalli, 2003; Stanyon *et al.*, 2003b), considerados em pleno processo de especiação cromossômica. Apresentam espécies irmãs quase idênticas morfológicamente e divergentes geneticamente (Consigliere *et al.*, 1998; Dumas *et al.*, 2005), com uma implicação importante para a teoria da especiação e conservação destes primatas (Consigliere *et al.*, 1998). Padrões diferentes de rearranjos envolvidos na evolução cromossômica dos *Platyrrhini* foram analisados (De Oliveira *et al.*, 2002; Nieves *et al.*, 2005) e diferenças cromossômicas entre populações consideradas subespécies pela taxonomia baseada em critérios morfológicos foram descritas (Seuánez *et al.*, 1993).

Quadro I - Os gêneros de *Platyrrhini* com os seus números diplóides (2n), fórmulas cromossômicas (quantidade de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos/acrocêntricos), morfologia dos cromossomos sexuais X e Y e presença ou ausência de microcromossomos e translocações y-autossomo:

GÊNERO	2N	META-SUBMETA/ACRO	X	Y	MICRO	Y-AUTOS.	REFERÊNCIAS
<i>Alouatta</i>	42-54, 56	12-26, ni/20, 22, 24-32, 34-35, ni	meta, submeta, acro, ni	meta, submeta, acro, -, ni	0-5, ni	-, +, ni	1-26, 28, 47-58, 105, 117-120
<i>Ateles</i>	32, 34	29-32, ni/2-3, ni	meta, submeta, ni	meta, submeta, acro, ni	-	-	7, 13, 19-21, 27-44, 50, 61, 105, 116-117, 120-121
<i>Lagothrix</i>	62	30-32, 34, ni/28, 30-32, ni	meta, submeta, ni	meta (*), acro, acro (*), ni	-	-	7, 13, 19-20, 22, 28, 58-61, 104-105, 121
<i>Brachyteles</i>	62	25-26/36-37	submeta	acro (*)	-	-	7, 19, 45-46
<i>Aotus</i>	46-59	13, 17-18, 20, 22-29, 31-32, ni/19-20, 22, 24-34, 36-37, 40, ni	meta, submeta, ni	meta, meta (*), submeta, acro, -, ni	-	-, +, ni	13, 15, 19-21, 27-28, 50, 61, 63, 81-103, 105-107, 109, 121, 124, 130-132
<i>Saimiri</i>	44	29, 31-33, ni/11-13, 15, ni	submeta, ni	acro, ni	-	-	13, 27-28, 58, 61, 67, 94, 103, 105, 108-109, 114, 120-121
<i>Cebus</i>	52-54	17-24, 26, ni/28, 30-37, ni	submeta, acro, ni	acro, ni	-	-	1, 13, 19-22, 27-28, 58, 72-80, 94, 105, 115, 120-121
<i>Saguinus</i>	46	32/14	submeta	meta	-	-	50, 58, 112
<i>Leontopithecus</i>	46	32-34/12-14	submeta	meta	-	-	112, 122-123
<i>Callimico</i>	46-48	26, 29, 32, ni/16, 19-20, ni	submeta, ni	acro, ni	-	-, +	21, 105, 110-111, 129
<i>Callithrix</i>	44, 46	32-34, ni/10-11, 13-14, ni	meta, submeta, ni	meta, submeta, acro, ni	-	-	50, 58, 103, 105, 111-112, 129
<i>Cebuella</i>	44	33-34/10-11	submeta	acro, ni	-	-	109, 129
<i>Pithecia</i>	46, 48	20/28	meta	meta	-	-	21, 113
<i>Cacajao</i>	45-46	20-22/24-25	submeta, ni	-, ni	-	-	7, 21, 28, 58
<i>Chiropotes</i>	54	23-24/30-31	submeta, ni	-	-	-	28, 125, 132
<i>Callicebus</i>	16, 20, 22, 42, 44, 46, 48, 50	8, 10, 16, 18, 20-22, 24-26, 28, 30, ni/6, 10, 12, 16, 24-26, 28-30, ni	meta, submeta, ni	meta, submeta, submeta (*), acro, acro (*), ni	-	-	22, 27-28, 58, 61-71, 105, 127-129

ni = não informado.

meta = cromossomo metacêntrico.

submeta = cromossomo submetacêntrico.

acro = cromossomo acrocêntrico.

- = ausência.

+ = presença.

(*) = cromossomo muito pequeno.

- 1 - Egozcue e Egozcue (1966).
- 2 - Torres e Ramírez (2003).
- 3 - Armada *et al.* (1987).
- 4 - Lima e Seuánez (1991).
- 5 - Lima *et al.* (1990).
- 6 - Ma *et al.* (1975).
- 7 - Koiffmann (1977).
- 8 - Minezawa *et al.* (1985).
- 9 - Stanyon *et al.* (1995).
- 10 - Consigliere *et al.* (1996).
- 11 - Koiffmann e Saldanha (1981a).
- 12 - Mudry-de-Pargament *et al.* (1984b).
- 13 - Koiffmann (1972).
- 14 - Mudry *et al.* (1994).
- 15 - Mudry *et al.* (1984).
- 16 - De Oliveira *et al.* (2002).
- 17 - Bonvicino *et al.* (2001).
- 18 - De Oliveira *et al.* (1998).
- 19 - Gifalli (2003).
- 20 - Koiffmann e Saldanha (1974).
- 21 - Chu e Bender (1961).
- 22 - Bender e Chu (1963).
- 23 - De Oliveira (1996).
- 24 - Rahn *et al.* (1996).
- 25 - De Oliveira (2001).
- 26 - Solari e Rahn (2005).
- 27 - Bender e Mettler (1958).
- 28 - De Boer (1974).
- 29 - García *et al.* (1975).
- 30 - Kunkel *et al.* (1980).
- 31 - Seuánez *et al.* (1993).
- 32 - Morescalchi *et al.* (1997).
- 33 - Turleau *et al.* (1974).
- 34 - Koiffmann e Saldanha (1982).
- 35 - Canavez *et al.* (1998).
- 36 - De Boer e De Bruijn (1990).
- 37 - Medeiros *et al.* (1997).
- 38 - Seuánez *et al.* (1994).
- 39 - Moreira *et al.* (1997).
- 40 - Seuánez *et al.* (1997).
- 41 - Canavez *et al.* (1999a).
- 42 - Canavez *et al.* (1999c).
- 43 - Canavez *et al.* (1999b).
- 44 - Seuánez *et al.* (2001).
- 45 - Koiffmann e Saldanha (1978).
- 46 - Viegas-Péquignot *et al.* (1985).
- 47 - Lima e Seuánez (1989).
- 48 - Mudry *et al.* (1990).
- 49 - Mudry *et al.* (1992).
- 50 - Chiarelli (1961).
- 51 - Mudry-de-Pargament *et al.* (1984a).
- 52 - Rumpler e Dutrillaux (1986).
- 53 - Consigliere *et al.* (1998).
- 54 - Egozcue e Egozcue (1965).
- 55 - Egozcue e Egozcue (1968).
- 56 - De Oliveira *et al.* (1995).
- 57 - Mudry *et al.* (1998).
- 58 - Egozcue (1969).
- 59 - Stanyon *et al.* (2001).
- 60 - Egozcue e Perkins (1970).
- 61 - Egozcue *et al.* (1969).
- 62 - Benirschke e Bogart (1976).
- 63 - Pieczarka e Nagamachi (1988b).
- 64 - Minezawa *et al.* (1989).
- 65 - Nagamachi *et al.* (1999b).
- 66 - Barros *et al.* (2000).
- 67 - Stanyon *et al.* (2000).
- 68 - Rodrigues *et al.* (2001).
- 69 - Barros *et al.* (2003).
- 70 - Minezawa e Borda (1984).
- 71 - Rodrigues *et al.* (2004).
- 72 - García *et al.* (1978).
- 73 - Mudry (1990).
- 74 - Mudry *et al.* (1991).
- 75 - Ponsà *et al.* (1995).
- 76 - Campa e Stanyon (1992).
- 77 - García *et al.* (1983).
- 78 - Clemente *et al.* (1987).
- 79 - García *et al.* (2002).
- 80 - García *et al.* (2000).
- 81 - Ma *et al.* (1978).
- 82 - Ma (1981).
- 83 - Bogart (1978).
- 84 - Ma *et al.* (1976).

- 85 - Yunis *et al.* (1977).
- 86 - Miller *et al.* (1977).
- 87 - Giraldo *et al.* (1986).
- 88 - Giraldo *et al.* (1983).
- 89 - Reumer e De Boer (1980).
- 90 - Ma *et al.* (1985).
- 91 - Pieczarka *et al.* (1992).
- 92 - Ma *et al.* (1980).
- 93 - Minezawa e Valdivia (1984).
- 94 - Cambefort e Moro (1978).
- 95 - Pieczarka *et al.* (1993).
- 96 - Chiarelli (1963).
- 97 - Egozcue (1971).
- 98 - Brumback *et al.* (1971).
- 99 - Brumback (1975a).
- 100 - Brumback (1975b).
- 101 - Descailleaux *et al.* (1990).
- 102 - Torres *et al.* (1998).
- 103 - Dutrillaux e Couturier (1981).
- 104 - García *et al.* (1980).
- 105 - Chu e Bender (1962).
- 106 - Ma *et al.* (1977).
- 107 - Dutrillaux *et al.* (1986).
- 108 - García *et al.* (1995).
- 109 - Bueno (2003).
- 110 - Hsu e Hampton (1970).
- 111 - Egozcue *et al.* (1968).
- 112 - Benirschke *et al.* (1962).
- 113 - De Boer (1975).
- 114 - Jones *et al.* (1973).
- 115 - García *et al.* (1976).
- 116 - Pieczarka *et al.* (1989).
- 117 - Nieves *et al.* (2005).
- 118 - Mudry *et al.* (2001).
- 119 - Vassart *et al.* (1996).
- 120 - Mudry *et al.* (2007).
- 121 - García *et al.* (2003).
- 122 - Goldschmidt *et al.* (2005).
- 123 - Gerbault-Serreau *et al.* (2004).
- 124 - Brumback (1974).
- 125 - Bonvicino *et al.* (2003).
- 126 - Stanyon *et al.* (2003b).
- 127 - Bueno *et al.* (2006).
- 128 - Nagamachi *et al.* (2003).
- 129 - Neusser *et al.* (2001).
- 130 - Kukamoto e Houck (2001).
- 131 - Ruiz-Herrera *et al.* (2005b).
- 132 - Stanyon *et al.* (2004).

A extensa variabilidade cromossômica intra e interespecífica e intrapopulacional ($2n = 16$ a 62) e os polimorfismos são atribuídos à alta frequência de rearranjos cromossômicos complexos e Robertsonianos (fusão e fissão), translocações recíprocas e inversões (Chu e Bender, 1961; Bender e Chu, 1963; Egozcue *et al.*, 1968; De Boer, 1974; Koiffmann e Saldanha, 1974; Koiffmann, 1977; Koiffmann e Saldanha, 1977; García *et al.*, 1978; Koiffmann e Saldanha, 1981a, b; Koiffmann, 1982; Koiffmann e Saldanha, 1982; Mudry-de-Pargament *et al.*, 1984a, b; Viegas-Péquignot *et al.*, 1985; Dutrillaux *et al.*, 1986; Armada *et al.*, 1987; Clemente *et al.*, 1987; De Boer e De Bruijn, 1990; Nagamachi *et al.*, 1990; Lima e Seuánez, 1991; Ma *et al.*, 1991; Seuánez *et al.*, 1993; Mudry *et al.*, 1994; De Oliveira *et al.*, 1995; Stanyon *et al.*, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998; Rylands *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001; Barros *et al.*, 2003; Gifalli, 2003),

além das regiões heterocromáticas de muitos cromossomos (Dutrillaux e Couturier, 1981) que foram descritas, em sua maioria, como blocos altamente variáveis na quantidade, composição e localização cromossômica (Mudry, 1990; Ponsà *et al.*, 1995; García *et al.*, 2003).

Essa variabilidade evidencia a necessidade da análise cromossômica de indivíduos de uma mesma espécie ou subespécie na composição de grupos regionais de acasalamento, com a finalidade de repovoamento de áreas ou manutenção em cativeiro de espécies ameaçadas de extinção (Gifalli, 2003).

Além do grande espectro de mudanças cromossômicas observadas, microcromossomos (Mudry-de-Pargament *et al.*, 1984b) e sistemas de múltiplos cromossomos sexuais ocorrem em decorrência da translocação Y-autossomo (Koiffmann, 1972; De Boer, 1974; Ma *et al.*, 1975; Dutrillaux *et al.*, 1981; Koiffmann e Saldanha, 1981b; Ma, 1981; Seuánez *et al.*, 1983; Minezawa *et al.*, 1985; Viegas-Péquignot *et al.*, 1985; Dutrillaux *et al.*, 1986; Armada *et al.*, 1987; Pieczarka e Nagamachi, 1988a; Lima e Seuánez, 1991; De Oliveira *et al.*, 1995; Consigliere *et al.*, 1996). Estudos com pinturas cromossômicas podem esclarecer se essas translocações têm origem comum (Consigliere *et al.*, 1996). Se um mesmo múltiplo for identificado em espécies diferentes, é provável que tenha se originado de um ancestral comum, podendo se tornar um marcador cromossômico útil (Mudry *et al.*, 2001).

A evolução cariotípica dos *Platyrrhini* ainda não é compreendida (Wienberg e Stanyon, 1998; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001), parecendo descontínua preferencialmente que contínua e, conseqüentemente, a quantidade de mudanças cromossômicas pode não ser proporcional ao tempo decorrido desde a divergência das espécies (Jauch *et al.*, 1992). Os cariótipos de algumas espécies têm mudado pouco ao longo dos anos (Dutrillaux e Couturier, 1981; Seuánez *et al.*, 1988; Canavez *et al.*,

1996; Nagamachi *et al.*, 1997, 1999a; Müller e Wienberg, 2001), embora alguns grupos apresentem uma proporção mais rápida de reorganizações cromossômicas (O'Brien e Stanyon, 1999; Stanyon *et al.*, 2000). Inclusive, algumas variações na morfologia dos cromossomos e nos números diplóides estão associadas com a origem geográfica dos espécimes (De Oliveira *et al.*, 1995).

Uma hipótese para explicar tal variabilidade seria que a diferenciação cromossômica teria ocorrido como resultado de um isolamento em refugio florestal durante o período quaternário. As mutações cromossômicas teriam sido mais facilmente fixadas devido ao endocruzamento nos pequenos grupos isolados de macacos (Ma *et al.*, 1975). Se uma nova variante surgisse ao acaso em um macho dominante, seria transmitida aos seus descendentes e poderia chegar a homozigose por causa do alto grau de endocruzamento e avolumado pela crescente fragmentação do habitat natural (De Oliveira, 1996).

É proposto que as mudanças cariotípicas tenham um papel importante no processo de especiação (King, 1993; Haig, 1999; Rieseberg, 2001; Navarro e Barton, 2003), bem como as variações nas características qualitativas da heterocromatina (García *et al.*, 2003), mas a função dos rearranjos neste processo permanece obscura (Enard e Pääbo, 2004). O modelo clássico sugere que os rearranjos criam uma barreira de fertilidade, reduzida nos heterozigotos (King, 1993). Navarro e Barton (2003a) propuseram um modelo onde o fluxo gênico bloqueado em regiões cromossômicas rearranjadas facilitaria a evolução de alelos compatíveis dentro das espécies, mas incompatíveis entre as espécies (Jauch *et al.*, 1992), sendo o efeito primário a criação de barreiras na recombinação meiótica observada por um aumento da diversidade das seqüências dos cromossomos rearranjados evolucionariamente quando comparado aos

cromossomos conservados cariotipicamente (Navarro e Barton, 2003b).

Os rearranjos são incorporados em uma população se forem acompanhados de alguma vantagem seletiva (Mayr, 1969; Koiffmann, 1977) e, se tiverem um efeito drástico e permanente de modo a restringir o fluxo gênico entre populações divergentes, podem levar a especiação (Bush, 1975; Koiffmann, 1977), desempenhando um papel importante na manutenção da variabilidade genética e de combinações gênicas equilibradas e no estabelecimento de mecanismos de isolamento (Mayr, 1969).

Dos rearranjos cromossômicos que ocorrem nos primatas do Novo Mundo, as fusões telômero-centrômero raramente são observadas, mas podem caracterizar a evolução dos *Callitrichinae* (Gerbault-Serreau *et al.*, 2004). Em espécies diferentes de um mesmo gênero, inversões são observadas na maioria das vezes, em alguns casos com variações de heterocromatina e mudanças centroméricas (Dutrillaux e Couturier, 1981; Clemente *et al.*, 1987; Mudry *et al.*, 1994; Müller *et al.*, 2000; García *et al.*, 2002). Quando gêneros diferentes são comparados as fusões e fissões parecem prevalecer (García *et al.*, 2002; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

As fissões cromossômicas provavelmente exigem a regeneração de dois componentes cromossômicos vitais, os centrômeros e os telômeros: as cromátides têm que ser encapadas pelos telômeros e um novo centrômero deve ser criado (Robinson *et al.*, 2006). As taxas de mudanças centroméricas e teloméricas estão proporcionalmente correlacionadas à taxa de alterações cromossômicas entre duas espécies (Murphy *et al.*, 2005). Os centrômeros parecem ter uma variabilidade posicional maior, uma vez que 70% dos telômeros estão conservados enquanto a conservação dos centrômeros é de 61%. Embora a direção das mudanças evolutivas seja desconhecida, os mapas gênicos indicam uma alta taxa de formação de centrômeros *de novo* (Robinson *et al.*, 2006). Pouco é conhecido sobre o

mecanismo de origem dos neocentrômeros, apenas que perdem as seqüências de DNA α -satélite centroméricas típicas quando são formados em regiões previamente não centroméricas, e que a sua origem não é ao acaso (Amor e Choo, 2002).

Os estudos citogenéticos e citogenéticos moleculares sugeriram que os pontos de quebra em diferentes espécies de primatas estão concentrados em algumas regiões cromossômicas que apresentam características particulares que induzem a quebra, podendo desempenhar um papel importante na reorganização cromossômica, como os duplicons, sítios frágeis e seqüências teloméricas intracromossômicas (Ruiz-Herrera *et al.*, 2002a, b, 2005a; Robinson *et al.*, 2006). Portanto, estes pontos não estão distribuídos ao acaso nos cariótipos humano, de primatas não-humanos e de outras espécies de mamíferos (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a).

Os duplicons são segmentos cromossômicos de regiões específicas de 10 a 600 Kb que foram duplicados e transpostos a novas localizações no genoma, principalmente pericentroméricas e subteloméricas (Eichler, 1998; Robinson *et al.*, 2006). Frequentemente contêm fragmentos de genes expressos e são ocasionalmente transcritos, mas geralmente não tem o mesmo quadro de leitura ou padrão de expressão que o gene ancestral. Acredita-se que surgiram de 35 a 50 milhões de anos atrás e podem ter tido um papel importante na evolução genômica humana por mediar rearranjos cromossômicos e criar novos genes por fusão (Samonte e Eichler, 2002). Tais seqüências repetitivas influenciam a estabilidade do genoma humano por promover a recombinação homóloga não alélica (Pujana *et al.*, 2002; Stankiewicz e Lupski, 2002). Estes rearranjos parecem ocorrer pela alta similaridade de seqüência entre as cópias de duplicons e a presença comum de pseudogenes expressos e de seqüências não processadas dentro deles (Stankiewicz e Lupski, 2002).

O *DNM1DN* (*DNM1* Duplicon) provavelmente se originou no cromossomo 9q34 pela duplicação de um fragmento de DNA que carrega parte do gene *DNM1*. Algumas destas seqüências mapeiam no braço longo do cromossomo Y e representam uma nova família de duplicons ligado ao Y, enquanto outras mapeiam em duas localizações do cromossomo 15 (15q23-q25 e 15q11-q13) e representam domínios estruturais recentemente descobertos para este cromossomo, além de mapear em outros cromossomos. Estudos sugerem que as múltiplas cópias de *DNM1DN* no cromossomo 15 sejam resultantes de amplificações regionais seguidas por translocações intracromossômicas. Na região cromossômica 15q11-q13, que amplifica o duplicon *DNM1DN*, existe pelo menos outros dois duplicons distintos (*HERC2* e *LCR15*) (Makrinou *et al.*, 2004).

A seqüência homóloga ao *DNM1DN* foi identificada no cromossomo Y de chimpanzé e de chimpanzé pigmeu, mas não no cromossomo Y de gorila, observada através de experimentos de FISH usando um cosmídeo como sonda. A seqüência homóloga também foi detectada em duas posições do braço longo de um autossomo nas três espécies de primatas analisadas. Estudos comparativos de FISH indicam que os duplicons autossômicos *DNM1DN* surgiram no genoma de primata no mínimo há 8 milhões de anos, antes da divergência da linhagem de gorila da humana. As cópias *DNM1DN* ligadas ao Y surgiram mais recentemente (4 a 7 milhões de anos atrás), depois da divergência da linhagem de gorila da de chimpanzé e humanos. Uma explicação alternativa para a ausência das cópias *DNM1DN* ligadas ao Y no gorila é que estas seqüências foram deletadas do genoma de gorila. Isto parece pouco provável, uma vez que a deleção de uma região relativamente grande do cromossomo Y seria necessária para remover todos os duplicons *DNM1DN*, levando a interrupção de genes funcionais neste local e a uma predisposição aumentada à instabilidade genômica (Makrinou *et al.*, 2004).

Pujana *et al.* (2002) identificaram várias cópias do duplicon *LCR15* nas regiões 15q11-q14. Os *LCR 15* têm elementos de seqüência em comum com os *HERC2*. A estimativa do número total de duplicons *LCR15* é de, no mínimo, 36 cópias no genoma humano, sendo que 27 estão localizadas no cromossomo 15 (15q11-q14, 15q21-q22, 15q24, 15q25 e 15q26) e no mínimo 9 são encontradas nos cromossomos 2, 5, 7, 9, 10, 12, 16, 19 e Y (Yq11.22). Os duplicons *LCR15* contêm várias seqüências não processadas ou de pseudogenes. Uma alta similaridade ao gene *DNM1* foi detectada nos diferentes duplicons. Análises dos *LCR15* em primatas não-humanos corroboram a origem recente desta família de duplicações ao longo da especiação humana. As análises foram realizadas em *Macaca fascicularis* e *Gorilla gorilla*, e um grande número de cópias de *LCR15* foram detectadas.

Os sítios frágeis permeiam dentro de regiões de alta flexibilidade e baixa estabilidade cromossômica (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a; Glover, 2006), onde são encontrados os pontos de quebra evolutivos (20% das regiões de pontos de quebra identificadas estiveram envolvidas mais de uma vez nas mudanças cariotípicas durante a evolução), corroborando a hipótese de que regiões cromossômicas definidas estão sujeitas à quebra e reorganização durante o processo evolutivo. São enriquecidos por centrômeros e mostram uma densidade gênica acima da média (Murphy *et al.*, 2005). O reuso destes pontos de quebra (Rokas e Holland, 2000; Murphy *et al.*, 2005) sugere que nem todos os rearranjos cromossômicos são mudanças genômicas raras (Rokas e Holland, 2000).

As seqüências teloméricas intracromossômicas (ITS) são seqüências teloméricas localizadas em diferentes sítios intersticiais dos cromossomos e são consideradas remanescentes de rearranjos cromossômicos ancestrais, como as inversões e fusões, que foram produzidos durante a evolução cariotípica e que promovem sítios alternativos para a formação de telômero,

permitindo uma grande flexibilidade para as mudanças cromossômicas. Estas seqüências, detectadas nos cromossomos humanos 1p22, 1cen, 1q23, 1q31, 2q13, 4cen, 4q25, 5q21, 5q31, 6q14, 7q11.2, 7q21, 7q22, 8cen, 9cen, 10cen, 13q14, 15q24, 16cen e 19cen, podem estar relacionadas ao fato destas bandas cromossômicas serem *loci* de fusão/fissão na filogenia de cromossomos de primatas, ou seja, podem ser consideradas o resultado de quebras e reorganizações cromossômicas ancestrais, explicando o fenômeno de convergência (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a). A seguir, alguns exemplos:

- Nas espécies de *Atelidae* e em *Presbytis cristata* (*Cercopithecidae*) o segmento cromossômico ancestral 1a está fissionado em 1a₁ e 1a₂ na mesma banda cromossômica 1p22 e a banda homeóloga é observada como um ponto de quebra evolucionário em *Sus scrofa* (*Suidae*). Esta banda instável também está envolvida em uma mudança centromérica em *Saimiri sciureus* (*Cebidae*) (Murphy *et al.*, 2003).
- Existe um caracter derivado no cromossomo 5 ancestral que *Saimiri sciureus* compartilha com as espécies de *Atelidae*, que é a fissão de 5/7a em 5a/7a e 5b na banda cromossômica 5q31. Entretanto, como Neusser *et al.* (2001) propuseram, esta fissão derivada seria o resultado de rearranjos independentes em filogenias diferentes. A convergência seria devido a presença de um “hot point” em 5q31, que é uma banda instável envolvida na quebra do cromossomo 5 ancestral em *Eulemur macaco macaco* (*Lemuridae*) e *Tupaia belangeri* (*Tupaiidae*) (Müller *et al.*, 1997, 1999).
- Todas as espécies de *Catarrhini* tem um cromossomo homeólogo ao HSA (*Homo sapiens*) 6, com exceção de *Cercopithecus aethiops* (*Cercopithecidae*) e *Presbytis cristata* em que esse cromossomo foi fissionado em 6a e 6b na banda cromossômica 6q14. A presença desta fissão em *Ateles* (*Atelidae*) representa um fenômeno de

convergência, uma vez que a banda 6q14 é mais susceptível a quebras (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a).

Pouco é conhecido sobre os mecanismos envolvidos nos rearranjos responsáveis pela evolução dos cariótipos (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Estes podem ser promovidos por uma inversão cromossômica dentro de um dos segmentos; os pontos de quebra tendem a se localizar próximo dos telômeros e centrômeros (Murphy *et al.*, 2005). A junção de pontas não-homólogas pode ser outro mecanismo responsável pelos rearranjos não-recorrentes (Lupski e Stankiewicz, 2005). Muitos sítios de pontos de quebra estão associados com a formação de cromossomos acrocêntricos em algumas espécies e metacêntricos em outras, uma vez que os cromossomos metacêntricos freqüentemente são o produto da fusão entre dois acrocêntricos e os acrocêntricos podem resultar da fissão de um metacêntrico. Ambos são eventos ilegítimos que ocorrem durante a meiose e são mecanismos comuns na evolução cariotípica (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

Os pré-requisitos básicos para o entendimento dos rearranjos cromossômicos evolutivos são a identificação dos cromossomos ancestrais e a descrição dos tipos de rearranjos em linhagens individuais (Eichler e Sankoff, 2003). Os cromossomos não fossilizam, mas o estado cromossômico ancestral pode ser reconstruído a partir do padrão de similaridades e diferenças dos mapas genéticos das espécies existentes (Haig, 1999). Uma vez que os rearranjos cromossômicos são considerados eventos únicos com baixo nível de convergência, representam marcas na evolução que podem ser datadas, desde que os rearranjos derivados sejam compartilhados pelos membros de uma determinada *taxa* (Müller *et al.*, 1999; Frönicke, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). As primeiras tentativas para a identificação de cariótipos ancestrais de mamíferos foram baseadas em semelhanças dos padrões de bandamento entre espécies distantemente relacionadas, que indicaram a conservação evolucionária de

alguns cromossomos (Dutrillaux *et al.*, 1980; Nash e O'Brien, 1982). A citogenética molecular se tornou essencial para o estabelecimento destes cariótipos (Consigliere *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998).

O conhecimento dos cariótipos ancestrais permite a identificação de sintenia conservada, na qual a localização de um gene em uma espécie ajuda a informar a localização de seu homeólogo em outra. Também auxilia na reconstrução da evolução de famílias multigênicas, através da história dos segmentos duplicados (parálogos) do genoma. Além disso, as diferenças cromossômicas entre as espécies podem ajudar a resolver as filogenias, se os estados de caracteres ancestrais forem distintos dos derivados, elucidando o papel dos rearranjos cromossômicos na especiação e macro-evolução (Haig, 1999).

A aparente natureza conservativa da evolução do cariótipo euteriano permitiu a primeira reconstrução de um cariótipo ancestral baseado em dados obtidos com as técnicas de citogenética molecular em várias espécies de mamíferos (Chowdhary *et al.*, 1998; Frönicke, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Na maioria dos casos, as comparações foram feitas com relação ao genoma humano, uma vez que os blocos sintênicos conservados definidos pelas homeologias com os cromossomos humanos podem ser reconhecidos em todas as espécies (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Desde então, análises adicionais têm proporcionado novas idéias na organização do cariótipo euteriano ancestral (Haig, 1999; Murphy *et al.*, 2001; Richard *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2003; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Provavelmente, a organização do genoma ancestral de mamíferos será refinada após as análises de outros genomas (Bourque *et al.* 2006; Müller, 2006; Graphodatsky, 2007).

Frönicke (2005) reconstruiu o provável cariótipo boreo-euteriano ancestral (BEA - ancestral de mamíferos com irradiação no hemisfério norte que juntamente com Afrotheria e Xenarthra, com irradiação no

hemisfério sul, forma o grande grupo euteriano de mamíferos placentados) (Figura 2) com um complemento cromossômico de $2n = 46$, compreendendo 32 segmentos conservados e 9 associações sintênicas (definidas pelos segmentos homeólogos aos cromossomos humanos 3/21, 4/8, 7b/16p, 10p/12a, 12a/22a, 12b/22b, 14/15 e 16q/19q) (Robinson *et al.*, 2006; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

Figura 2: Cariótipo reconstruído do ancestral boreo-euteriano. As homeologias com os cromossomos humanos estão indicadas pelas cores diferentes e pelos números à direita de cada ideograma. A nomenclatura dos cromossomos está de acordo com as regiões homeólogas (Frönicke, 2005).

Progresso semelhante tem sido alcançado na reconstrução do cariótipo ancestral de primatas, como os apresentados por Müller *et al.* (1999) com número diplóide de 50 cromossomos e composto pelos cromossomos ou segmentos homeólogos aos cromossomos humanos 1a, 1b, 2a, 2b, 3/21, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12/22a, 12/22b, 13, 14/15, 16a, 16b, 17, 17, 19a, 19b, 20, X e Y (Figura 3a) e Frönicke (2005) com $2n = 48$ cromossomos e tempo de divergência estimado em aproximadamente 78

milhões de anos atrás. Nie *et al.* (2006) e Stanyon *et al.* (2006) também hipotetizaram o cariótipo do último ancestral comum de todos os primatas com 48 cromossomos e os seguintes cromossomos homeólogos ao cariótipo humano: 1, 2a, 2b, 3/21, 4, 5, 6, 7a, 7b/16b, 8, 9, 10, 11, 12a/22a, 12b/22b, 13, 14/15, 16a, 17, 18, 19a, 19b, 20, X e Y.

Figura 3: a) Cariótipo ancestral proposto para os primatas com $2n = 50$. Os números à esquerda indicam os homeólogos humanos (Müller *et al.*, 1999). b) Cariótipo reconstruído do ancestral de primatas com $2n = 48$. As homeologias com os cromossomos humanos estão indicadas pelos números à direita de cada ideograma e a nomenclatura dos cromossomos está de acordo com as regiões homeólogas (Frönicke, 2005).

Müller (2006) apresentou um provável cariótipo ancestral de primatas com poucas diferenças em relação ao cariótipo ancestral de mamíferos, com $2n = 50$ cromossomos e os cromossomos (segmentos) conservados homeólogos aos humanos 1, 2pter-q13, 2q13-qter, 4, 5, 6, (7p21-q11.21, 7q11.23-21.3, 7q22.1-qter), 8p, 8q, 9, 10, 11, 13, 16q, 17, 18, 19p, 19q, 20, X, Y e as associações 3/21, (7pter-p22, 7q11.21-11.23, 7q21.3-22.1)/16p, 12pter-q23.3/22q12.3-qter, 22q11.2-22q12.3/12q23.3-qter e 14/15 (Figura 4a); já Stanyon *et al.* (2008) hipotetizaram o cariótipo que estava presente no último ancestral comum dos primatas com os seguintes cromossomos: 1, 2p-q, 2q, 3/21, 4, 5, 6, 7b, 7a/16p, 8, 9, 10p, 10q, 11, 12a/22a, 12b/22b, 13,

14/15, 16q, 17, 18, 19p, 19q, 20, X e Y (Figura 4b).

Figura 4: a) Provável cariótipo ancestral de primata com as homeologias humanas à esquerda (Müller, 2006). b) Ideograma do cariótipo ancestral de primatas (2n = 50). Os cromossomos estão coloridos de acordo com as homeologias humanas e a ordem dos marcadores é referida à ordem em humanos (p para q) indicada pelas letras à direita (Stanyon *et al.*, 2008).

Ruiz-Herrera *et al.* (2005a) propuseram um número cromossômico de $2n = 54$ para o cariótipo ancestral de primatas, incluindo as formas cromossômicas: $1(a+c_1)$, $1(b+c_2)$, 2a, 2b, 3/21, 4, 5, 6, 7a, 7b, 8, 9, 10a, 10b, 11, 12a/22a, 12b/22b, 13, 14/15, 16a, 16b, 17, 18, 19a, 19b, 20, X e Y. Os padrões de banda G designados para os cromossomos ancestrais foram: $1(a+c_1)$, $1(b+c_2)$, 7a e 7b correspondem aos cromossomos de *Cercopithecus aethiops*; 6, 11, 9, 10a, 10b, 16a e 16b aos cromossomos de *Cebus apella*; 2a, 2b, 8, 14/15, 17 e 18 aos cromossomos de *Macaca fascicularis*; 20 ao cromossomo de *Cebus nigrivittatus*; 12a/22a e 12b/22b aos cromossomos de *Eulemur fulvus mayottensis* e *Tupaia belangeri*; e 4, 5, 13, 19a e 19b aos cromossomos humanos (Figura 5). Quando uma sonda cromossomo-específica humana hibrida em homeólogos de alguns primatas e mamíferos não-primatas esta forma cromossômica deve ser considerada ancestral para todos os primatas (Haig, 1999; Carbone *et al.*, 2002). Os cromossomos encontrados em alguns primatas e em mamíferos não-primatas que mostram uma condição derivada em humanos também são considerados ancestrais para este grupo (Müller *et al.*, 1999).

Figura 5: Cariótipo ancestral proposto para os primatas. O tamanho de cada cromossomo está mostrado à esquerda. Abreviação: hc = heterocromatina (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a).

Estudos realizados com a técnica de FISH em várias espécies de primatas do Novo Mundo também postulam que o cariótipo ancestral para este grupo é formado por 54 cromossomos e composto pelos seguintes cromossomos ou segmentos cromossômicos homeólogos aos cromossomos humanos: 1a, 1b, 1c, 2a, 2b/16q, 3a, 3b, 3c/21, 4, 5/7a, 6, 7b, 8a, 8b/18, 9, 10p, 10q/16p, 11, 12, 13, 14/15a, 15b, 17, 19, 20, 22, X e Y (Neusser *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2003b, 2004; Dumas *et al.*, 2006; Stanyon *et al.*, 2008. De acordo com essa proposição, alguns cromossomos são derivados para todo o grupo; outros conservaram a sintenia dos cromossomos humanos inteiros e foram propostos como ancestrais para os primatas neotropicais por Clemente *et al.* (1990) e Stanyon *et al.* (2000).

As informações obtidas com os resultados das pinturas cromossômicas comparadas com os mapas de hibridação publicados para outros primatas e espécies de mamíferos menos relacionados conduzem a uma melhor interpretação cladística da evolução dos macacos neotropicais (Stanyon *et al.*, 2000; Carbone *et al.*, 2002). A pintura cromossômica mostra que os cariótipos dos macacos do Novo Mundo foram consideravelmente reorganizados com relação ao cariótipo ancestral de primatas (Wienberg, 2005) (Figura 6).

Figura 6: Ideograma do cariótipo ancestral de *Platyrrhini*. Os cromossomos estão coloridos de acordo com as homeologias humanas e a ordem dos marcadores é referida à ordem em humanos (p para q) indicada pelas letras à direita (Stanyon *et al.*, 2008).

Os estudos citogenéticos e citogenéticos moleculares em primatas do Novo Mundo evidenciam a importância dos rearranjos cromossômicos nas mudanças evolutivas e contribuem para a identificação das suas origens, direções e mecanismos, fornecendo dados importantes para a divergência populacional, especiação, seleção, adaptação, taxonomia, filogenia e conservação (Egozcue *et al.*, 1968; Ohno, 1970; De Boer, 1974; Dutrillaux, 1979a, b; Dutrillaux e Couturier, 1981; Pieczarka e Nagamachi, 1988a; Mudry, 1990; Wienberg *et al.*, 1990; Stanyon *et al.*, 1992; Seuánez *et al.*, 1993; Stanyon *et al.*, 1995; Wienberg e Stanyon, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; Müller *et al.*, 2000; Rokas e Holland, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Eichler e DeJong, 2002; Samonte e Eichler, 2002; Gifalli, 2003; Navarro e Barton, 2003; Frönicke, 2005), além de estimar a porcentagem da troca de um par de bases, retroposição, duplicação e deleção em função do tempo evolucionário (Ohno, 1970; Eichler e DeJong, 2002).

Estudos adicionais usando Zoo-FISH, pintura cromossômica e sondas subcromossômicas em diferentes espécies de primatas neotropicais serão necessários para alcançar um melhor entendimento da evolução cromossômica em *Platyrrhini*, que também depende da região de origem dos exemplares, estrutura das populações e formas de acasalamento (Gifalli, 2003).

MICRODISSECÇÃO CROMOSSÔMICA

A microdissecção cromossômica foi desenvolvida na década de 80 para o isolamento de marcadores em cromossomos politênicos de dípteros. Seu uso foi rapidamente incorporado a estudos de mamíferos e, com o advento da FISH e PCR, esta técnica se mostrou muito útil na obtenção de sondas cromossomo-específicas, ao lado da citometria de fluxo (Ferguson-Smith *et al.*, 1998; Fan, 2002). Além disso, esta eficiente metodologia permite que sondas sejam feitas a partir de cromossomos cujos tamanhos dificultam a separação pela citometria de fluxo. Muitos cromossomos são difíceis de serem diferenciados e necessitam ser bandados antes da microdissecção (Guan *et al.*, 1994). A microdissecção permite que sondas de cromossomos inteiros, de bandas cromossômicas e de regiões específicas sejam produzidas de maneira eficiente (Engelen *et al.*, 1998).

A técnica consiste na raspagem física do cromossomo ou região cromossômica de interesse, usando um micromanipulador acoplado a um microscópio invertido. Um passo crítico nesta técnica é a transferência bem sucedida do fragmento microdissecado para dentro de um tubo de microcentrífuga, para que possa ser realizada a amplificação do DNA (Weimer *et al.*, 1999). A amplificação do material isolado é feita através da DOP-PCR (Telenius *et al.*, 1992), que permite a amplificação independente de sequência, uma vez que consiste de vários ciclos de baixa estringência com "primers" degenerados seguidos por ciclos de alta estringência. Frequentemente, um leve rastro pode ser observado em gel de agarose e, provavelmente, consiste de produtos não-específicos gerados a partir das inúmeras localizações com o "primer" degenerado. O uso da DOP-PCR permitiu a ampla utilização da microdissecção em estudos com FISH.

Modificações do protocolo básico, como o uso da T7 DNA polimerase nos primeiros ciclos da DOP-PCR e pré-tratamento com proteinases (Weimer *et al.*, 1999; Fan, 2002), foram descritas com o intuito de

aumentar a eficácia e reduzir o número de cromossomos necessários para obtenção das sondas. Os resultados obtidos por Weimer *et al.* (1999) foram idênticos para sondas produzidas a partir de um único cromossomo microdissecado ou para sondas feitas com mais de seis. Embora as marcações fiquem melhores com as sondas produzidas com vários fragmentos do cromossomo, os riscos de erros devido à identificação errônea do cromossomo aumentam, podendo resultar em contaminação e comprometer a qualidade da sonda, fornecendo resultados enganosos. Os limites das regiões hibridadas podem variar ou ser imprecisos se as sondas forem feitas com mais de um fragmento microdissecado, o que seria evitado com a microdissecção de um único fragmento. Apenas algumas sondas de microdissecção produzidas são capazes de revelar homeologia sintênica quando as duas espécies em questão pertencem a diferentes *taxa* (Rubtsov *et al.*, 2000).

Entre as principais aplicações da microdissecção estão alguns temas centrais da citogenética molecular, como o estudo dos cromossomos sexuais e supranumerários (Bugrov *et al.*, 2004; Rubtsov *et al.*, 2004) e estudo de hibridação interespecífica. As seqüências obtidas por microdissecção permitem investigar a organização genômica do ponto de vista molecular, possibilitando inferências acerca dos mecanismos evolutivos.

O GÊNERO *ALOUATTA*

Os bugios (*Alouatta*) possuem corpo maciço, com longa pelagem que se avoluma na mandíbula e lados da face formando uma grande barba que oculta o volume do grande osso hióide, que se transformou em caixa de ressonância para sua potente voz. Devido ao aparato hióidico, a vocalização é muito desenvolvida, apesar de não possuírem grande variedade de sons. Outra adaptação encontrada é a esquizodactilia (dedo indicador dos membros anteriores distancia-se do dedo médio). Apresentam cauda preênsil com palma de grande habilidade suspensória, ventre e peito com pouca pelagem e face nua de pele negra. Possuem dimorfismo sexual notadamente desenvolvido em *A. caraya*, *A. belzebul ululata* e *A. fusca clamitans* (Auricchio, 1995).

Esse é o gênero de *Platyrrhini* com a maior área de distribuição geográfica (do sul do México ao norte da Argentina, incluindo partes do Peru e Bolívia) e com uma das maiores diversidades de espécies (Cabrera, 1958; Hill, 1960, 1962; Smith, 1970; Wolfheim, 1983; Neville *et al.*, 1988; Groves, 1993; Gregorim, 1995; Stanyon *et al.*, 1995; De Oliveira, 1996; De Oliveira *et al.*, 2002). Pode ser separado há aproximadamente 6,8 milhões de anos em um grupo transandino, com espécies do México, América Central e costa noroeste da América do Sul (Colômbia e Equador), e um cisandino, que inclui a maioria das espécies da América do Sul (Hershkovitz, 1949; Bonvicino *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; Cortés-Ortiz *et al.*, 2003).

Foi dividido por vários autores em seis espécies: *belzebul*, *caraya*, *guariba*, *pigra* [distribuído na costa atlântica da Guatemala e estendendo-se até Belize (Hill, 1962)], *palliata* [encontrado do norte do México ao norte da América do Sul, chegando à Colômbia e Equador (Hill, 1962)] e *seniculus* (Cabrera, 1958; Hill, 1960, 1962; Smith, 1970; Wolfheim, 1983), duas das quais ocorrem na Amazônia: *belzebul* e *seniculus* (Neville *et al.*, 1988). Gregorim (1995) reconheceu nove espécies: *caraya*, *guariba*, *belzebul*,

discolor, *ululata*, *seniculus*, *stramineus*, *puruensis* e *nigerrima*, enquanto Bonvicino *et al.* (1995) consideraram *A. macconnelli* como espécie válida além das nove relatadas por Gregorim (1995). O "status" taxonômico de *A. seniculus macconnelli* e *A. s. stramineus* ainda está em discussão (Lima e Seuánez, 1991; Bonvicino *et al.*, 1995).

Segundo Cortés-Ortiz *et al.* (2003), os bugios sul-americanos compreendem sete espécies: *seniculus*, limitado à oeste pela Cordilheira dos Andes colombianos e cobrindo a maior parte do norte da América do Sul acima do rio Amazonas; *macconnelli*, encontrado no Suriname, Guiana Francesa e no Brasil ao norte do baixo e médio Amazonas; *sara*, aparentemente restrito à Amazônia boliviana; *belzebul*, do sul do rio Amazonas e leste do rio Tapajós ao norte da Mata Atlântica; *nigerrima*, limitado ao norte pelo rio Amazonas, a leste e oeste pelos rios Trombetas e Madeiras, respectivamente, e ao sul pela sua divisa supostamente parapátrica com *caraya*; *caraya*, restrito ao sul do Brasil, Paraguai e norte da Argentina; e *guariba* com duas subespécies alopatricamente distribuídas nas metades norte e sul da Mata Atlântica brasileira, embora a exata distribuições destas subespécies permanece incerta (Harris *et al.*, 2005)

Alouatta belzebul é considerada uma espécie complexa (Armada *et al.*, 1987; De Oliveira, 1996) com quatro subespécies, *belzebul*, *nigerrima*, *discolor* e *ululata*, e a sua taxonomia e distribuição não estão bem entendidas (Hill, 1962; Napier e Napier, 1967; Bonvicino *et al.*, 1989). *A. nigerrima* foi reconhecida ao nível específico (Rylands *et al.*, 2000) e posição de *A. belzebul belzebul* como subespécie ainda é questionada.

A grande variabilidade cariotípica observada em *Alouatta guariba*, com as subespécies *guariba* (criticamente em perigo de extinção, 2007 "IUCN Red List of Threatened Species" - www.iucnredlist.org) e *clamitans* (Auricchio, 1995), indica que esta também deva ser uma espécie complexa

(Armada *et al.*, 1987; De Oliveira, 1996). Diferenças entre populações indicam que *A. g. clamitans* é representante de duas subespécies ou mesmo de duas espécies separadas (Koiffmann, 1977; De Oliveira *et al.*, 1995; De Oliveira, 1996; De Oliveira *et al.*, 1998; De Oliveira, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; Gifalli, 2003; Harris *et al.*, 2005). De Oliveira (2001) sugeriu que a grande diferença cromossômica entre estas populações pode indicar que elas estão isoladas reprodutivamente. Este padrão de subdivisão populacional pode ter surgido durante o Pleistoceno Médio (há aproximadamente 400.000 anos) seguindo a fragmentação florestal e/ou a formação de eco-regiões distintas que se tornaram centros de endemismo (Harris *et al.*, 2005). *A. g. guariba* corre sérios riscos de extinção devido à restrição de sua distribuição geográfica, caça predatória e rápido avanço no processo de desmatamento, e a situação se torna mais grave pela ausência de registro de populações em áreas legalmente protegidas (Gregorin, 2006).

Alouatta pigra e *A. caraya* são espécies monotípicas, portanto não apresentam subespécies, enquanto *A. palliata* está dividida em sete subespécies [*mexicana*, *pigra*, *luctuosa*, *palliata*, *coibensis*, *trabeata* e *aequatoriais* (Hill, 1962)] ou em três [*mexicana*, *palliata* e *aequatorialis* (Ruiz-García *et al.*, 2007)].

Os dados morfológicos, cariológicos e moleculares são coincidentes em mostrar que *Alouatta* é um gênero monofilético (De Oliveira, 1996, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002), embora a taxonomia, classificação e relações filogenéticas permanecem controversas (De Oliveira *et al.*, 2002). Estudos mostram que a taxonomia atual ignora a biodiversidade do gênero (Wolfheim, 1983; Groves, 1993; Gregorin, 1995; De Oliveira, 1996).

As reconstruções filogenéticas baseadas em dados moleculares mostraram uma separação dicotômica entre as espécies trans e cisandinas de *Alouatta*. O clado transandino mostrou dois ramos separados, um levando

a *A. palliata mexicana*/ *A. coibensis trabeata* e o outro a *A. pigra*, enquanto o grupo cisandino se dividiu em um ramo levando a *A. belzebul*/ *A. guariba* e o outro ao clado (*A. caraya* (*A. macconnelli* (*A. seniculus*, *A. sara*))) (Cortés-Ortiz *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos por De Oliveira (1996) nos estudos cladísticos baseados no padrão de bandamento G dos braços cromossômicos indicam que as *taxa* do gênero *Alouatta* estão divididas em cinco grupos: *palliata* (*A. palliata*), *caraya* (*A. caraya*), *belzebul* (*A. belzebul belzebul*), *fusca* (*A. guariba clamitans*) e *seniculus* (*A. seniculus* e *A. belzebul nigerrima*). Filogeneticamente, *A. caraya* ocupa uma posição intermediária entre *A. palliata* e as outras espécies do gênero encontradas no Brasil e na Argentina. *A. belzebul belzebul* é o grupo-irmão de *A. caraya*, e *A. belzebul nigerrima* e *A. seniculus* formam o grupo-irmão de *A. guariba clamitans*.

A filogenia apresentada por Mittermeier e Coimbra-Filho (1981) coloca *A. palliata* como a espécie mais basal, seguida por *A. caraya*, pelo clado formado pelas espécies amazônicas e *A. guariba*. Meireles *et al.* (1999a), Bonvicino *et al.* (2001) e Villalobos *et al.* (2004) produziram uma filogenia diferente, colocando *A. caraya* em uma posição mais basal, seguida por *A. seniculus* como o grupo-irmão do clado mais derivado *A. belzebul*/ *A. guariba*. Mudry *et al.* (1994) indicaram *A. caraya* como o cariótipo mais próximo do ancestral, seguido por *A. seniculus*, *A. palliata* e *A. belzebul*. Quando se comparam as filogenias baseadas em estudos moleculares, morfológicos e biogeográficos com a apresentada por De Oliveira *et al.* (2002) a partir de dados cromossômicos, a posição mais basal de *A. caraya* e o agrupamento de *A. guariba* com *A. belzebul* e *A. seniculus* é um consenso. Uma exceção foi obtida a partir dos dados de seqüências de DNA do citocromo *b* produzidos por Nascimento *et al.* (2005), com uma árvore que resultou em dois clados bem estabelecidos e separados, um formado por *A. belzebul* e o outro por *A. caraya* (*A. caraya*, *A. sara* e *A. macconnelli*). A

topologia desta filogenia coloca *A. belzebul* como o grupo-irmão do clado que dá origem as subespécies de *A. guariba* (Figura 7).

Figura 7: Filogenias das espécies de *Alouatta* baseadas em: a) estudos morfológicos e biogeográficos (Mittermeier e Coimbra-Filho, 1981), b) e c) dados de DNA (Meireles *et al.*, 1999a; Bonvicino *et al.*, 2001) e (Nascimento *et al.*, 2005) e d) dados citogenéticos (De Oliveira *et al.*, 2002).

De Oliveira (2001) apóia o monofiletismo de *Alouatta* nas associações sintênicas homeólogas aos cromossomos humanos 2/16, 3/15 e na translocação envolvendo o Y e 3/15. A árvore filogenética obtida com os dados cromossômicos coloca *A. caraya* agrupada com *A. belzebul* em um clado, enquanto *A. guariba guariba*, *A. g. clamitans*, *A. macconnelli*, *A. arctoidea* e *A. sara* formam um segundo clado. Apesar da proximidade geográfica de *A. caraya* e *A. guariba*, uma proximidade filogenética maior entre *A. guariba* e o grupo formado por *A. macconnelli*, *A. arctoidea* e *A. sara* é observada, corroborando a hipótese de que uma grande parte da floresta Atlântica tem uma origem muito antiga, quando as florestas Amazônica e Atlântica ainda eram interligadas. As diferenças entre os cariótipos de *A. guariba* e os de *A. sara*, *A. arctoidea* e *A. macconnelli* são indícios de uma separação remota entre estes dois grupos.

O gênero *Alouatta* tem chamado a atenção nos últimos anos devido à grande variabilidade cariotípica encontrada nas suas espécies e subespécies ($2n = 42$ a 56) (Referências Bibliográficas no Quadro I - pág. 18 a 21). Os cariótipos destes primatas evoluíram rapidamente, produzindo cariótipos espécie-específico pelo processo de especiação (Mudry *et al.*, 1994; Haig, 1999). Na evolução cariotípica deste gênero, os principais rearranjos cromossômicos são as translocações, inversões, fusões/fissões cêntricas e os mecanismos complexos (De Oliveira, 1996). Estes rearranjos contribuíram para a redução do número diplóide durante a evolução de *Alouatta* (Chu e Bender, 1961; Bender e Chu, 1963; Egozcue e Egozcue, 1966; Minezawa *et al.*, 1985; Pieczarka e Nagamachi, 1988a; Mudry *et al.*, 1990, 1992), com drásticas diferenças nos complementos cromossômicos entre espécies, populações ou cariomorfotipos de posição taxonômica incerta, representando discretos limites entre as populações de bugios (Armada *et al.*, 1987), como é observado em *A. arctoidea* e *A. sara*, que

tiveram uma mudança cromossômica rápida com 12 rearranjos separando seus cariótipos (Consigliere *et al.*, 1996), e em *A. guariba clamitans* ($2n = 45/46$) e *A. g. guariba* ($2n = 49/50$), com o cariótipo do primeiro sendo derivado do segundo por duas fusões Robertsonianas (De Oliveira *et al.*, 2002).

Uma hipótese para a fixação de um número tão grande de modificações cromossômicas ocorridas durante a irradiação desse gênero pode se basear na estrutura e comportamento social de suas espécies. *Alouatta* apresenta uma complexa organização social e o macho dominante copula com a maioria das fêmeas, que raramente abandonam o grupo em que nasceram (Wolfheim, 1983), aumentando as taxas de endogamia. Como os rearranjos cromossômicos se fixam mais facilmente em espécies com altas taxas de endogamia, este gênero pode ter diversificado cromossomicamente sem a necessidade da formação de refúgios e isolados (De Oliveira, 2001). Porém, a hipótese de refúgios do Pleistoceno é usada na tentativa de explicar a grande variação cromossômica observada em bugios (Stanyon *et al.*, 1995).

O Quadro II mostra os dados cariotípicos do gênero *Alouatta* com as espécies e subespécies estudadas, fornecendo os sexos, números fundamentais e diplóides, fórmulas cromossômicas, morfologia dos cromossomos sexuais X e Y e presença ou ausência de microcromossomos e translocações Y-autossomo.

Quadro II - O gênero *Alouatta* e seus números diplóides, números fundamentais (FN), sexos, fórmulas cromossômicas, morfologia dos cromossomos sexuais X e Y e presença ou ausência de microcromossomos e translocações y-autossomo:

<i>Alouatta</i>	SEXO	2N	FN	META-SUBMETA/ACRO	X	Y	MICRO	Y-AUTOS.	REFERÊNCIAS (*)
<i>A. seniculus</i>	M, F	43-45	58-63	12-15/ 25-28	acro	submeta, -	3-5	-	2, 21, 105
<i>A. stramineus</i>	M, F	47-49	73, ni	22, 24/ 22, 24	submeta, ni	-	1-3	-, +	3-5, 22
<i>A. macconnelli</i>	M, F, ni	44-50	69-74, 76, ni	22, 24/ 22, 24, ni	submeta, ni	-, ni	1-4, ni	-, +, ni	3-5, 16-17, 22, 24
<i>A. sara</i>	M, F	48-50	67, 71, ni	17-18/ 26, 29	submeta	-	4	-, +	8-10
<i>A. arctoidea</i>	ni	44	57	13/27	submeta	-	4	+	9
<i>A. caraya</i>	M, F, ni	50-52	72-74, ni	20-22/ 30-32, ni	meta, submeta, ni	meta, acro, -, ni	-	-, +, ni	1, 7, 11-16, 19, 22-23, 117, 120
<i>A. belzebul</i>	M, F	49, 50	72, 74	23-24/ 26	submeta	-	-	-, +	3, 22, 53
<i>A. nigerrima</i>	F	50	70	20/30	submeta	-	-	-	3, 17
<i>A. guariba guariba</i>	M, F, ni	45-46, 49-50, 52	70, 72, ni	21-22/ 28, ni	submeta, ni	-, ni	-	-, +, ni	16, 18, 24
<i>A. guariba clamitans</i>	M, F	45-46, 48-50, 52	66-72, 75	17-23, 25-26/ 20, 28-32	submeta	acro, -	-	-, +	7, 13, 16, 18-20, 22, 25
<i>A. palliata</i>	M, F	53, 54, 56	76-78	21-24/ 30, 34-35	submeta	acro, -	-	-, +	4-6, 10, 12, 26

M = macho.

F = fêmea.

ni = não informado.

meta = cromossomo metacêntrico.

submeta = cromossomo submetacêntrico.

acro = cromossomo acrocêntrico.

- = ausência.

+ = presença.

(*) - Referências bibliográficas (Quadro I - pág. 18 a 21).

Alouatta palliata é considerada a espécie desse gênero com o cariótipo menos derivado (De Oliveira, 1996) e mais parecido com *A. caraya* (Mudry-de-Pargament *et al.*, 1984b) por manter 4 metacêntricos, 30 acrocêntricos e um cromossomo X de morfologia submetacêntrica (Ma *et al.*, 1975). Uma diferença marcante na morfologia e padrões de bandas foi observada entre estas espécies e *A. seniculus* (Yunis *et al.*, 1976). Já, Mudry *et al.* (1994) consideram o cariótipo de *A. caraya* mais próximo ao de *A. seniculus*, uma vez que homeologias de cromossomos ou braços cromossômicos inteiros foram encontradas em 16 dos 26 pares nestas duas espécies. As homeologias entre *A. palliata* e *A. belzebul* são menos evidentes, sendo que em *palliata* foram encontradas homeologias em 14 pares de autossomos com relação à *caraya* que compartilha com *belzebul* 8 pares autossômicos. Consigliere *et al.* (1998) sugeriram que *A. belzebul* tem um cariótipo mais conservado quando comparado ao de *A. sara* e *A. arctoidea*. Comparações cariotípicas também indicam que *A. macconnelli* e *A. stramineus* são mais semelhantes um ao outro do que são com *A. nigerrima* (Armada *et al.*, 1987; Lima e Seuánez, 1991).

No cariótipo de *Alouatta guariba clamitans* existe um par submetacêntrico grande característico que está ausente no cariótipo de *A. caraya*. Por outro lado, no cariótipo de *caraya* nota-se a presença de um par acrocêntrico bem maior que está ausente no cariótipo de *guariba clamitans*. Portanto, uma fusão cêntrica envolvendo este cromossomo de *caraya* e outro acrocêntrico teria originado o cromossomo submetacêntrico de *A. guariba clamitans* (Koiffmann, 1972; Gifalli, 2003), com a conseqüente redução no número diplóide (Gifalli, 2003).

A variabilidade observada em *Alouatta guariba clamitans* e a presença de espécimes com 52 cromossomos e número fundamental igual a 75, associada à tendência de diminuição do 2n e FN comprovada nos estudos cladísticos, sugere que este seja o cariótipo mais primitivo para esta

subespécie e que a partir de $2n = 52$ diferenciaram-se os outros citotipos através de fusões cêntricas, fusões *in tandem* e inversões pericêntricas. Esta variação pode estar relacionada à procedência dos exemplares, indicando que a tendência à redução do número diplóide apresenta-se orientada no sentido norte-sul. Os resultados mostram que *A. guariba clamitans* parece estar em processo ativo de especiação cromossômica. Os dados ainda sugerem que as populações do sudeste e sul do Brasil já estejam isoladas reprodutivamente, notando-se a necessidade de uma reavaliação taxonômica para esta espécie. A análise do número diplóide em *A. seniculus* associada à distribuição geográfica das diferentes subespécies mostra que há uma redução do $2n$ na direção sul-norte (De Oliveira, 1996).

Além do grande espectro de mudanças cromossômicas observadas entre os bugios, sistemas de múltiplos cromossomos sexuais ocorrem em decorrência da translocação Y-autossomo bem como a presença de microcromossomos (Ma *et al.*, 1975; Koiffmann, 1977; Mudry-de-Pargament *et al.*, 1984a; Minezawa *et al.*, 1985; Rumpler e Dutrillaux, 1986; Armada *et al.*, 1987; Lima e Seuánez, 1989; Lima *et al.*, 1990; Lima e Seuánez, 1991; Stanyon *et al.*, 1995; Consigliere *et al.*, 1996; De Oliveira *et al.*, 1998; Gifalli, 2003).

Alouatta seniculus, *A. arctoidea*, *A. stramineus*, *A. macconelli*, *A. insulanus*, *A. amazonica*, *A. jurua*, *A. puruensis* e *A. sara* (anteriormente consideradas subespécies de *A. seniculus*) são as únicas espécies de primata neotropical que apresentam cromossomos supranumerários (Lima *et al.*, 1990; Stanyon *et al.* 1995; Consigliere *et al.*, 1996, 1998), podendo ser conseqüência de uma grande modificação cariotípica que ocorreu neste grupo (Lima *et al.*, 1990). Os microcromossomos são cromossomos adicionais que, provavelmente, se originaram do complemento A (padrão) e seguem sua própria evolução, não constituindo elementos essenciais ao desenvolvimento. São responsáveis pela maior parte da variabilidade dos números diplóides,

sugerindo que contêm pouca, se alguma, informação genética essencial. A sua origem e significado não são conhecidos. Teoricamente, podem ser produzidos durante as translocações Robertsonianas, mas geralmente são perdidos depois. Sua presença nestes cariótipos poderia indicar uma origem recente destas espécies (Stanyon *et al.*, 1995; Consigliere *et al.*, 1996).

Os cromossomos sexuais de *Alouatta* contribuem para a diversidade cariotípica tanto intra quanto interespecificamente. Em vista dos diferentes tipos de translocações Y-autossomo observadas, assim como dos diferentes autossomos envolvidos, sugere-se que estes processos sejam mais recentes que a radiação do gênero (De Oliveira, 1996).

É necessário que se pense sobre o mecanismo que permitiu a persistência e extensão de um sistema múltiplo nesse gênero (Ma *et al.*, 1975; Armada *et al.*, 1987; Lima e Seuánez, 1989; Lima *et al.*, 1990; Lima e Seuánez, 1991; Mudry *et al.*, 1994; Stanyon *et al.*, 1995; Mudry *et al.*, 2001). Sugere-se que, em um *taxon* com alta plasticidade cromossômica como *Alouatta* deva existir uma vantagem seletiva em relação à presença deste sistema. Como a região de pareamento do par sexual primitivo nestes primatas é extremamente pequena e o cromossomo Y também, a aquisição de uma nova massa cromatínica pelo rearranjo do Y primitivo com um autossomo pode ter aumentado a estabilidade do pequeno Y ancestral durante o processo da meiose. Os cromossomos pequenos estão mais sujeitos a erros de segregação durante a divisão e uma forma de evitar tais erros, que levariam a esterilidade ou inviabilidade, pode ter ajudado na fixação do sistema sexual múltiplo nas diferentes espécies de bugios. Estudos ainda são necessários para buscar a fonte original deste sistema e de seu tempo aproximado na evolução dos *Platyrrhini* (Mudry *et al.*, 2001).

Uma incerteza permanece nas características e extensão dos sistemas múltiplos de cromossomos sexuais encontrados em *Alouatta* (Bonvicino *et al.*, 2001). Mudry *et al.* (2001) propuseram que os múltiplos

compartilham alguns componentes cromossômicos ou até são idênticos em determinadas espécies e subespécies, mas algumas variedades existem entre as espécies deste gênero. Os cromossomos X_1 , encontrados nestes sistemas sexuais, apresentam um padrão de bandamento *G* semelhante aos cromossomos *X* de outros *Platyrrhini*.

Em *A. caraya* e *A. palliata*, espécies separadas geograficamente e geneticamente (Meireles *et al.*, 1999a; Cortés-Ortiz *et al.*, 2003), os sistemas múltiplos sexuais são diferentes, embora compartilhem alguns componentes cromossômicos. Solari e Rahn (2005) confirmaram este dado através da pintura com sondas de cromossomos humanos que permitiram a definição dos segmentos do sistema múltiplo sexual de *A. caraya*. Dados meióticos e de FISH apontam que o múltiplo $X_1X_2Y_1Y_2$ de *A. caraya* (Rahn *et al.*, 1996; Mudry *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002) é o mesmo de *A. arctoidea*, *A. sara* (Consigliere *et al.*, 1996), *A. stramineus* (De Oliveira *et al.*, 1995) e *A. macconnelli* (De Oliveira *et al.*, 2002). Nestes casos, os elementos do múltiplo estão citologicamente definidos e os cromossomos X_2 e Y_2 são hibridados pelas sondas dos cromossomos 3 e 15 humanos. A única diferença é que o Y_1 de *A. caraya*, analisado por De Oliveira *et al.* (2002), foi marcado pelas sondas 3 e 15 humanas, sendo que este cromossomo parece marcado apenas pela sonda do 15 (Mudry *et al.*, 2001; Solari e Rahn, 2005). Rahn *et al.* (1996), Mudry *et al.* (2001), De Oliveira *et al.* (2002) e Solari e Rahn (2005) descartam a idéia de um sistema XY em *A. caraya*. A existência de polimorfismos no cromossomo *Y* desta espécie não pode ser descartada, uma vez que sua distribuição geográfica é muito ampla (Solari e Rahn, 2005).

De Oliveira *et al.* (2002) mostraram que em *A. guariba guariba* existe um múltiplo sexual relacionado e, provavelmente, derivado do quadrivalente encontrado nas quatro *taxa* acima descritas, com um rearranjo adicional na região distal do Y_1 que hibrida com a sonda total do cromossomo 1 humano e,

como consequência, tem-se a inclusão de um elemento X_3 . Comparações feitas a partir de cariótipos com bandas *G* mostraram que três pares autossômicos de *A. guariba* com $2n = 49, X_1X_2Y/50, X_1X_1X_2X_2$ estão ausentes nas populações com $2n = 45, X_1X_2Y/46, X_1X_1X_2X_2$ e que os cromossomos sexuais (neo-Y e X_2) derivaram de autossomos diferentes, ou seja, as translocações Y-autossomo que deram origem a estes sistemas de cromossomos sexuais devem ter ocorrido independentemente nestas duas populações (De Oliveira, 1996).

Os múltiplos sexuais trivalentes, diferentes do típico quadrivalente, foram encontrados em *Alouatta palliata* (Ma *et al.*, 1975; Solari e Rahn, 2005) e *A. belzebul belzebul* (Armada *et al.*, 1987). Em *A. belzebul*, o cromossomo Y parece translocado em um acrocêntrico médio, com tamanho, morfologia e padrão de bandamento *G* semelhante ao X_2 de *A. palliata* (Ma *et al.*, 1975; Solari e Rahn, 2005). Dados de pintura cromossômica em *A. belzebul* sugerem uma relação com *A. caraya*, já que o cromossomo X_2 hibrida com a sonda do 3 humano (Consigliere *et al.*, 1998). Em *A. belzebul belzebul* é descrito um múltiplo linear $X_1-Y_1-X_2$ formado por um elemento submetacêntrico, um acrocêntrico e outro acrocêntrico, respectivamente (Ma *et al.*, 1975; Solari e Rahn, 2005). O trivalente observado em *A. palliata* pode ter sido originado por um rearranjo de um sistema XY ancestral, com quebras simultâneas no braço curto de um primitivo cromossomo Y e na região proximal do braço longo de um autossomo acrocêntrico de tamanho médio, formando o elemento acrocêntrico Y_1 fusionado, ligeiramente maior que seu homólogo X_2 (Solari e Rahn, 2005).

Como os trivalentes de *A. palliata* e *A. belzebul belzebul* são os mais simples do gênero, pode-se assumir que são mais antigos do que o típico quadrivalente. A ampla presença do quadrivalente em diferentes espécies sugere que os múltiplos cromossomos sexuais se originaram nos primeiros estágios da evolução de *Alouatta*, porém as relações entre o típico

quadrivalente e os trivalentes precisam ser resolvidas (Solari e Rahn, 2005).

Um mecanismo de determinação sexual XX/XY foi mantido em *Alouatta fusca*, *A. caraya*, *A. palliata* e *A. seniculus* independentemente (Ma *et al.*, 1975; Yunis *et al.*, 1976; Mudry *et al.*, 1994; De Oliveira, 1996; Bonvicino *et al.*, 2001; Gifalli, 2003; Torres e Ramírez, 2003). É razoável assumir que os múltiplos sexuais sejam derivados de um sistema XY ancestral, embora diferente do XY de *Cebus* (Mudry *et al.*, 2001). A validação da presença deste sistema neste gênero necessita de mais evidências e a origem de uma translocação Y-autossomo relativamente ancestral (Mudry *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002) parece ser a hipótese mais parcimoniosa (Solari e Rahn, 2005).

Uma vez que *Alouatta* apresenta a maior variabilidade intragenérica da família *Atelidae*, os dados cariotípicos dos bugios são difíceis de serem analisados sem o uso da comparação com os cromossomos humanos, pois todos os caracteres são extremamente variáveis. No Quadro III estão os resultados das homeologias obtidas a partir da técnica de FISH com as sondas totais dos cromossomos humanos em metáfases de espécies e subespécies do gênero *Alouatta*, com a quantidade de sinais e o número de pares cromossômicos hibridados. Os microcromossomos, quando presentes nos cariótipos, não foram hibridados pelas bibliotecas dos cromossomos humanos, sugerindo que são compostos de DNA altamente repetitivo (Stanyon *et al.* 1995; Consigliere *et al.*, 1996); o mesmo motivo foi sugerido por Consigliere *et al.* (1998) em relação à biblioteca do cromossomo Y.

Quadro III - Hibridação das sondas dos cromossomos humanos com a quantidade de sinais e o número de pares de cromossomos que foram hibridados em espécies e subespécies de *Alouatta*.

SONDA TOTAL HUMANA	<i>Alouatta sara</i> (10)		<i>Alouatta belzebul</i> (53)		<i>Alouatta caraya</i> (16, 25) (*118)		<i>Alouatta macconnelli</i> (16) (*25)		<i>Alouatta guariba clamitans</i> (16, 25)		<i>Alouatta guariba guariba</i> (16) (*25)	
	Nº sinais	Nº pares	Nº sinais	Nº pares	Nº sinais	Nº pares	Nº sinais	Nº pares	Nº sinais	Nº pares	Nº sinais	Nº pares
1	8	4	8	4	8	4	8	4	8	3, Y ₁ , X ₃	8	3, X ₃ , (3,
2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2
3	8	2, X ₂ , Y ₂	8	3	6 (4*)	2, X ₂ , Y ₂	6	2, X ₂ , Y ₂	6	2, X ₂ , Y ₂	6	2, X ₂ , (2,
4	6	3	6	3	6	3	8 (6*)	4(3*)	4	2	4	2
5	6	3	2	1	4	1	4	2	4	2	4	2
6	2	1	2	1	2	1	4	2	2	1	2	1
7	2	1	4	2	6	2	6	2	6	2	6	2
8	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
10	6	3	6	2	6	2	6	2	6	3	6	3
11	4	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
12	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
13	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
14	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
15	6	2, X ₂ , Y ₁	6	3	6	2, X ₂ , Y ₁	6	2, X ₂ , Y ₁	6	2, X ₂ , Y ₁	6	2, X ₂ , (2,
16	6	3	6	2	6	2	4	2	6	3	6	3
17	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
18	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
19	2	1	2	1	2	1	4	2	2	1	2	1
20	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
21	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
22	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1
X	1	X ₁	1	X	1	X ₁	1	X ₁	1	X ₁	1	X ₁
Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = não apresentou sinal.

X₂ = cromossomo X₂.Y₂ = cromossomo Y₂.Y₁ = cromossomo Y₁.X ou X₁ = cromossomo X.X₃ = cromossomo X₃.

Referências bibliográficas (indicadas entre parênteses) - Quadro I, pág. 18 a 21.

Os dados disponíveis sobre as homeologias cromossômicas em várias espécies do gênero *Alouatta* facilitam a revelação da história da evolução cromossômica neste grupo, que é tão variável do ponto de vista citogenético.

Na tentativa de definir as associações sintênicas compartilhadas ou não pelas diferentes espécies e subespécies desse gênero que foram submetidas à técnica de FISH, os cariótipos dos bugios mapeados com o uso das sondas totais humanas, disponíveis na literatura, foram comparados e os resultados foram organizados na forma do Quadro IV. Cada segmento cromossômico de *Alouatta* marcado por mais de uma sonda cromossomo-específica humana foi definido como uma associação, que foi considerada duas a duas e denominada de acordo com a homeologia correspondente ao cromossomo humano.

As associações sintênicas homeólogas aos cromossomos HSA 3/21, HSA 4/15, HSA 8/18 e HSA 10/16 foram encontradas em todas as *taxa* do Quadro IV e, provavelmente, estavam presentes como cromossomos íntegros ou segmentos cromossômicos no ancestral que deu origem a essas espécies do gênero *Alouatta*.

Quadro IV - Associações de sintenias cromossômicas encontradas nas espécies e subespécies do gênero *Alouatta* que foram hibridadas com as sondas dos cromossomos humanos:

SINTENIA	<i>Alouatta sara</i> (10)	<i>Alouatta belzebul</i> (58)	<i>Alouatta caraya</i> (16, 25, 118)	<i>Alouatta macconnelli</i> (16, 25)	<i>Alouatta guariba clamitans</i> (16, 25)	<i>Alouatta guariba guariba</i> (16, 25)
1/2	-	+	-	-	-	-
1/4	+	-	-	-	-	-
1/5	-	-	+	-	-	-
1/6	-	-	-	+	-	-
1/8	-	-	-	-	-	-
1/11	-	-	-	-	-	-
1/14	-	-	-	-	+	+
1/15	+	-	-	-	-	-
1/20	+	-	-	+	-	-
1/22	-	-	-	+	-	-
2/4	+	-	-	+	+	+
2/8	-	-	-	-	-	-
2/11	-	-	-	-	+	-
2/12	-	-	-	-	-	-
2/17	-	-	-	-	-	-
2/20	-	+	+	-	-	-
3/8	+	-	-	-	-	-
3/15	+	-	+	+	+	+
3/21	+	+	+	+	+	+
4/10	-	-	-	+	-	-
4/15	+	+	+	+	+	+
4/16	-	+	+	-	-	-
5/7	-	+	+	+	+	+
5/8	+	-	-	-	-	-
5/11	+	+	-	-	-	-
6/15	-	-	-	-	+	+

7/8	-	-	-	+	-	-
7/14	-	-	-	+	-	-
7/15	-	-	-	-	+	+
8/17 (25)	-	-	-	-	+	+
8/18	+	+	+	+	+	+
9/12	-	+	-	-	+	-
9/22	-	-	+	-	-	-
10/16	+	+	+	+	+	+
10/17	-	-	-	-	-	-
10/19	+	-	-	-	-	-
10/22	-	-	-	-	+	+
11/16	-	-	-	+	-	-
11/17	+	-	-	-	-	-
13/19	-	-	-	+	-	-
14/15	-	+	+	+	+	+
14/18	-	-	-	-	-	-
15/16	+	-	-	-	-	-
15/22	-	+	-	-	-	-
17/18	-	-	-	-	+	+
19/22	-	-	-	+	-	-
20/22	+	-	-	-	-	-

- = ausência.

+ = presença.

Referências bibliográficas (indicadas entre parênteses) - Quadro I, pág. 18 a 21.

Consigliere *et al.* (1998) e De Oliveira *et al.* (2002) propuseram um cariótipo ancestral para *Alouatta* com um número diplóide de 62 cromossomos para explicar a evolução cariotípica em *A. arctoidea*, *A. sara*, *A. macconnelli*, *A. caraya*, *A. guariba*, *A. belzebul* e *A. caraya*. Seguindo a nomenclatura proposta por Neusser *et al.* (2001), este cariótipo seria constituído pelos homeólogos aos autossomos humanos: 1a₁, 1a₂, 1b, 1c, 2a, 2b, 3a/21, 3b, 4a, 4b/15a₂, 4c, 5a/7a, 5b, 6, 7b, 8a/18, 8b, 9, 16a/10a/16a/10a, 10b, 11, 12, 13, 14/15a₁, 16b, 17, 19, 20, 22 e um sistema múltiplo de cromossomos sexuais envolvendo X₁ (X), X₂ (3c/15b), Y₁ (Y/15b) e Y₂ (3c).

Uma maior integração e direcionamento dos dados morfológicos e citogenéticos disponíveis se faz necessário para o entendimento da variação e definição das *taxa* de forma mais objetiva (Gregorin, 2006).

ASSOCIAÇÕES SINTÊNICAS ANCESTRAIS

As associações sintênicas de segmentos homeólogos aos cromossomos humanos 3/21, 7/16, 12/22 e 14/15 são freqüentemente observadas em vários mamíferos, primatas e não-primatas (Dutrillaux *et al.*, 1986; Wienberg e Stanyon, 1995; Richard *et al.*, 1996; Wienberg e Stanyon, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998; Consigliere *et al.*, 1998; Richard e Dutrillaux, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998; Haig, 1999; García *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2001; Neusser *et al.*, 2001; Carbone *et al.*, 2002; Gifalli, 2003; Richard *et al.*, 2003; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004; Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a; Wienberg, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

A sintenia HSA 3/21 é detectada em Afrotheria, Xenarthra, Eulipotyphla, Carnivora, Pholidota, Cetartiodactyla, Perissodactyla, Scandentia, Chiroptera, Lagomorpha, Rodentia e em Primates (Haig, 1999; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007), com exceção dos macacos do Velho Mundo (Haig, 1999). Esta associação parece muito antiga, podendo ser encontrada no provável cariótipo ancestral de mamíferos placentários (Murphy *et al.*, 2001). Os cromossomos 3 e 21 se originaram de uma fissão desta sintenia após o ancestral comum de *Platyrrhini* e *Catarrhini* (Haig, 1999).

Parece provável que no ancestral comum dos gêneros *Cebus* e *Saimiri* uma inversão, no mínimo, foi produzida na associação HSA 14/15 (García *et al.*, 2002), já que *Cebus* apresenta um padrão de hibridação 14/15/14 e *Saimiri sciureus* 15/14/15/14/15, com duas inversões adicionais àquela observada em *Cebus* (Stanyon *et al.*, 2000). Estas inversões não foram observadas nos gêneros de *Platyrrhini* que apresentam cariótipos altamente derivados (García *et al.*, 2002), indicando o alto grau de instabilidade citogenética que esta região mostra em alguns gêneros, sendo mais susceptível a quebra e inversão (García *et al.*, 2002; Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a). Em *Alouatta sara* e *A. arctoidea*, estudados por Consigliere *et al.*

(1996), essa sintenia não foi encontrada. A fissão do cromossomo HSA 14/15 ocorreu antes dos grandes macacos divergirem dos gibões (Haig, 1999, Wienberg, 2005) e as morfologias ancestrais nos *Hominidae* são aquelas encontradas nos cromossomos homeólogos ao 14 e 15 em *Homo sapiens*, *Pan troglodytes* e *Pongo pygmaeus* (Müller e Wienberg, 2001) derivados pela fissão do cromossomo homeólogo de *Macaca*.

Algumas associações sintênicas são recorrentemente encontradas nos macacos do Novo Mundo, como as associações homeólogas aos cromossomos HSA 5/7, HSA 2/16, HSA 10/16 e HSA 18/8 (Consigliere *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Sherlock *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; García *et al.*, 2000; Richard *et al.*, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Neusser *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2001; Carbone *et al.*, 2002; García *et al.*, 2002; Barros *et al.*, 2003; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004), concordando com o provável cariótipo ancestral dos primatas neotropicais proposto por Stanyon *et al.* (2000) e Neusser *et al.* (2001). Porém, em *Aotus* as sintenias 2/16 e 10/16 não foram encontradas (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005b).

No caso da associação ancestral HSA 2/16, a perda da sintenia também foi observada em *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001) e no provável cariótipo ancestral de *Alouatta* (Consigliere *et al.*, 1996; De Oliveira *et al.*, 2002). A separação desta associação nessas três linhagens filogenéticas diferentes indica convergência de eventos de fissões independentes (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005b). No mínimo, uma inversão no segmento ancestral 2b/16b foi descrita em *Saimiri sciureus*, *Callicebus moloch* e *Ateles* (16b/2b/16b/2b). A existência destas inversões em ramos diferentes de *Platyrrhini* também pode representar convergência, indicando que esta região apresenta um alto grau de instabilidade citogenética e, portanto, é mais susceptível a quebra (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a).

A associação homeóloga aos cromossomos HSA 4/15 é um traço derivado que liga as espécies da família *Atelidae* (Consigliere *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Stanyon *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; García *et al.*, 2002) e que também foi observada em espécimes de *Aotus* analisados por Ruiz-Herrera *et al.* (2005b).

Outras associações estão presentes na subfamília *Callitrichinae*, como as homeólogas aos cromossomos HSA 9/22/13 e HSA 20/17/13 (Sherlock *et al.*, 1996; Neusser *et al.*, 2001; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004; Dumas *et al.*, 2007). Os resultados de pintura cromossômica mostram que estas sintenias têm pontos de quebra idênticos e são completamente homeólogas em todas as espécies (Dumas *et al.*, 2007). A associação sintênica homeóloga aos cromossomos humanos 2 e 15 também foi encontrada em *Callitrichinae* com exceção de *Callimico goeldi*, podendo ter ocorrido após a divergência de *Callimico* ou uma fissão reversa ocorreu nesta linhagem (Gerbault-Serreau *et al.*, 2004; Dumas *et al.*, 2007). Esta sintenia também foi observada em espécies de *Saimiri* (Stanyon *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 2001; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004; Dumas *et al.*, 2007), indicando sua origem ancestral e favorecendo a hipótese de uma fissão na linhagem que deu origem a *Callimico goeldi* (Gerbault-Serreau *et al.*, 2004). A pintura recíproca também mostra que os segmentos que formam a associação HSA 2/15 são homeólogos (Dumas *et al.*, 2007).

No gênero *Ateles*, as associações sintênicas de segmentos homeólogos aos cromossomos humanos 1/2, 1/4, 1/6, 1/7, 1/14, 2/3, 2/10, 3/6, 3/7, 4/7, 9/18, 12/15 e 19/20 parecem derivadas. Por outro lado, o gênero *Cebus* não apresenta qualquer associação diferente das encontradas no ancestral hipotético de *Platyrrhini*, confirmando que as espécies de *Cebus* apresentam um cariótipo conservado com relação ao ancestral de *Platyrrhini* e as de *Ateles* mostram cariótipos altamente derivados (García

et al., 2002).

As sintenias homeólogas aos cromossomos HSA 7/15, HSA 22/2/22, HSA 19/12, HSA 9/7/5/7/5 e HSA 10/11 são exclusivamente identificadas no gênero *Callicebus*. Destas, duas (9/7/5/7/5 e 19/12) não foram descritas para *C. moloch* por Stanyon *et al.* (2001) (Barros *et al.*, 2003). A associação 10/11, provavelmente ancestral para todos os *Callicebus* (Stanyon *et al.*, 2003b), também foi observada em *Aotus*. Os fragmentos envolvidos paracem os mesmos e, portanto, a sintenia 10/11 pode ser considerada uma marca que relaciona filogeneticamente *Aotus* e *Callicebus* (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005b).

A associação sintênica homeóloga aos cromossomos HSA 1/3 encontrada em *Callicebus lugens* (Stanyon *et al.*, 2003b), *Aotus nancymai*, *A. sp.* (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005b) e *Callimico goeldi* (Neusser *et al.*, 2001) parece não apresentar o mesmo segmento homeólogo ao cromossomo 3 e, desta maneira, as translocações não podem ser resultantes do mesmo evento. A sintenia homeóloga aos cromossomos humanos 2 e 12 também está presente em *Callicebus lugens* (Stanyon *et al.*, 2003b) e *Aotus*, porém não há informação suficiente para definir os segmentos envolvidos (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005b).

HISTÓRIA DOS CROMOSSOMOS HUMANOS

CROMOSSOMO 1:

A maioria das investigações por Zoo-FISH mostra dois ou três segmentos conservados para esse cromossomo humano. Dois cromossomos são homeólogos em *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997), *Mustela vison* (Hameister *et al.*, 1997), *Sorex araneus* (Dixkens *et al.*, 1998), *Sciurus carolinensis* (Stanyon *et al.*, 2003a) e *Oryctolagus cuniculus* (Korstanje *et al.*, 1999). Três cromossomos estão marcados em *Hylobates syndactylus* (Koehler *et al.*, 1995a), *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996), *C. nigrivittatus* (García *et al.*, 2002), *C. apella* (García *et al.*, 2000), *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001), *Eulemur fulvus mayottensis* (Müller *et al.*, 1997), *Lemur catta* (Cardone *et al.*, 2002), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Equus caballus* (Yang *et al.*, 2004), *Muntiacus muntjak vaginalis* (Yang *et al.*, 1997a) e *Bos taurus* (Hayes, 1995).

Um único homeólogo foi descrito em *Pan troglodytes*, que se diferencia do cromossomo 1 humano por uma inversão pericêntrica (Frönicke, 2005), *Gorilla gorilla*, *Pongo pygmaeus* (Jauch *et al.*, 1992), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998), *Macroscelides proboscideus* (Svartman *et al.*, 2004), *Orycteropus afer* (Yang *et al.*, 2003), *Choloepus hoffmanii* (Svartman *et al.*, 2006) e *Balaenoptera borealis* (Murphy *et al.*, 2003). Os sinais aparecem em quatro cromossomos em *Talpa europaea* (Volleth e Müller, 2006), *Loxodonta africana* (Frönicke *et al.*, 2003), *Hylobates lar*, *H. moloch*, *H. klossii* (Jauch *et al.*, 1992), *H. concolor* (Koehler *et al.*, 1995b), *Ateles geoffroyi* (Morescalchi *et al.*, 1997) e *Alouatta seniculus* (Consigliere *et al.*, 1996). Cinco cromossomos são hibridados em *Sus scrofa* (Rettenberger *et al.*, 1995) e sete em *Canis familiaris* (Breen *et al.*, 1999), sugerindo uma fusão

mais recente dos segmentos cromossômicos [revisão em Haig (1999) e Frönicke (2005)].

Os segmentos ortólogos ao HSA 1 apresentam limites diferentes em alguns dos mamíferos analisados (Haig, 1999; Murphy *et al.*, 2003). A explicação mais parcimoniosa para os múltiplos pontos de quebra/fusão em HSA 1q21→q23 juntamente com a presença de um único homeólogo em diferentes ordens euterianas (Frönicke, 2005), é a origem dos cromossomos homeólogos por fissões independentes de um único ortólogo ao HSA 1 ancestral (Haig, 1999; Frönicke, 2005). No mínimo, oito pontos de quebra evolutivos mapeiam HSA 1q21→q23 e representam o primeiro exemplo de uma "hot region" para rearranjos cromossômicos euterianos, além dos centrômeros (Frönicke, 2005).

É provável que o ancestral comum de Carnivora e Cetartiodactyla possua um cromossomo que combina *loci* dos cromossomos 1 e 10 humanos, uma vez que as sondas destes cromossomos hibridam o cromossomo 2 de *Mustela vison*, os cromossomos 10 e 14 de *Sus scrofa*, o cromossomo m4 de *Phoca vitulina* e o cromossomo D2 de *Felis cattus*, além de um cromossomo em *Canis familiaris* e um em *Bos taurus*. As ordens Rodentia e Lagomorpha também estão filogeneticamente ligadas por um rearranjo envolvendo as regiões homeólogas destes cromossomos humanos (Haig, 1999; Stanyon *et al.*, 2003a), concordando com a árvore filogenética proposta por Eizirik *et al.* (2001). A presença de um cromossomo em *Hylobates concolor*, *Colobus guereza* e *Callithrix jacchus* marcado pelas sondas dos cromossomos humanos 1 e 10 parece representar três eventos independentes, já que esta associação não foi detectada em nenhum outro primata (Haig, 1999).

A associação dos homeólogos ao cromossomo 1 e braço curto (p) do cromossomo 19 humanos, detectada em quatro espécies de Afrotheria (*Orycteropus afer*, *Loxodonta africana*, *Elephas maximus* e *Macroscelides*

proboscideus) (Yang *et al.*, 2003), também foi encontrada em *Otolemur crassicaudatus* e *Presbytis cristata*. Porém, o cariótipo de *Otolemur* é altamente rearranjado com relação aos outros primatas e os segmentos homeólogos a estes cromossomos humanos podem não corresponder às mesmas regiões de Afrotheria. A presença da sintenia 1/19 em Afrotheria e Primates não é suficiente para a sua inclusão no cariótipo ancestral euteriano, uma vez que pode representar convergência (Wienberg, 2005). Porém, esta sintenia foi observada em tamanduá (Edentata), o que sugere que seja um representante do genoma ancestral euteriano (Yang *et al.*, 2006).

CROMOSSOMO 2:

Os dados de Zoo-FISH mostram dois segmentos homeólogos ao HSA 2 que delineiam as mesmas sintenias conservadas e conhecidas para *Pan troglodytes* em *Gorilla gorilla*, *Pongo pygmaeus* (Jauch *et al.*, 1992), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Alouatta seniculus* (Consigliere *et al.*, 1996), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996), *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001), *Eulemur fulvus mayottensis* (Müller *et al.*, 1997), *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998), *Sus scrofa* (Rettenberger *et al.*, 1995), *Bos taurus* (Hayes, 1995), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Mustela vison* (Hameister *et al.*, 1997), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997), *Tupaia belangeri* (Müller *et al.*, 1999), *Sciurus carolinensis* (Stanyon *et al.*, 2003a), *Menetes berdmorei* (Richard *et al.*, 2003), *Oryctolagus cuniculus* (Korstanje *et al.*, 1999) e *Orycteropus afer* (Yang *et al.*, 2003).

Os resultados concordam com dois cromossomos boreo-euterianos ancestrais ortólogos a HSA 2pter→q21.3 (2pq) e HSA 2q21.3→qter (2q)

(revisão em Frönicke, 2005). O HSA 2 foi criado durante a evolução dos *Hominidae*, após a divergência de chimpanzés e humanos (Haig, 1999), pela fusão telômero-telômero destes dois cromossomos ancestrais e inativação de um dos centrômeros, resultando na diferença do número cromossômico entre humanos ($2n = 46$) e grandes macacos ($2n = 48$) (Wienberg *et al.*, 1994). A origem deste cromossomo foi confirmada pela detecção de repetições intersticiais teloméricas em HSA 2q21.3 (Frönicke, 2005).

A presença de um único ortólogo do HSA 2 em *Sorex araneus* é devida a um evento de fusão convergente (Dixkens *et al.*, 1998). Em *Mustela vison*, os dois homeólogos ao cromossomo 2 humano representam exatamente os dois braços cromossômicos (Hameister *et al.*, 1997), provavelmente devido a um rearranjo entre os ortólogos ancestrais ou por um erro técnico (revisão em Frönicke, 2005).

Uma associação entre o segmento homeólogo ao 2pq humano e o ortólogo do HSA 20 foi observada em *Mus musculus*, *Felis cattus*, *Phoca vitulina* e *Mustela vison*. A sentença deste mesmo segmento do HSA 2 com o homeólogo do cromossomo 9 humano está presente em *Bos taurus* e *Mus musculus*, mas provavelmente representa sentença compartilhada coincidente, já que nenhuma evidência desta associação foi encontrada em outros ferungulados (Haig, 1999). Os homeólogos aos cromossomos 2 e 8 humanos foram vistos em associação em espécies de *Xenarthra*, *Eulipotyphla* e *Pholidota* (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMOS 3 E 21:

A associação dos homeólogos aos cromossomos HSA 3 e 21 é considerada o bloco sintênico mais amplamente conservado e foi encontrada em todas as ordens euterianas analisadas, indicando que é um caráter

ancestral compartilhado (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). A presença de uma sintenia dos ortólogos inteiros do HSA 3/21 em *Cetartiodactyla*, *Carnivora*, *Primates* e *Tubulidentata* (membro do provável clado mais antigo *Afrotheria*) caracteriza esta associação como um cromossomo ancestral euteriano (Rettenberger *et al.*, 1995; Hameister *et al.*, 1997; Wienberg e Stanyon, 1997; Chowdhary *et al.*, 1998; Richard e Dutrillaux, 1998; Volleth *et al.*, 2002; Frönicke *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2003).

A sintenia 3/21 foi mantida em lêmures, e nos macacos do Novo Mundo esta associação conserva a sintenia inteira do homeólogo ao cromossomo 21 humano e um pequeno segmento do 3 (Richard e Dutrillaux, 1998; Wienberg e Stanyon, 1998). As sondas totais dos cromossomos 3 e 21 humanos hibridam em diferentes cromossomos de *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Pygathrix nemaeus* (Bigoni *et al.*, 2004), *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Hylobates lar* (Jauch *et al.*, 1992), *H. concolor* (Koehler *et al.*, 1995b), *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* e *Pan troglodytes* (Jauch *et al.*, 1992), inclusive com a trissomia do cromossomo 21 descrita em orangotango e chimpanzé (Ried *et al.*, 1993; Richard e Dutrillaux, 1998). Os resultados obtidos com a pintura cromossômica identificam a fissão da sintenia 3/21 como uma marca genômica para a origem dos primatas do Velho Mundo e humanos, depois da divergência de *Platyrrhini* e *Catarrhini* e antes da emergência dos *Cercopithecidae*, há cerca de 30 a 50 milhões de anos, mostrando que fissões envolvendo pontos de quebra diferentes ocorreram nestes ramos (Richard *et al.*, 1996; Richard e Dutrillaux, 1998; Threadgill e Womack, 1991; Threadgill *et al.*, 1991; Haig, 1999).

O grupo homeólogo aos cromossomos HSA 3/21 também foi diferentemente fragmentado em linhagens como *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998), *Bos taurus* (Hayes, 1995)

e *Tupaia belangeri* (Müller *et al.*, 1999), porém a sintenia inteira do HSA 21 está conservada em todas as espécies estudadas, com exceção de *Loxodonta africana* (Ried *et al.*, 1993; Richard e Dutrillaux, 1998; Frönicke *et al.*, 2003).

Associações dos homeólogos aos cromossomos humanos 5/21 e 3/20 foram encontradas em Afrotheria, indicando que estas espécies compartilham caracteres derivados que surgiram em um ancestral imediato deste grupo (Yang *et al.*, 2003; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMO 4:

Uma associação dos ortólogos dos cromossomos HSA 4 e 8 é observada na maioria das ordens de mamíferos estudadas e, portanto, pode fazer parte do provável cariótipo euteriano ancestral. Esta sintenia está rompida em algumas espécies, seja pela não identificação por problemas técnicos ou pela presença de "hotspots" de rearranjos na junção dos segmentos homeólogos a estes cromossomos (Frönicke, 2005), como das ordens Primates e Scandentia que estão ligadas por uma translocação que separou a associação ancestral 4/8p (Müller *et al.*, 1999). Nos *Atelidae*, o homeólogo ao HSA 4 está fragmentado em três cromossomos diferentes, mostrando que esta família está ligada pela quebra desta sintenia que provavelmente foi produzida no seu ancestral (García *et al.*, 2002). Rearranjos complexos são necessários para explicar o surgimento dos cromossomos 4 e 8 humanos (Frönicke, 2005).

A extensão da associação 4/8 para 2/8/4 foi encontrada em espécies de Afrotheria e em Pholidota, mas os experimentos de pintura cromossômica recíproca mostraram que os segmentos homeólogos ao HSA 2 eram diferentes, indicando a ocorrência de convergência nestes grupos que

evoluíram independentemente. Os ortólogos dos cromossomos 4 e 20 humanos foram encontrados associados nas espécies de Eulipotyphla até agora analisadas (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMOS 5, 6, 9, 11, 13, 17, 18 E 20:

Para os homeólogos desses cromossomos humanos, sintenias inteiramente conservadas foram observadas em, no mínimo, cinco das onze ordens euterianas analisadas, como em *Orycteropus afer*, provável clado euteriano mais antigo (Afrotheria, Tubulidentata), onde os ortólogos de todos esses cromossomos humanos estão fusionados a segmentos homeólogos de outros cromossomos. Em Proboscidae, uma segunda ordem afrotheriana analisada, esses ortólogos são encontrados tanto separados quanto fusionados em diferentes combinações (Yang *et al.*, 2003). Desta maneira, sintenias mantidas para esses cromossomos humanos são consideradas no provável ancestral boreo-euteriano, conservadas como entidades separadas desde as primeiras radiações euterianas (Frönicke, 2005).

Eder *et al.* (2003) mostraram que a conservação do HSA 6 também é observada em nível sub-cromossômico, embora eventos de realocação evolutiva centromérica foram observados. Um destes eventos pode ter ocorrido no ancestral dos grandes macacos, onde duplicações intracromossômicas foram encontradas e explicadas como remanescentes de duplicons que flanqueavam o centrômero ancestral inativo.

CROMOSSOMO 7:

A maioria das investigações por Zoo-FISH com sondas humanas mostram dois segmentos conservados homeólogos ao HSA 7. O maior dos segmentos (7a), que corresponde as regiões p21→q11.21, q11.23→q21.3 e q22.1→qter, é encontrado como um único cromossomo em Cetartiodactyla, Carnivora e Chiroptera. Em várias ordens de mamíferos (Chiroptera, Cetacea, Artiodactyla, Perissodactyla, Insectivora, Pholidota, Rodentia, Lagomorpha, Edentata, Macroscelidea, Proboscidea, Sirenia, Afrosoricida, Carnivora, Scandentia e Primates) (Murphy *et al.*, 2001; Frönicke, 2005; Ferguson-Smith e Trifonov, 2007), o segmento menor (7b) encontra-se associado ao homeólogo do HSA 16, com exceção de *Sorex araneus* (Dixkens *et al.*, 1998), *Tupaia belangeri* (Müller *et al.*, 1999), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997) e *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), o que caracteriza esta sintenia como um provável cromossomo ancestral euteriano e de primatas (PRA - ancestral de primatas), assim como o cromossomo 7a. As regiões envolvidas nesta associação são: 16p e 7pter→p22, 7q11.21→q11.23 e 7q21.3→q22.1 (Murphy *et al.*, 2001; Frönicke, 2005).

Uma fissão do cromossomo ancestral 7b/16p deve ter ocorrido após a divergência de prosímios e símios (Müller *et al.*, 2004). Em *Platyrrhini*, esta fissão deu origem a um fragmento 7b que está fusionado a segmentos homeólogos do cromossomo 5 humano, formando a associação sintênica 5/7b, considerada ancestral nos primatas neotropicais (Stanyon *et al.*, 2000; Neusser *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; García *et al.*, 2002; Barros *et al.*, 2003; De Oliveira *et al.*, 2005). A separação dos macacos do Novo Mundo e dos primatas do Velho Mundo foi seguida por uma fusão dos dois fragmentos cromossômicos homeólogos ao 7 humano (Jauch *et al.*, 1992; Wienberg *et al.*, 1992; Bigoni *et al.*, 1997a, b; Richard e Dutrillaux, 1998; Müller *et al.*, 2000, 2003; Bigoni *et al.*, 2004). No mínimo, duas inversões ocorreram no ortólogo do cromossomo 7 humano

(Yunis e Prakash, 1982; Borowik, 1995): uma pericêntrica, com os pontos de quebra em 7p22.1 e 7q22.1, que diferencia os homeólogos de orangotango e gorila, e outra paracêntrica, com os pontos de quebra em 7q11.23 e 7q22.1, pela qual os homeólogos de chimpanzé e humano são derivados daquele encontrado em gorila (Müller *et al.*, 2004).

CROMOSSOMO 8:

Os mapas de Zoo-FISH mostram dois segmentos homeólogos ao HSA 8, ortólogos aos braços cromossômicos, em quase todas as espécies analisadas, com exceção de *Canis familiaris* com uma fissão adicional que separou o ortólogo de 8q (Breen *et al.*, 1999), *Bos taurus* (Hayes, 1995) também com três homeólogos e *Pan troglodytes*, *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* (Jauch *et al.*, 1992), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a) e *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b) com um único cromossomo homeólogo, que deve ter se originado pela fusão de 8p e 8q após o ancestral comum dos macacos do Velho Mundo e do Novo Mundo e antes da divergência dos primatas do Velho Mundo e grandes macacos (Haig, 1999).

O homeólogo ao HSA 8p está associado ao ortólogo do HSA 4 na maioria das ordens estudadas (vide Cromossomo 4). A presença de sintenias conservadas homeólogas ao HSA 8q em *Orycteropus afer* (Yang *et al.*, 2003) e em muitas outras espécies, identifica 8q como boreo-euteriano ancestral e, mais provavelmente, como um cromossomo ancestral euteriano (Frönicke, 2005). A associação de regiões homeólogas aos cromossomos 8 e 13 humanos representa uma ligação filogenética de grupo-irmão para as ordens Chiroptera e Eulipotyphla (Volleth e Müller, 2006), enquanto uma

sintenia de regiões ortólogas aos cromossomos 12 e 8 foi observada apenas em Rodentia (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMO 10:

Dois segmentos homeólogos ao HSA 10, ortólogos aos braços cromossômicos, foram observados nos mapas de Zoo-FISH em quase todas as espécies de mamíferos analisadas (Frönicke, 2005), com exceção de *Canis familiaris* com uma fissão adicional em 10q (Breen *et al.*, 1999) e de *Pan troglodytes*, *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* (Jauch *et al.*, 1992), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997) e *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998) que apresentam um único cromossomo homeólogo, sugerindo que um equivalente ao HSA 10 estava presente no ancestral comum de humanos e macacos do Velho Mundo (Haig, 1999). A presença da sintenia conservada homeóloga ao HSA 10q em *Orycteropus afer* (Yang *et al.*, 2003) e em muitas outras espécies, identifica este cromossomo como boreo-euteriano ancestral e, mais provavelmente, como ancestral euteriano (Frönicke, 2005).

No ancestral comum de Primates/Scandentia, uma fusão desses dois segmentos deu origem ao cromossomo PRA 10 (Frönicke, 2005) que era sugerido como dois homeólogos euterianos, já que dois segmentos conservados são constantemente encontrados em primatas do Novo Mundo e em lêmures (Carbone *et al.*, 2002). Porém, a detecção de um único homeólogo em *Otolemur crassicaudatus* e *Galago moholi* (Stanyon *et al.*, 2002) torna a fissão no centrômero do PRA 10 em macacos do Novo Mundo a explicação mais parcimoniosa, ao invés de fusões independentes dos dois segmentos ortólogos ao 10 em prosímios e *Catarrhini*. Dúvidas existem com relação ao ortólogo de HSA 10, se é derivado de um ou dois homeólogos no

ancestral de primatas (Frönicke, 2005). Uma associação dos homeólogos aos cromossomos 7 e 10 humanos foi encontrada em espécies de Xenarthra (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMOS 12 E 22:

Duas associações sintênicas homeólogas aos cromossomos HSA 12 e 22 foram descritas para todos os mamíferos não-primatas analisados (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007), exceto para *Sorex araneus* que não apresenta esta associação (Dixkens *et al.*, 1998) e para *Oryctolagus cuniculus* (Korstanje *et al.*, 1999), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997) e *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997) que tem apenas uma. Estas sintenias definem dois cromossomos ancestrais (Haig, 1999): o menor identificado como homeólogo a 12q distal e 22 proximal (12b/22b) e o maior compreendendo as outras partes dos dois cromossomos (12a/22a) (Frönicke, 2005). Prosímios e Scandentia também apresentam duas associações sintênicas destes cromossomos humanos. Porém, nestes clados os segmentos conservados estão agrupados em diferentes combinações, indicando uma translocação recíproca entre os ortólogos de HSA 12a/22a e HSA 12b/22b no ancestral comum de primatas e tupaia (Müller *et al.*, 1999), dando origem aos cromossomos PRA 12a/22b e PRA 12b/22a (Frönicke, 2005).

Em *Ateles geoffroyi* (Morescalchi *et al.*, 1997), *A. belzebuth hybridus* (García *et al.*, 2002), *Alouatta seniculus* (Consigliere *et al.*, 1996), *A. macconnelli* (De Oliveira *et al.*, 2002), *Lagothrix lagothricha* (Stanyon *et al.*, 2001), *Brachyteles arachnoides* (De Oliveira *et al.*, 2005), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996), *Callicebus donacophilus pallescens* (Barros *et al.*, 2003), *Callithrix jacchus*, *Callimico goeldii* (Neusser *et al.*, 2001),

Saimiri sciureus (Stanyon *et al.*, 2000), *Cercopithecus aethiops* (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Pygathrix nemaeus* (Bigoni *et al.*, 2004), *Trachypithecus francoisi* (Nie *et al.*, 1998), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Hylobates lar*, *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* e *Pan troglodytes* (Jauch *et al.*, 1992), as sondas de HSA 12 e 22 marcam em diferentes cromossomos, evidenciando a presença de uma translocação recíproca entre PRA 12a/22b e PRA 12b/22a que pode ter ocorrido depois da divergência de humanos e lêmures e antes da separação de humanos e primatas do Novo Mundo (Haig, 1999).

A sintenia do homeólogo ao HSA 12 parece rompida em *Ateles* e *Callicebus moloch*, podendo este último ser convergência. Seria importante confirmar se os dois segmentos ortólogos ao HSA 12 são os mesmos nestes dois gêneros, através da pintura recíproca de *Ateles* e *Callicebus* ou com sondas subcromossômicas (García *et al.*, 2002).

A descoberta da associação estendida HSA 10pq/12a/22a no cariótipo de espécies de Afrotheria, Euarchontoglires e Carnivora (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007) sugere que esta possa ser a forma euteriana ancestral (Yang *et al.*, 2003). Os dados de seqüenciamento sugerem os cromossomos ancestrais com a seguinte ordem de segmentos conservados, do telômero do braço curto ao telômero do braço longo: HSA 10pter→qperic/12pter→q23.3/22q12.3→qter (10pq/12a/22a) e 22q11.2→q12.3/12q23.3→qter (12b/22b). Outras associações sintênicas que podem estar relacionadas e envolvem diferentes combinações foram observadas em *Equus caballus* (HSA 12/10/22) (Yang *et al.*, 2004) e *Sus scrofa* (HSA 10/22/12) (Rettenberger *et al.*, 1995).

CROMOSSOMOS 14 E 15:

A associação sintênica de segmentos homeólogos aos cromossomos 14 e 15 humanos é considerada ancestral para todos os mamíferos e uma marca evolutiva importante (Ruiz-Herrera *et al.*, 2005a). Foi encontrada em todos os estudos de Zoo-FISH, com exceção de *Canis familiaris* (Breen *et al.*, 1999), *Ailuropoda melanoleuca* (Nash *et al.*, 1998), *Alouatta sara* e *A. arctoidea* (Consigliere *et al.*, 1996). Na maioria dos casos, esta associação envolve sintenias conservadas dos cromossomos inteiros (Frönicke, 2005). Portanto, os dois cromossomos humanos claramente representam um único cromossomo euteriano ancestral (Chowdhary *et al.*, 1998). Ambas as sondas WCP 14 e WPC 15 hibridam dois cromossomos de *Bos taurus* (Hayes, 1995) e *Sus scrofa*, o que seria explicado por uma translocação recíproca. Na linhagem de porco, esta translocação também envolve segmentos homeólogos ao HSA 6 (Rettenberger *et al.*, 1995). Uma associação envolvendo os ortólogos dos cromossomos 15 e 20 humanos foi encontrada em Roedores (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

Nos macacos do Novo Mundo, o homeólogo ao HSA 14 conservou a sintenia para o cromossomo inteiro enquanto o homeólogo ao HSA 15 está fragmentado (Clemente *et al.*, 1990; Seuánez *et al.*, 1994; Consigliere *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Morescalchi *et al.*, 1997; Consigliere *et al.*, 1998; García *et al.*, 1999, 2000; Stanyon *et al.*, 2000; Mudry *et al.*, 2001; Müller *et al.*, 2001; Neusser *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 2001; De Oliveira *et al.*, 2002; García *et al.*, 2002; Barros *et al.*, 2003; Stanyon *et al.*, 2003b; Gerbault-Serreau *et al.*, 2004). Já, estas sondas marcam em cromossomos diferentes de *Hylobates concolor* (Koehler *et al.*, 1995b), *H. lar* (Jauch *et al.*, 1992), *H. syndactylus* (Koehler *et al.*, 1995a), *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* e *Pan troglodytes* (Jauch *et al.*, 1992), mostrando que uma fissão

ocorreu na linhagem que levou a gibão e aos grandes macacos (Haig, 1999; Wienberg, 2005).

Romagno *et al.* (2000) propuseram duas hipóteses para a evolução dos cromossomos 14 e 15 nos *Hominoidea*. Começando do cromossomo 7 de *Macaca*, homeólogo ao HSA 14 e HSA 15, uma inversão pericêntrica deu origem a um cromossomo metacêntrico com todo o material genético relacionado ao cromossomo 15 no braço curto e o material relacionado ao 14 no braço longo. Uma fissão criou dois cromossomos acrocêntricos homeólogos aos cromossomos humanos 14 e 15. Uma hipótese alternativa assume uma fissão no braço longo do homeólogo ao 14 e 15 humanos, entre os domínios do 15 e 14, uma ativação centromérica e transposição da área do centrômero para o final do braço curto. A ativação centromérica e a transposição são eventos raros, tornando esta hipótese menos provável que a primeira. Ventura *et al.* (2003) acreditam que a explicação mais parcimoniosa é um evento de fissão cromossômica que desfez a associação HSA 14/15 no ancestral comum dos grandes macacos, gerando dois cromossomos distintos, com uma desativação do centrômero ancestral e o surgimento de dois novos centrômeros nos produtos da fissão que levaram aos cromossomos 14 e 15 humanos.

Um dado interessante é que um segmento do cromossomo 15 humano, 15q11-q13, está sujeito ao mecanismo de "imprinting" genômico, que é a expressão diferencial dos genes conforme sua origem parental, e o cromossomo humano 14q32 também, além de possuir várias características de seu genoma comuns às do segmento cromossômico 15q imprintado [revisão em Fridman e Koiffmann (2000); Cavaillé *et al.*, 2002].

CROMOSSOMO 16:

A sonda do cromossomo 16 humano hibrida em um cromossomo de *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Pongo pygmaeus*, *Gorilla gorilla* e *Pan troglodytes* (Jauch *et al.*, 1992) e em dois cromossomos de *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Ateles geoffroyi* (Morescalchi *et al.*, 1997), *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996), *Eulemur fulvus mayottensis* (Müller *et al.*, 1997), *Sorex araneus* (Dixkens *et al.*, 1998), *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998), *Equus caballus* (Yang *et al.*, 2004), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997), *Mustela vison* (Hameister *et al.*, 1997), *Bos taurus* (Hayes, 1995) e *Sus scrofa* (Rettenberger *et al.*, 1995). Um equivalente do cromossomo 16 humano provavelmente estava presente no ancestral comum dos macacos do Velho Mundo e grandes macacos, mas ausente no ancestral comum de *Platyrrhini* e *Catarrhini* (Haig, 1999).

Em *Eulemur*, os dois cromossomos pintados por essa sonda não apresentam sintenia com outros cromossomos humanos (Müller *et al.*, 1997). Em quatro espécies de *Platyrrhini* [*Ateles geoffroyi* (Morescalchi *et al.*, 1997), *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996) e *Alouatta seniculus* (Consigliere *et al.*, 1996)], uma sintenia dos homeólogos ao HSA 10 e HSA 16p foi observada, sendo considerada ancestral para *Platyrrhini* (Haig, 1999; Misceo *et al.*, 2003). Porém, esta associação não foi encontrada em nenhuma das espécies supracitadas, com exceção de *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997) onde é provável que seja independentemente derivada (Haig, 1999). A história evolutiva do HSA 16q nos macacos do Novo Mundo é mais complexa, uma vez que em *Callithrix jacchus* é um cromossomo acrocêntrico separado e em *Saimiri sciureus* e *Callicebus moloch* está fusionado com seqüências correspondentes a uma região do HSA 2 (Misceo *et al.*, 2003).

A associação dos segmentos ortólogos aos cromossomos 16 e 19 humanos é universal em euterianos não-primatas, com exceção de *Canis familiaris* (Breen *et al.*, 1999) e *Mus musculus*. Porém, existe um bloco sintênico no cromossomo 8 de camundongo que indica uma ligação entre a região subcentromérica de HSA 16q e o braço curto de HSA 19 em p13.2. Este segmento é de apenas 1,6 Mb e, portanto, abaixo do limite de resolução da Zoo-FISH. Os dados de pintura cromossômica identificam um único cromossomo ancestral que corresponde aos braços longos dos cromossomos HSA 16 e 19. No ancestral comum de Primates/Scandentia, uma fissão da sintenia ancestral 16q/19q deu origem aos cromossomos 16q e 19q do cariótipo ancestral de primatas (Frönicke, 2005).

CROMOSSOMO 19:

A sonda do cromossomo 19 humano hibrida um único cromossomo em *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla*, *Pongo pygmaeus* (Jauch *et al.*, 1992), *Macaca fuscata* (Wienberg *et al.*, 1992), *Ateles geoffroyi* (Morescalchi *et al.*, 1997), *Alouatta seniculus* (Consigliere *et al.*, 1996), *Cebus capucinus* (Richard *et al.*, 1996) e *Callithrix jacchus* (Neusser *et al.*, 2001) e marcam dois cromossomos de *Colobus guereza* (Bigoni *et al.*, 1997b), *Presbytis cristata* (Bigoni *et al.*, 1997a), *Eulemur fulvus mayottensis* (Müller *et al.*, 1997), *Bos taurus* (Hayes, 1995), *Sus scrofa* (Rettenberger *et al.*, 1995), *Tursiops truncatus* (Bielec *et al.*, 1998), *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997), *Mustela vison* (Hameister *et al.*, 1997) e *Equus caballus* (Yang *et al.*, 2004). Um homeólogo ao HSA 19 provavelmente estava presente no ancestral comum dos macacos do Velho Mundo e do Novo Mundo, mas os *loci* de 19p e 19q não estão ligados na maioria das outras espécies (Haig, 1999).

A sintonia dos homeólogos aos cromossomos 5 e 19 humanos proporciona uma ligação filogenética para a ordem Cetartiodactyla. Esta associação pode ser uma sinapomorfia específica para Euungulata, que compreende Cetartiodactyla e Perissodactyla (Frönicke, 2005), porém não foi encontrada em *Equus zebra* embora tenha sido relatada em *E. caballus* e *E. asinus* (Yang *et al.*, 2004). Os dados de Zoo-FISH revelam que os segmentos conservados de HSA 5/19 em Cetartiodactyla e em *E. caballus* envolvem diferentes regiões homeólogas ao cromossomo 5 humano, o que não descarta a sinapomorfia dos Euungulata. Alguns rearranjos complexos seriam necessários para originar os cromossomos encontrados em *E. caballus* e *Sus scrofa* a partir do mesmo homeólogo 5/19. Parece que a explicação mais parcimoniosa é a origem independente de duas associações diferentes HSA 5/19 em Cetartiodactyla e no cenancestor (último ancestral comum) de *E. caballus* e *E. asinus* (Frönicke, 2005).

Segmentos homeólogos ao HSA 19p estão associados a segmentos de HSA 3 em *Felis cattus* (Wienberg *et al.*, 1997), *Phoca vitulina* (Frönicke *et al.*, 1997), *Mustela vison* (Hameister *et al.*, 1997), *Sorex araneus*, *Ailuropoda melanoleuca*, *Sciurus carolinensis*, *Crocota crocuta* e *Canis familiaris* (Ferguson-smith e Trifonov, 2007), mas esta sintonia não foi encontrada em primatas, ratos ou camundongos (Haig, 1999). Entretanto, Ruiz-Herrera *et al.* (2005a) observaram uma associação sintênica envolvendo segmentos de HSA 19 e HSA 3 em dois cromossomos de *Colobus guereza*, mostrando um padrão 19/3 e 3/19/3/19. Em *Presbytis cristata*, o homeólogo ao HSA 19 apresenta reorganizações intracromossômicas associadas com segmentos ortólogos do cromossomo 1 humano, formando as sintonias 19/1(a₂+c+b) e 19/1a₁/19/1a₁ (Bigoni *et al.*, 1997a). O fato de ambas as espécies de *Colobinae* apresentarem inversões pode indicar que, nesta linhagem, a região

cromossômica homeóloga ao HSA 19 é mais suscetível à quebra e inversão (Haig, 1999).

Sintênias envolvendo segmentos homeólogos aos cromossomos 1 e 19 humanos também foram encontradas em Afrotheria (porco da terra, musaranho-elefante, elefante africano, toupeira e peixe-boi), Xenarthra (tamanduá), Eulipotyphla (ouriço) e Cetartiodactyla (muntiacos) e associações dos homeólogos aos cromossomos HSA 19/18 e HSA 11/19 foram observadas em algumas espécies de Afrotheria e de Cetartiodactyla e de Perissodactyla, respectivamente (Ferguson-Smith e Trifonov, 2007).

CROMOSSOMOS X E Y:

Há muitos anos, Ohno (1973) postulou que o cromossomo X de mamíferos placentários estava conservado evolutivamente e que esta conservação era devida ao mecanismo de compensação de dose dos genes ligados ao X, que contam com a inativação funcional de um cromossomo X em células somáticas. A pintura com sonda específica do HSA X em diferentes espécies de primatas comprovou a "Lei de Ohno" (Wienberg, 2005; Stanyon *et al.*, 2008). Os sinais foram encontrados exclusivamente nos homeólogos do cromossomo X em todos os primatas analisados (Wienberg, 2005).

Cromossomos X submetacêntricos foram observados em espécies pertencentes a todas as ordens euterianas analisadas e, portanto, a morfologia do provável cromossomo X euteriano ancestral deve se assemelhar ao HSA X (Richard *et al.*, 2003). Existem poucas exceções devido a inversões pericêntricas, que alteram a ordem dos marcadores e a posição do centrômero em algumas linhagens de primatas (Stanyon *et al.*, 2008).

O cromossomo Y de mamíferos apresenta uma grande variedade de rearranjos espécie-específico (Müller, 2006; Stanyon *et al.*, 2008). O HSA Yq tem um grande bloco de heterocromatina terminal derivado e, provavelmente, o cromossomo Y ancestral era menor (Stanyon *et al.*, 2008). Para explicar a morfologia do HSA Y em comparação com aqueles dos grandes macacos, no mínimo uma inversão paracêntrica e uma pericêntrica devem ter ocorrido. Uma translocação do cromossomo 1 para o cromossomo Y aconteceu no ancestral comum de chimpanzés e humanos, e deleções submicroscópicas e duplicações ocorreram em humanos, chimpanzé e orangotango (Müller, 2006).

OBJETIVOS

Os objetivos desse trabalho foram:

1 - Analisar os cariótipos de macacos brasileiros visando:

a) estudar a variabilidade interespecífica e intra-específica no gênero *Alouatta*;

b) compreender os mecanismos de rearranjos cromossômicos que levaram à diversidade cariotípica dentro do processo evolutivo da especiação;

c) contribuir para a revisão taxonômica de espécies de primatas neotropicais.

2 - a) identificar homeologias e sintenias entre os cromossomos humanos e os de macacos brasileiros estudando a manutenção da sintenia dos cromossomos 14 e 15 humanos e a conservação do cromossomo X em *Platyrrhini*;

b) identificar o cromossomo Y em machos da subfamília *Atelinae* com sondas de DNA especificamente contruídas.

O estudo cromossômico de macacos brasileiros contribui para a composição de grupos de acasalamento para repovoamento de áreas geográficas e para a manutenção em cativeiro de espécies ameaçadas de extinção.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Para o presente trabalho, foram analisados os cariótipos de algumas espécies de macacos do Novo Mundo que habitam o Brasil com técnicas citogenéticas tradicionais (coloração convencional e bandamento G e C) e moleculares (hibridação *in situ* fluorescente) com as sondas dos cromossomos 14, 15 e X e das regiões subteloméricas humanas e do cromossomo Y de *Brachyteles arachnoides*.

CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS:

As amostras de sangue periférico de espécimes de primatas brasileiros que foram utilizadas para o desenvolvimento desse projeto são provenientes da Fundação Parque Zoológico de São Paulo (São Paulo/S. P.), Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (Sorocaba/S. P.), Zôo Parque de Itatiba (São Paulo/S. P.), CEMAS (Centro de Estudo e Manejo de Animais Silvestres - Fundação Florestal - São Paulo/S. P.), Barragem Paraitinga (Salesópolis/S. P.), Presidente Epitácio (Porto Primavera - S. P.), DEPAVE (Departamento de Parques e Áreas Verdes do Estado de São Paulo, Divisão Técnica de Medicina Veterinária e Manejo da Fauna Silvestre - São Paulo/S. P.), FZB/BH (Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte - Belo Horizonte/M. G.), CPRJ (Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro/R. J.), Projeto Bugio (Blumenau/S. C.) e Zoológico Municipal de Limeira (Limeira/S. P.). (Quadro V).

Quadro V - Caracterização das amostras de macacos do Novo Mundo desse trabalho:

INDIVÍDUOS	ESPÉCIE	SEXO	LOCAL DE COLETA	REGISTRO DE ORIGEM
M 110	<i>Alouatta caraya</i>	F	Presidente Epitácio	188A
M 143	<i>Lagothrix lagothricha</i>	F	Zôo São Paulo	21286
M 144	<i>Ateles sp.</i>	M	Zôo São Paulo	8233

M 145	<i>Ateles sp.</i>	M	Zôo São Paulo	17581
M 146	<i>Ateles paniscus chamek</i>	M	Zôo São Paulo	19086
M 152	<i>Cebus apella</i>	M	Zôo São Paulo	15089
M 233	<i>Brachyteles arachnoides</i>	M	Zôo Sorocaba	0132C9EF
M 234	<i>Callimico goeldi</i>	F	Zôo Sorocaba	01324BCM
M 235	<i>Callimico goeldi</i>	M	Zôo Sorocaba	01BBF74F
M 239	<i>Aotus nigriceps</i>	M	Zôo Sorocaba	0132F647
M 257	<i>Ateles belzebuth marginatus</i>	M	Zôo Sorocaba	01338296
M 265	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	DEPAVE	8700
M 268	<i>Lagothrix lagothricha</i>	M	Zôo Sorocaba	013357CF
M 275	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	DEPAVE	20732
M 289	<i>Callicebus caligatus</i>	F	Zôo Itatiba	ni
M 290	<i>Cacajao melanocephalus</i>	M	CPRJ	2072
M 297	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	06
M 298	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	07
M 299	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	08
M 300	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	09
M 301	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	10
M 302	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	11
M 303	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	14
M 304	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	21
M 305	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	22
M 306	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	CEMAS	25
M 307	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	24
M 308	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	28
M 309	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	CEMAS	23
M 310	<i>Callithrix sp.</i>	M	Paraitinga	00064D936D
M 311	<i>Callithrix sp.</i>	F	Paraitinga	00064D3A01
M 312	<i>Callithrix sp.</i>	F	Paraitinga	00064D5806
M 313	<i>Callithrix sp.</i>	M	Paraitinga	00064D7FBE
M 314	<i>Callithrix sp.</i>	F	Paraitinga	00064D5242
M 315	<i>Callithrix sp.</i>	M	Paraitinga	00064D3BA6
M 316	<i>Callithrix sp.</i>	F	Paraitinga	00064D6449
M 317	<i>Alouatta sara</i>	M	FZB/BH	0005FFF670
M 318	<i>Callicebus personatus nigrifrons</i>	F	FZB/BH	000600FC9C
M 319	<i>Cebus nigrurus</i>	M	DEPAVE	27416
M 322	<i>Alouatta caraya</i>	F	Zôo Limeira	96300000006 1681

M 331	<i>Ateles paniscus paniscus</i>	F	FZB/BH	00064D0857
M 332	<i>Ateles sp.</i>	F	FZB/BH	00064D14A2
M 342	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	Projeto Bugio	01
M 346	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	Projeto Bugio	05
M 347	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	Projeto Bugio	06
M 358	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	DEPAVE	27193
M 359	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	DEPAVE	22149
M 360	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	DEPAVE	29835
M 361	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	DEPAVE	31429
M 367	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	M	DEPAVE	30500
M 368	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	DEPAVE	32338
M 370	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	F	DEPAVE	32037

M = macho.

F = fêmea.

ni = não informado.

CAPTURE DOS ANIMAIS E COLETA DE AMOSTRAS:

Os animais submetidos à coleta foram capturados por seus tratadores e anestesiados pelos médicos-veterinários responsáveis em suas instituições. Após a contenção dos espécimes e término dos procedimentos, ficaram sob observação até o completo restabelecimento e depois foram realocados em seus recintos.

Para os estudos citogenéticos e citogenéticos moleculares, as seringas descartáveis foram previamente heparinizadas (Liquemine) e aproximadamente 5 ml de sangue periférico foi retirado.

MÉTODOS

CULTURA DE LINFÓCITOS - SANGUE PERIFÉRICO:

Para a obtenção de metáfases, fizemos uma cultura temporária de linfócitos seguindo a técnica proposta por Moorhead *et al.* (1960) modificada. Utilizamos o meio 199 ou RPMI (Gibco) ou o meio RPMI (Cultilab). O meio de cultura foi enriquecido com 15% a 20% de soro fetal bovino (Cultilab), fitohemaglutinina P da Difco ou fitohemaglutinina da Cultilab e L-glutamina (Sigma) e também foi acrescido 10 μ l a 20 μ l de antibiótico (penicilina/estreptomicina) da Cultilab. Como o pH deve ser 6,8, foram acrescentadas algumas gotas de bicarbonato de sódio 0,85% estéril. Cada recipiente estéril recebeu 5 ou 10 ml do meio enriquecido e linfócitos mais plasma sangüíneo. Em seguida, a cultura foi colocada em estufa a 37°C por 72 ou 96 horas, dependendo da espécie de primata neotropical. Então, a cultura foi retirada, acrescida de 0,2 ml de colchicina (4×10^{-5} M) e recolocada na estufa por mais 45 minutos.

A cultura foi transferida para um tubo de plástico e colocada em centrífuga por 5 minutos a 1500 R. P. M.. Depois de centrifugado o material, retirou-se o sobrenadante e acrescentou-se solução hipotônica (5,6 g de KCl para 1 l de água destilada - 0,075 M), deixando em repouso por 20 a 30 minutos a temperatura ambiente ou 37°C. Em seguida, o fixador produzido com 1 parte de ácido acético glacial para 3 partes de metanol (ambos da Merck) foi adicionado.

O material foi novamente centrifugado, retirado o sobrenadante e acrescido de fixador. Em algumas culturas utilizamos o Cytoclear (ProCell Reagents - 5 μ l de Cytoclear/ml de fixador por 5 minutos a temperatura ambiente), que é uma mistura de detergentes que dissolve e remove o citoplasma persistente durante o estágio de fixação do procedimento de cultura cromossômica. O Cytoclear também foi usado diretamente na

suspensão de células fixadas e congeladas. A lavagem do material com fixador seguiu por mais 2 ou 3 vezes até que o "pellet" estivesse limpo. Porém, na última vez, o sobrenadante não foi totalmente retirado, restando um pouco de fixador sobre o sedimento celular para que uma suspensão concentrada de células fosse pingada sobre uma lâmina limpa que foi armazenada em geladeira. O restante da cultura foi armazenado em tubo de microcentrífuga no freezer.

ANÁLISE CONVENCIONAL:

Para a análise convencional dos cromossomos, coramos a lâmina com solução tampão fosfato (Na_2HPO_4 0,03 M e NaH_2PO_4 0,03 M) ou tampão fosfato Sörensen (Na_2HPO_4 0,03 M e KH_2PO_4 0,03 M) e Giemsa (Merck) por aproximadamente 5 minutos e, em seguida, lavamos em água corrente e deixamos secar a temperatura ambiente. As análises foram realizadas em microscópio Axiophot 2 Motorizado (Zeiss), as imagens foram capturadas em aumento de imersão com uma vídeo-câmara CCD de alta resolução e os cariótipos foram montados com a ajuda do programa IKAROS 3 (MetaSystems).

BANDAMENTO GTG:

Para uma melhor precisão na identificação dos cromossomos dos primatas neotropicais, empregamos a técnica de bandamento G descrita por Seabright (1971), com modificações.

Pingamos algumas gotas da solução de células fixadas em uma lâmina e a deixamos dentro da estufa, de preferência durante a noite. Então, a

colocamos em banho-maria a 65°C submersa em solução de 2xSSC (cloreto de sódio 0,3 M e citrato trissódico 0,03 M) por 5 minutos. Após este tempo, submetemos a lâmina a quatro banhos sequenciais: 2xSSC à temperatura ambiente, água destilada, solução de tripsina 0,025% em tampão fosfato Sörensen (pH 6,8) à temperatura ambiente por alguns segundos e novamente mergulhamos em água destilada. Em seguida, a lâmina foi corada com Giemsa (Merck) a 4% em tampão fosfato Sörensen por aproximadamente 5 minutos e secada a temperatura ambiente.

A lâmina foi analisada em um microscópio Axiophot 2 Motorizado (Zeiss) e as imagens foram capturadas em aumento de imersão com uma vídeo-câmara CCD de Alta Resolução. As metáfases capturadas foram cariotipadas com o auxílio do programa IKAROS 3 (MetaSystems).

BANDAMENTO CBG:

A técnica de bandamento CBG modificada de Summer (1972) foi realizada para a localização da heterocromatina constitutiva nos cromossomos dos macacos do Novo Mundo.

Para tal, submetemos a lâmina por 20 minutos em HCl 0,2 N e em seguida mergulhamos por aproximadamente 40 segundos em uma solução de hidróxido de bário 5% a 60°C. A lâmina foi lavada em HCl 1 N e colocada por 20 minutos em 2XSSC a 60°C. Por fim, foi corada por 20 minutos com Giemsa (Merck) a 4% em tampão fosfato Sörensen, lavada em água corrente e colocada para secar a temperatura ambiente.

Em alguns espécimes, realizamos a técnica de bandamento CBG sequencialmente ao bandamento GTG, a fim de obtermos as mesmas metáfases em coloração convencional e com estes bandamentos. Ao término

das análises com bandamento *G*, a lâmina foi mergulhada em HCl 0,2 N a temperatura ambiente por 10 minutos e, em seguida, colocada no hidróxido de bário 5% a temperatura ambiente por aproximadamente 1 minuto. Então, foi lavada em água destilada e em HCl 1N, ambos a temperatura ambiente. Estas lavagens foram repetidas mais uma vez. Novamente, a lâmina foi colocada em água destilada e depois deixada por 10 minutos em 2xSSC a 60°C. A coloração foi feita com Giemsa (Merck) a 2% em tampão fosfato Sörensen por 8 minutos. Após este tempo, a lâmina foi lavada em água corrente e colocada para secar a temperatura ambiente.

As metáfases foram observadas em um microscópio Zeiss (Axiophot 2 Motorizado) e capturadas com uma vídeo-câmara CCD de Alta Resolução para serem cariotipadas com o uso do programa IKAROS 3 (MetaSystems).

MICRODISSECÇÃO CROMOSSÔMICA:

A técnica de microdissecção (Weimer *et al.*, 1999), com modificações, foi desenvolvida para a obtenção da sonda do cromossomo Y de *Brachyteles arachnoides* (M 233), visando ampliar o conhecimento da evolução deste cromossomo na subfamília *Atelinae*. Apenas três cromossomos Y deste espécime foram microdissecados para a produção desta sonda.

As células obtidas a partir da cultura de linfócitos e fixadas em metanol e ácido acético 3:1 foram pingadas sobre uma lamínula de vidro previamente limpa. Posteriormente, a lamínula foi corada com Giemsa 10% em tampão fosfato por 6 minutos. Todo o material usado para coletar e transferir o cromossomo microdissecado foi tratado com luz UV por 2

horas antes do início do procedimento, a fim de remover qualquer contaminação de DNA.

No microscópio invertido (Axiovert S100, Zeiss), o cromossomo alvo foi identificado, microdissecado com uma micro-agulha de vidro e transferido para uma pipeta siliconizada (5 μ l dimetilsilano e 50 μ l clorofórmio) contendo uma solução de coleção (30% glicerol, 10 mM Tris-HCL pH 7,5, 10 mM NaCl, 1 mM EDTA pH 7,5 a 8,0, 0,1% SDS, 0,1% Triton X100 e 500 μ M proteinase K). Tanto as agulhas quanto as pipetas foram esticadas usando um "two-step pippett puller" (Narishige). A pipeta com os cromossomos coletados foi incubada em câmara úmida a 60°C por 1 hora. Os cromossomos foram transferidos para um tubo de microcentrífuga, contendo a solução de pré-amplificação [24 mM Tris - pH 7,5, 5 μ M 6-MW Primer (10 mM), 30mmol/L NaCl (0,6 x reaction buffer), 0,2 mM dNTP's e 12 mM MgCl₂ em um volume final de 5 μ l], pela quebra da ponta da pipeta dentro do tubo para dar início à DOP-PCR. Em um termociclador Eppendorf, o perfil usado foi 90°C por 1 minuto, 25°C por 2 minutos e 4°C por 2 minutos, com o uso da T7 DNA polimerase (0,3 U) nos primeiros 8 ciclos, quando a temperatura de anelamento é baixa. Um primeiro passo de desnaturação (90°C por 5 minutos) é necessário para inativar a proteinase da solução de coleção.

A amplificação foi realizada (Telenius *et al.*, 1992, modificado) com a adição de 50 μ l de um mix ao produto de PCR da pré-amplificação [10 μ l 10 x NH₄ reaction buffer (160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM Tris-HCl, 0,1% Tween-20), 5 μ M 6-MW Primer (10 mM), 0,2 mM dNTP's e 0,1 U Taq DNA polimerase], com um perfil de 30 ciclos em alta temperatura : 92°C por 1 minuto, 56°C por 2 minutos, 70°C por 2 minutos e uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Ao término da reação de PCR, foi realizada a eletroforese em gel de agarose 2% com 1 μ l do produto final da PCR e 1 μ l de azul de bromofenol, além do marcador de peso molecular. O gel foi corado com brometo de etídio por 10 minutos aproximadamente. No transiluminador, um rastro de fragmentos de DNA entre 200 e 500 pb gerado pela PCR foi observado.

REAMPLIFICAÇÃO DE SONDAS POR PCR:

Tanto as sondas produzidas pela microdissecção cromossômica quanto às sondas das bibliotecas dos cromossomos humanos derivadas pela citometria de fluxo (Human Paints NCBI) foram reamplificadas por PCR [2 μ l Taq DNA polimerase buffer, 2 μ l dNTP's (2mM), 1 μ l $MgCl_2$ (50mM), 11,5 μ l água Mili-Q estéril, 2 μ l 6-MW Primer (10mM), 0,5 μ l Taq DNA polimerase e 1 μ l de DNA molde (sonda)], usando o mesmo programa da DOP-PCR dos ciclos de alta estridência.

MARCAÇÃO E PRECIPITAÇÃO DE SONDAS:

Para a utilização das sondas amplificadas (microdissecção e citometria de fluxo) em experimentos de FISH, estas foram diretamente marcadas com nucleotídeos conjugados a biotina (Biotin 16-dUTP, Roche) por uma DOP-PCR de 28 ciclos, usando 1 μ l do produto da DOP-PCR ou da sonda obtida pela citometria de fluxo como molde de DNA, com o mesmo perfil e primer dos ciclos de alta estridência da DOP-PCR.

Essas sondas também foram marcadas por "nick translation" usando os kits Biotin-Nick translation mix ou DIG-Nick translation mix, ambos da Roche, conforme a orientação do fabricante.

As sondas amplificadas por PCR e marcadas foram precipitadas antes de serem utilizadas para a FISH, a fim de eliminar os restos de sais e produtos da PCR. O produto da reação final obtida com a marcação, Human COT-1 DNA (Invitrogen), NaAc (3 M) gelado correspondente a 10% do volume total de DNA (sonda + COT) e EtOH 100% gelado (2,5x o volume total de DNA) foi aliquotado em um tubo de microcentrífuga e deixado "overnight" no freezer. As sondas foram centrifugadas a 4°C por 30 minutos em uma velocidade de 13.000 R. P. M. e o sobrenadante foi cuidadosamente descartado. Em seguida, 150 µl de etanol 70% gelado foi adicionado e a centrifugação foi repetida nas mesmas condições por 15 minutos. O sobrenadante novamente foi retirado e a sonda de DNA foi colocada para secar em estufa a 37°C.

FISH:

A técnica de hibridação *in situ* fluorescente foi empregada conforme indicado pelos fabricantes das sondas que foram utilizadas, as sondas totais dos cromossomos 14 e 15 humanos (hibridação dupla) da ONCOR e a Chromoprobe Multiprobe - T System (Cytocell). Após descongelar o material fixado e pingá-lo em lâmina, procede-se como sugerido pelos fornecedores das sondas, com um tempo de hibridação variando de 14 a 96 horas, dependendo da espécie de primata.

A FISH também foi realizada com as sondas de pintura dos cromossomos humanos 14, 15 e X obtidas a partir da citometria de fluxo e com a sonda do cromossomo Y de *Brachyteles arachnoides* (M 233) produzida pela técnica de microdissecção cromossômica.

Para a realização da FISH com essas sondas, a lâmina foi envelhecida a 65°C "overnight". As sondas, marcadas e ressuspendidas em meio de

hibridação, foram deixadas em banho-maria a 37°C por 30 minutos, aquecidas em água fervente (98°C) por 10 minutos e, em seguida, colocadas em banho-maria a 37°C para a pré-hibridação por 30 minutos.

A lâmina foi colocada em três banhos de 2XSSC a temperatura ambiente por 5 minutos cada, desidratada em série de etanol 70%, 85% e 100% por 3 minutos a temperatura ambiente, desnaturada por 2 minutos a 72°C em solução de formamida 70% e, novamente, desidratada em série de etanol 70%, 85% e 100% gelados por 3 minutos cada. Então, foi incubada a 37°C por um tempo que variou de 72 a 144 horas. Após o tempo de hibridação, a lâmina foi lavada em solução de formamida 50% e 2XSSC por 3 minutos cada a 37°C e, por fim, em PBT por 5 minutos a temperatura ambiente.

Alternativamente, um pré-tratamento foi realizado antes da desnaturação de algumas lâminas. Estas foram tratadas com 100 µl de RNase (100 µg/ml) por 1 hora em estufa a 37°C. Em seguida, foram colocadas em três banhos de 2XSSC a temperatura ambiente por 5 minutos cada e desidratadas em série de etanol 70%, 85% e 100% por 3 minutos a temperatura ambiente. As lâminas foram submetidas a um banho de pepsina 0,005% por 10 minutos a 37°C e 2 banhos de PBS por 5 minutos a temperatura ambiente. Por 5 minutos, as lâminas foram deixadas em uma solução de PBS com 50 mM MgCl₂ a temperatura ambiente e por 10 minutos em outro banho de PBS, 50 mM MgCl₂ e 1% de formaldeído. Para finalizar, foram lavadas em PBS a temperatura ambiente e colocadas novamente em série de etanol 70%, 85% e 100% por 3 minutos a temperatura ambiente. Seguiu-se a desnaturação e demais banhos como descrito acima.

As sondas marcadas com Biotina foram detectadas com Avidina-FITC ou Avidina-Rodamina e as marcadas com Digoxigenina foram detectadas com Antidigoxigenina-Rodamina ou Antidigoxigenina-FITC.

Depois de empregada a coloração com DAPI (4,6 diamidina-2-phenylindole) mais Vectashield, as lâminas foram analisadas em um microscópio Axiophot 2 Motorizado (Zeiss) e as metáfases foram capturadas em coloração DAPI, onde se observa um padrão de bandas, e com os filtros FITC e RHO para a observação das marcações. As imagens foram capturadas com o auxílio de uma vídeo câmara CCD de Alta Resolução e do programa ISIS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, G.; SEUÁNEZ, H. N.; FANNING, T. A clade of New World primates with distinctive alphoid satellite DNAs. **Mol. Phylogenet. Evol.** 9: 220-224, 1998.
- AMOR, D. J.; CHOO, K. H. Neocentromeres: role in human disease, evolution, and centromere study. **Am. J. Hum. Genet.** 71: 695-714, 2002.
- ANDERSSON, L.; ARCHIBALD, A.; ASHBURNER, M.; AUDUN, S.; BARENDSE, W.; BITGOOD, J.; BOTTEMA, C.; BROAD, T.; BROWN, S.; BURT, D.; CHARLIER, C.; COPELAND, N.; DAVIS, S.; DAVISSON, M.; EDWARDS, J.; EGGEN, A.; ELGAR, G.; EPPIG, J. T.; FRANKLIN, I.; GREWE, P.; GILL III, T.; GRAVES, J. A. M.; HAWKEN, R.; HETZEL, J.; HILYARD, A.; JACOB, H.; JASWINSKA, L.; JENKINS, N.; KUNZ, H.; LEVAN, G.; LIE, O.; LYONS, L.; MACCARONE, P.; MELLERSH, C.; MONTGOMERY, G.; MOORE, S.; MORAN, C.; MORIZOT, D.; NEFF, M.; NICHOLAS, F.; O'BRIEN, S.; PARSONS, Y.; PETERS, J.; POSTLETHWAIT, J.; RAYMOND, M.; ROTHSCHILD, M.; SCHOOK, L.; SUGIMOTO, Y.; SZPIRER, C.; TATE, M.; TAYLOR, J.; VANDEBERG, J.; WAKEFIELD, M.; WIENBERG, J.; WOMACK, J. Comparative genome organization of vertebrates. The First International Workshop on Comparative Genome Organization. **Mammal. Genome** 7: 717-734, 1996.
- ARMADA, J. L. A.; BARROSO, C. M. L.; LIMA, M. M. C.; MUÑIZ, J. A. P. C.; SEUÁNEZ, H. N. Chromosome studies in *Alouatta belzebul*. **Am. J. Primatol.** 13: 283-296, 1987.
- AURICCHIO, P. **Primatas do Brasil**. Terra Brasilis eds. São Paulo, Brasil, 1995.
- BARROS, R. M. S.; NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; RODRIGUES, L. R. R.; NEUSSER, M.; OLIVEIRA, E. H.; WIENBERG, J.; MUNIZ, J. A. P. C.; RISSINO, J. D.; MÜLLER, S. Chromosomal studies in *Callicebus donacophilus pallescens*, with classic and molecular cytogenetic approaches: multicolor FISH using human and *Saguinus oedipus* painting probes. **Chromosome Res.** 11: 327-334, 2003.
- BARROS, R. M. S.; PIECZARKA, J. C.; BRÍGIDO, M. C. O.; MUNIZ, J. A. P. C.; RODRIGUES, L. R. R.; NAGAMACHI, C. Y. A new karyotype in *Callicebus torquatus* (Cebidae, Primates). **Hereditas** 133: 55-58,

2000.

- BARROSO, C. M. L.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P. C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M. L.; CZELUSNIAK, J.; GOODMAN, M. Update on the phylogenetic systematics of New World monkeys: further DNA evidence for placing the pygmy marmoset (*Cebuella*) within the genus *Callithrix*. **Int. J. Primatol.** 18: 651-674, 1997.
- BENDER, M. A.; CHU, E. H. Y. The chromosomes of primates. *In*: **Evolutionary and genetic biology of primates**. Janusch, B. J. eds. London: Academic Press, 261-310, 1963.
- BENDER, M. A.; METTLER, L. E. Chromosomes studies of primates. **Science** 128: 186-190, 1958.
- BENIRSCHKE, K.; ANDERSON, J. M.; BROWNHILL, L. E. Marrow chimerism in marmosets. **Science** 138: 513-515, 1962.
- BENIRSCHKE, K.; BOGART, M. H. Chromosomes of the tan-handed titi (*Callicebus torquatus*, Hoffmannsegg, 1807). **Folia Primatol.** 25: 25-34, 1976.
- BIELEC, P. E.; GALLAGHER, D. S.; WOMACK, J. E.; BUSBEE, D. L. Homologies between human and dolphin chromosomes detected by heterologous chromosome painting. **Cytogenet. Cell. Genet.** 81: 18-25, 1998.
- BIGONI, F.; HOUCK, M. L.; RYDER, O. A.; WIENBERG, J.; STANYON, R. Chromosome painting shows that *Pygathrix nemaeus* has the most basal karyotype among Asian *Colobinae*. **Int. J. Primatol.** 25: 679-688, 2004.
- BIGONI, F.; KOEHLER, U.; STANYON, R.; ISHIDA, T.; WIENBERG, J. Fluorescence *in situ* hybridization establishes homology between human and silvered leaf monkey chromosomes, reveals reciprocal translocations between chromosomes homologous to human Y/5, 1/9, and 6/16, and delineates an $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ sex-chromosome system. **Am. J. Phys. Anthropol.** 102: 315-327, 1997a.
- BIGONI, F.; STANYON, R.; KOEHLER, U.; MORESCALCHI, M. A.; WIENBERG, J. Mapping homology between human and black and

- white colobine monkey chromosomes by fluorescent *in situ* hybridization. **Am. J. Primatol.** 42: 289-298, 1997b.
- BOGART, M. H. Chromosomes of an owl monkeys. **Zoonoos.** 51: 15, 1978.
- BONVICINO, C. R.; BOUBLI, J. P.; OTAZÚ, I. B.; ALMEIDA, F. A.; NASCIMENTO, F. F.; COURA, J. C.; SEUÁNEZ, H. N. Morphologic, karyotypic and molecular evidence of a new form of *Chiropotes* (Primates, *Pitheciinae*). **Am. J. Primatol.** 61: 123-133, 2003.
- BONVICINO, C. R.; FERNANDES, M. E. B.; SEUÁNEZ, H. N. Morphological analysis of *Alouatta seniculus* species group (Primates, *Cebidae*). A comparison with biochemical and karyological data. **Hum. Evol.** 10: 169-176, 1995.
- BONVICINO, C. R.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A. A study of pelage coloration and geographical distribution in *Alouatta belzebul* (Primates: *Cebidae*). **Revista Nordestina de Biologia** 6: 139-148, 1989.
- BONVICINO, C. R.; LEMOS, B.; SEUÁNEZ, H. N. Molecular phylogenetics of howler monkeys (*Alouatta*, *Platyrrhini*). A comparison with karyotypic data. **Chromosoma** 110: 241-246, 2001.
- BOROWIK, O. A. Coding chromosomal data for phylogenetic analysis: phylogenetic resolution of the *Pan Homo Gorilla* trichotomy. **Syst. Biol.** 44: 563-570, 1995.
- BOURQUE, G.; TESLER, G.; PEVZNER, P. A. The convergence of cytogenetics and rearrangement-based models. **Genome Res.** 16: 311-313, 2006.
- BREEN, M.; THOMAS, R.; BINNS, M. M.; CARTER, N. P.; LANGFORD, C. F. Reciprocal chromosome painting reveals detailed regions of conserved synteny between the karyotypes of the domestic dog (*Canis familiaris*) and human. **Genomics** 61: 145-155, 1999.
- BRUMBACK, R. A. A third species of the owl monkey (*Aotus*). **J. Hered.** 65: 321-323, 1974.

- BRUMBACK, R. A. Fluorescent banding of the karyotype of *Aotus trivirgatus* (Humboldt 1812): A preliminary study. **J. Hered.** 66: 247-248, 1975a.
- BRUMBACK, R. A. Giemsa banding pattern of the karyotype of *Aotus griseimembra* (Eliot, 1912): A preliminary study. **J. Hum. Evol.** 4: 385-385, 1975b.
- BRUMBACK, R. A.; STATON, R. D.; BENJAMIN, S. A.; LANG, C. M. The chromosomes of *Aotus trivirgatus* Humboldt 1812. **Folia Primatol.** 15: 264-273, 1971.
- BUENO, M. L. Importancia de la caracterización genética de especies silvestres en Zoológicos, Unidades de Rescate de fauna y Centros de acopio. **Lyonia** 3: 45-56, 2003.
- BUENO, M. L.; RAMÍREZ-ORJUELA, C.; LEIBOVICI, M.; TORRES, O. M. Información cariológica del género *Callicebus* en Colombia. **Rev. Acad. Colomb. Cienc.** XXX: 109-116, 2006.
- BUGROV, A. G.; KARAMYSHEVA, T. V.; RUBTSOV, D. N.; ANDREENKOVA, O. V.; RUBTSOV, N. B. Comparative FISH analysis of distribution of B chromosome repetitive DNA in A and B chromosomes in two subspecies of *Podisma sapporensis* (Orthoptera, Acrididae). **Cytogenet. Genome Res.** 106: 284-288, 2004.
- BUSH, G. L. Modes of animal speciation. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 6: 339-364, 1975.
- CABRERA, A. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. **Ciencia Zoologica** 4: 307, 1958.
- CAMBEFORT, Y.; MORO, F. Cytogenetics and taxonomy of some south Bolivian monkeys. **Folia Primatol.** 29: 307-314, 1978.
- CAMPA, M. C. C.; STANYON, R. Sequence of late DNA replication in *Cebus capucinus* chromosomes and a standardized G-banded karyotype. **Am. J. Primatol.** 28: 205-212, 1992.
- CANAVEZ, F. C.; ALVES, G.; FANNING, T. G.; SEUÁNEZ, H. N. Comparative karyology and evolution of the Amazonian *Callithrix*

- (*Platyrrhini*, Primates). **Chromosoma** 104: 348-357, 1996.
- CANAVEZ, F. C.; LADASKY, J. J.; MUNIZ, J. A.; SEUÁNEZ, H. N.; PARHAM, P. β_2 -Microglobulin in neotropical primates (*Platyrrhini*). **Immunogenetics** 48: 133-140, 1998.
- CANAVEZ, F. C.; MOREIRA, M. A. M.; BONVICINO, C. R.; OLICIO, R.; SEUÁNEZ, H. N. Gene assignment in the spider monkey (*Ateles paniscus chamek*): APE-MYH7 to 2q; AR-GLA-F8C to the X chromosome. **J. Hered.** 90: 460-463, 1999c.
- CANAVEZ, F. C.; MOREIRA, M. A. M.; BONVICINO, C. R.; PARHAM, P.; SEUÁNEZ, H. N. Evolutionary disruptions of human syntenic groups 3, 12, 14, and 15 in *Ateles paniscus chamek* (*Platyrrhini*, primates). **Cytogenet. Cell. Genet.** 87: 182-188, 1999a.
- CANAVEZ, F. C.; MOREIRA, M. A. M.; SIMON, F.; PARHAM, P.; SEUÁNEZ, H. N. Phylogenetic relationships of the *Callitrichinae* (*Platyrrhini*, Primates) based on beta2-microglobulin DNA sequences. **Am. J. Primatol.** 48: 225-236, 1999b.
- CARBONE, L.; VENTURA, M.; TEMPESTA, S.; ROCCHI, M.; ARCHIDIACONO, N. Evolutionary history of chromosome 10 in primates. **Chromosoma** 111: 267-272, 2002.
- CARDONE, M. F.; VENTURA, M.; TEMPESTA, S.; ROCCHI, M.; ARCHIDIACONO, N. Analysis of chromosome conservation in *Lemur catta* studied by chromosome paints and BAC/PAC probes. **Chromosoma** 111: 348-356, 2002.
- CAVAILLÉ, J.; SEITZ, H.; PAULSEN, M.; FERGUSON-SMITH, A. C.; BACHELLERIE, J. P. Identification of tandemly-repeated C/D snoRNA genes at the imprinted human 14q32 domain reminiscent of those at the Prader-Willi/Angelman syndrome region. **Hum. Mol. Genet.** 11: 1527-1538, 2002.
- CHIARELLI, B. Some chromosome numbers in primates. **Mamm. Chrom. Newsl.** 6: 3, 1961.

- CHIARELLI, B. Primi risultati di ricerche di genetica e carilogia comparata in primati e loro interesse evolutivo. **Revista di Antropologia** 50: 87-124, 1963.
- CHOWDHARY, B. P.; RAUDSEPP, T.; FRÖNICKE, L.; SCHERTHAN, H. Emerging patterns of comparative genome organization in some mammalian species as revealed by Zoo-FISH. **Genome Res.** 8: 577-589, 1998.
- CHU, E. H.; BENDER, M. A. Chromosome cytology and evolution in primates. **Science** 133: 1399-1405, 1961.
- CHU, E. H. Y.; BENDER, M. A. Cytogenetics and evolution of primates. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** 102: 253-266, 1962.
- CLEMENTE, I. C.; GARCÍA, M.; PONSÀ, M.; EGOZCUE, J. High-resolution chromosome banding studies in *Cebus apella*, *Cebus albifrons* and *Lagothrix lagothricha*: comparison with the human karyotype. **Am. J. Primatol.** 13: 23-36, 1987.
- CLEMENTE, I. C.; PONSÀ, M.; GARCÍA, M.; EGOZCUE, J. Evolution of the Simiiformes and the phylogeny of human chromosomes. **Hum. Genet.** 84: 493-506, 1990.
- CONSIGLIERE, S.; STANYON, R.; KOEHLER, U.; AGORAMOORTHY, G.; WIENBERG, J. Chromosome painting defines genomic rearrangements between red howler monkey subspecies. **Chromosome Res.** 4: 264-270, 1996.
- CONSIGLIERE, S.; STANYON, R.; KOEHLER, U.; ARNOLD, N.; WIENBERG, J. *In situ* hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between *Alouatta belzebul* (Platyrrhini, Cebidae) and other primates and reveals extensive interchromosomal rearrangements between howler monkey genomes. **Am. J. Primatol.** 46: 119-133, 1998.
- CORTÉS-ORTIZ, L.; BERMINGHAM, E.; RICO, C.; RODRÍGUEZ-LUNA, E.; SAMPAIO, I.; RUIZ-GARCÍA, M. Molecular systematics and biogeography of the Neotropical monkey genus, *Alouatta*. **Mol. Phylogenet. Evol.** 26: 64-81, 2003.

- CRESPO, J. A. Comentarios sobre nuevas localidades para mamíferos de Argentina y de Bolivia. **Rev. Mus. Arg. Cs. Nat.** 11: 1-31, 1974.
- DE BOER, L. E. M. Cytotaxonomy of the *Platyrrhini* (Primates). **Genen. Phaenen.** 17: 1-115, 1974.
- DE BOER, L. E. M. The somatic chromosome complement and the ideogram of *Pithecia pithecia pithecia* (Linnaeus, 1766). **Folia Primatol.** 23: 149-157, 1975.
- DE BOER, L. E. M.; DE BRUIJN, M. Chromosomal distinction between the red-faced and black-faced spider monkeys (*Ateles paniscus paniscus* and *A. p. chamek*). **Zoo. Biol.** 9: 307-316, 1990.
- DE OLIVEIRA, E. H. C. Estudos citogenéticos e evolutivos nas espécies brasileiras e argentinas do gênero *Alouatta* Lacépède 1799 (Primates, *Atelidae*). **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1996.
- DE OLIVEIRA, E. H. C. Filogenia da subfamília *Atelinae* (Primates, *Platyrrhini*): análise comparativa por pintura cromossômica multicolor. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.
- DE OLIVEIRA, E. H. C.; LIMA, M. M. C.; SBALQUEIRO, I. J. Chromosomal variation in *Alouatta fusca*. **Neotrp. Prim.** 3: 181-183, 1995.
- DE OLIVEIRA, E. H. C.; LIMA, M. M. C.; SBALQUEIRO, I. J.; PISSINATTI, A. The karyotype of *Alouatta fusca clamitans* from Rio de Janeiro State, Brazil: evidence for a Y-autosome translocation. **Genet. Mol. Biol.** 31: 361-364, 1998.
- DE OLIVEIRA, E. H. C.; NEUSSER, M.; FIGUEIREDO, W. B.; NAGAMACHI, C.; PIECZARKA, J. C.; SBALQUEIRO, I. J.; WIENBERG, J.; MÜLLER, S. The phylogeny of howler monkeys (*Alouatta*, *Platyrrhini*): reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting. **Chromosome Res.** 10: 669-683, 2002.
- DE OLIVEIRA, E. H. C.; NEUSSER, M.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C.; SBALQUEIRO, I. J.; MÜLLER, S. Phylogenetic inferences of *Atelinae* (*Platyrrhini*) based on multi-directional chromosome painting in *Brachyteles arachnoides*, *Ateles paniscus paniscus* and *Ateles b.*

- marginatus*. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 183-190, 2005.
- DESCAILLEAUX, J. FUJITA, R. RODRIGUEZ, L. A.; AQUINO, R.; ENCARNACIÓN, F. Rearreglos cromosómicos y variabilidad cariotípica del género *Aotus* (Cebidae: Platyrrhini). In: **La Primatología en el Perú: trabajos del Centro de Reproducción y Conservación de Primates Tema**, 4, 572-577, 1990.
- DIXKENS, C.; KLETT, C.; BRUCH, J.; KOLLAK, A.; SEROV, O. L.; ZHDANOV, N.; VOGEL, W.; HAMEISTER, H. Zoo-FISH analysis in insectivores: "evolution extols the virtue of the status quo". **Cytogenet. Cell. Genet.** 80: 61-67, 1998.
- DUMAS, F.; BIGONI, F.; STONE, G.; SINEO, L.; STANYON, R. Mapping genomic rearrangements in titi monkeys by chromosome flow sorting and multidirectional *in-situ* hybridization. **Chromosome Res.** 13: 85-96, 2005.
- DUMAS, F.; STANYON, R.; SINEO, L.; STONE, G.; BIGONI, F. Phylogenomics of species from four genera of New World monkeys by flow sorting and reciprocal chromosome painting. **BMC Evol. Biol.** 7: s11. DOI: 10.1186/1471-2148-7-S2-S11, 2007.
- DUTRILLAUX, B. Very large analogy of chromosome banding between *Cebus capucinus* (Platyrrhini) and man. **Cytogenet. Cell. Genet.** 24: 84-94, 1979a.
- DUTRILLAUX, B. Chromosomal evolution in primates: tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (prosimian) to man. **Hum. Genet.** 48: 251-314, 1979b.
- DUTRILLAUX, B. New interpretation of the presumed common ancestral karyotype of platyrrhine monkeys. **Folia Primatol.** 50: 226-229, 1988.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J. The ancestral karyotype of platyrrhine monkeys. **Cytogenet. Cell. Genet.** 30: 232-242, 1981.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J. The ancestral karyotype of carnivora: Comparison with that of platyrrhine monkeys. **Cytogenet. Cell. Genet.** 35: 200-208, 1983.

- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J.; FOSSE, A. M. The use of high-resolution banding in comparative cytogenetics: comparison between man and *Lagothrix lagotricha* (Cebidae). **Cytogenet. Cell. Genet.** 27: 45-51, 1980.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J.; VIEGAS-PÉQUIGNOT, E. Evolution chromosomique des Platyrrhiniens. **Mammalia** 50: 56-81, 1986.
- DUTRILLAUX, B.; DESCAILLEAUX, J.; VIEGAS-PÉQUIGNOT, E.; COUTURIER, J. Y-autosome translocation in *Cacajao calvus rubicundus* (Platyrrhini). **Ann. Génét.** 24: 197-201, 1981.
- DUTRILLAUX, B.; LOMBARD, M.; CARROLL, J. B.; MARTIN, R. D. Chromosomal affinities of *Callimico goeldii* (Platyrrhini) and characterization of a Y-autosome translocation in the male. **Folia Primatol.** 50: 230-236, 1988.
- EDER, V.; VENTURA, M.; IANIGRO, M.; TETI, M.; ROCCHI, M.; ARCHIDIACONO, N. Chromosome 6 phylogeny in primates and centromere repositioning. **Mol. Biol. Evol.** 20: 1506-1512, 2003.
- EGOZCUE, J. Primates. *In: Comparative mammalian cytogenetics*. An international conference at Dartmouth Medical School. Hanover. New Hampshire, 1968. Springer, K. B. ed. New York, 357-389, 1969.
- EGOZCUE, J. A note on the chromosomes of *Aotus trivirgatus* (Humboldt 1812). **Folia Primatol.** 15: 274-276, 1971.
- EGOZCUE, J.; EGOZCUE, M. V. The chromosomes of the howler monkey *Alouatta caraya*. **Mamm. Chrom. Newsl.** 17: 84, 1965.
- EGOZCUE, J.; EGOZCUE, M. V. The chromosome complement of the howler monkey [*Alouatta caraya*, Humboldt, 1812]. **Cytogenet. Cell. Genet.** 5: 20-27, 1966.
- EGOZCUE, J.; EGOZCUE, M. V. The somatic chromosomes. *In: Biology of the howler monkey (Alouatta caraya)*. Malinow, M. R. ed. S. Karger, Basel, bibliotheca Primatologica 7: 21-27, 1968.

- EGOZCUE, J.; PERKINS, E. M. The chromosomes of Humboldt's woolly monkey (*Lagothrix lagothricha*, Humboldt 1812). **Folia Primatol.** 12: 77-80, 1970.
- EGOZCUE, J.; PERKINS, E. M.; HAGEMENAS, F. Chromosomal evolution in marmosets, tamarins and pinchés. **Folia Primatol.** 9: 81-94, 1968.
- EGOZCUE, J.; PERKINS, E. M.; HAGEMENAS, F.; FORD, D. M. The chromosomes of some *Platyrrhini* (*Callicebus*, *Ateles* and *Saimiri*). **Folia Primatol.** 11: 17-27, 1969.
- EICHLER, E. E. Masquerading repeats: paralogous pitfalls of the human genome. **Genome Res.** 8: 758-762, 1998.
- EICHLER, E. E.; DEJONG, P. J. Biomedical applications and studies of molecular evolution: a proposal for a primate genomic library resource. **Genome Res.** 12: 673-678, 2002.
- EICHLER, E. E.; SANKOFF, D. Structural dynamics of eukaryotic chromosome evolution. **Science** 301: 793-797, 2003.
- EIZIRIK, E.; MURPHY, W. J.; O'BRIEN, S. J. Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation. **J. Hered.** 92: 212-219, 2001.
- ENARD, W.; PÄÄBO, S. Comparative primate genomics. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.** 5: 351-378, 2004.
- ENGELLEN, J. J. M.; ALBRECHTS, J. C. M.; HAMERS, G. J. H.; GERAEDTS, J. P. M. A simple and efficient method for microdissection and microFISH. **J. Med. Genet.** 35: 265-268, 1998.
- FAN, Y. S. Molecular cytogenetics: protocols and applications. Humana Press, Totowa, New Jersey, 2002.
- FERGUSON-SMITH, M. A. Genetic analysis by chromosome sorting and painting: phylogenetic and diagnostic applications. **Eur. J. Hum. Genet.** 5: 253-265, 1997.
- FERGUSON-SMITH, M. A.; TRIFONOV, V. Mammalian karyotype evolution. **Nat. Rev. Genet.** 8: 950-962, 2007.

- FERGUSON-SMITH, M. A.; YANG, F.; O'BRIEN, P. C. Comparative mapping using chromosome sorting and painting. *Ilar. J.* 39: 68-76, 1998.
- FLEAGLE, J. G. **Primate Adaptation and Evolution**. San Diego: Academic Press, 1988.
- FORD, S. M. Systematics of the New World monkeys. *In: Comparative primate biology*. Swindler, D. R.; Erwin, J. eds. Liss, New York 1: 73-135, 1986.
- FRIDMAN, C.; KOIFFMANN, C. P. Genomic imprinting: genetic mechanisms and phenotypic consequences in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Genet. Mol. Biol.* 23: 715-724, 2000.
- FRÖNICKE, L. Origins of primate chromosomes - as delineated by Zoo-FISH and alignments of human and mouse draft genome sequences. *Cytogenet. Genome Res.* 108: 122-138, 2005.
- FRÖNICKE, L.; MULLER-NAVIA, J.; ROMANAKIS, K.; SCHERTHAN, H. Chromosomal homologies between human, harbor seal (*Phoca vitulina*) and the putative ancestral carnivore karyotype revealed by Zoo-FISH. *Chromosoma* 106: 108-113, 1997.
- FRÖNICKE, L. WIENBERG, J.; STONE, G.; ADAMS, L.; STANYON, R. Towards the delineation of the ancestral eutherian genome organization: comparative genome maps of human and the African elephant (*Loxodonta africana*) generated by chromosome painting. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 270: 1331-1340, 2003.
- GARCÍA, F.; GARCÍA, M.; MORA, L.; ALARCÓN, L.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M. Qualitative analysis of constitutive heterochromatin and primate evolution. *Biol. J. Linn. Soc.* 80: 107-124, 2003.
- GARCÍA, F.; NOGUÉS, C.; GARCÍA, M.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M. Characterization of constitutive heterochromatin in *Cebus apella* (Cebidae, Primates) and *Pan troglodytes* (Hominidae, Primates): comparison to human chromosomes. *Am. J. Primatol.* 49: 205-221, 1999.
- GARCÍA, F.; NOGUÉS, C.; PONSÀ, M.; RUIZ-HERRERA, A.; EGOZCUE, J.;

- CALDÉS, M. G. Chromosomal homologies between humans and *Cebus apella* (Primates) revealed by Zoo-FISH. **Mamm. Genome** 11: 399-401, 2000.
- GARCÍA, F.; RUIZ-HERRERA, A.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M.; GARCÍA, M. Chromosomal homologies between *Cebus* and *Ateles* (Primates) based on Zoo-FISH and G-banding comparisons. **Am. J. Primatol.** 57: 177-188, 2002.
- GARCÍA, M.; BORRELL, A.; MUDRY, M.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M. Prometaphase karyotype and restriction-enzyme banding in squirrel monkeys, *Saimiri boliviensis boliviensis* (Primates: *Platyrrhini*). **J. Mammal.** 76: 497-503, 1995.
- GARCÍA, M.; CABALLÍN, M. R.; ARAGONÉS, J.; GODAY, C.; EGOZCUE, J. Banding patterns of the chromosomes of *Ateles geoffroyi* with descriptions of two cases of pericentric inversion. **J. Med. Primatol.** 4: 108-113, 1975.
- GARCÍA, M.; FREITAS, L.; MIRÓ, R.; EGOZCUE, J. Banding patterns of the chromosomes of *Cebus albifrons*. **Folia Primatol.** 25: 313-319, 1976.
- GARCÍA, M.; MIRÓ, R.; ESTOP, A.; PONSÀ, M.; EGOZCUE, J. Constitutive heterochromatin polymorphism in *Lagothrix lagothricha cana*, *Cebus apella* and *Cebus capucinus*. **Am. J. Primatol.** 4: 117-126, 1983.
- GARCÍA, M.; MIRÓ, R.; FREITAS, L.; EGOZCUE, J. Banding patterns of the chromosomes of *Cebus apella*: unstable chromosomes and pericentric inversion. **Folia Primatol.** 29: 196-205, 1978.
- GARCÍA, M.; MIRÓ, R.; PONSÀ, M.; EGOZCUE, J. Banding patterns of the chromosomes of a specimen of *Lagothrix lagothricha cana*. **Genetica** 54: 181-184, 1980.
- GERBAULT-SERREAU, M.; BONNET-GARNIER, A.; RICHARD, F.; DUTRILLAUX, B. Chromosome painting comparison of *Leontopithecus chrysomelas* (*Callitrichine*, *Platyrrhini*) with man and its phylogenetic position. **Chromosome Res.** 12: 691-701, 2004.
- GIFALLI, C. C. Estudo da variabilidade cariotípica em *Platyrrhini* (Primates) e da homeologia com o cromossomo 15 humano. **Dissertação de**

- Mestrado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- GIRALDO, A.; BUENO, M.; SILVA, E.; RAMÍREZ, J.; UMANÃ, J.; ESPINAL, C. Estudio citogenético de 288 *Aotus* colombianos. **Biomedica** 6: 5-13, 1986.
- GIRALDO, A.; TORRES, O. M.; BUENO, M. L.; SILVA, E.; FRASER, C. DE C.; RAMIREZ, J.; ESPINAL, C. A. Patrones de bandas Q y C del cariotipo de una nueva especie de *Aotus* ($2n = 58$). **VI Congresso Latino-americano de Genética**. Maracaibo, Venezuela, 1983.
- GLOVER, T. W. Common fragile sites. **Cancer Lett.** 232: 4-12, 2006.
- GOLDSCHMIDT, B.; MORAES, I. A.; SOUZA, L. M.; PAULINO, F. S.; PISSINATTI, A.; MÁRSICO, F^o. F.; FERREIRA, A. M. R.; PINHO, T. G. Occurrence of virilization signals in a female marmoset *Leontopithecus chrysomelas* (*Callitrichidae*; Primates) with 46,XX/46,XY chimerism. **Israel Journal of Veterinary Medicine** 60: 86-88, 2005.
- GOODMAN, M.; PORTER, C. A.; CZELUSNIAK, J.; PAGE, S. L.; SCHNEIDER, H.; SHOSHANI, J.; GUNNELL, G.; GROVES, C. P. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. **Mol. Phylogenet. Evol.** 9: 585-598, 1998.
- GRAPHODATSKY, A. S. Comparative chromosomics. **Molecular Biology** 41: 361-375, 2007.
- GREGORIM, R. Variação geográfica e taxonomia das espécies brasileiras do gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 (Primates, *Atelinae*). **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- GREGORIN, R. Taxonomia e variação geográfica das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède (Primates, *Atelidae*) no Brasil. **Rev. Bras. Zool.** 23: 64-144, 2006.
- GROVES, C. P. Order Primates. *In*: **Mammalian Species of the World**. Wilson, D. E.; Reeder, D. M. eds. Smithsonian Institution Press, London: 243-277, 1993.

- GUAN, X. Y.; MELTZER, P. S.; TRENT, J. M. Rapid generation of whole chromosome painting probes (WCPs) by chromosome microdissection. **Genomics** 22: 101-107, 1994.
- HAIG, D. A brief history of human autosomes. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B** 354: 1447-1470, 1999.
- HAMEISTER, H.; KLETT, C.; BRUCH, J.; DIXKENS, C.; VOGEL, W.; CHRISTENSEN, K. Zoo-FISH analysis: the American mink (*Mustela vison*) closely resembles the cat karyotype. **Chromosome Res.** 5: 5-11, 1997.
- HARADA, M. L.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P. C.; SAMPAIO, I.; CZELUSNIAK, J.; GOODMAN, M. DNA evidence on the phylogenetic systematics of New World monkeys: support for the sister-grouping of *Cebus* and *Saimiri* from two unlinked nuclear genes. **Mol. Phylogenet. Evol.** 4: 331-349, 1995.
- HARRIS, E. E.; GIFALLI-IUGHETTI, C.; BRAGA, Z. H.; KOIFFMANN, C. P. Cytochrome *b* sequences show subdivision between populations of the brown howler monkey (*Alouatta guariba*) from Rio de Janeiro and Santa Catarina, Brazil. **Neotropical Primates** 13: 16-21, 2005.
- HARTWIG, W. Implications of molecular and morphological data for understanding Ateline phylogeny. **Int. J. Primatol.** 26: 999-1015, 2005.
- HAYES, H. Chromosome painting with human chromosome-specific DNA libraries reveals the extent and distribution of conserved segments in bovine chromosomes. **Cytogenet. Cell. Genet.** 71: 168-174, 1995.
- HERSHKOVITZ, P. Mammals of northern Colombia. Preliminary report n° 4. Monkeys (Primates), with taxonomic revisions of some forms. **Proc. US Nat. Mus.** 98: 323-427, 1949.
- HERSHKOVITZ, P. Living New World monkeys (*Platyrrhini*) with an introduction to primates. University of Chicago Press, Chicago, 1: 9-10, 1977.
- HERSHKOVITZ, P. Titis, New World monkeys of the genus *Callicebus*

- (*Cebidae, Platyrrhini*): a preliminary taxonomic review. Fieldiana, Zool. New Series, Field Museum of Natural History, Chicago, 1-109, 1990.
- HILL, W. C. O. Primates. *In: Comparative anatomy and taxonomy. Cebidae*, part A. Edinburgh University Press, Edinburgh, 4, 1960.
- HILL, W. C. O. Primates. *In: Comparative anatomy and taxonomy. Cebidae* part B. Edinburgh University Press, Edinburgh, 5: 97-100, 1962.
- HINK, L. A.; LALLEY, P. A. A biochemical genetic map of the cotton-topped marmoset, *Saguinus oedipus*. A comparison with man, mouse and other primates. *In: Human Gene Mapping 8*. Helsinki Conference 1985. Eight International Workshop on Human Gene Mapping. **Cytogenet. Cell. Genet.** 40: 461, 1985.
- HOROVITZ, I.; ZARDOYA, R.; MEYER, A. Platyrrhine systematics: a simultaneous analysis of molecular and morphological data. **Am. J. Phys. Anthropol.** 106: 261-281, 1998.
- HSU, T. G.; HAMPTON, S. H. Chromosomes of callithricidae with special reference to an XX/X0 sex chromosome system in Goeldi's marmoset (*Callimico goeldii* Thomas 1904). **Folia Primatol.** 13: 183-195, 1970.
- JAUCH, A.; WIENBERG, J.; STANYON, R.; ARNOLD, N.; TOFANELLI, S.; ISHIDA, T.; CREMER, T. Reconstruction of genomic rearrangements in great apes and gibbons by chromosome painting. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 89: 8611-8615, 1992.
- JONES, T. C.; THORINGTON, R. W.; HU, M. M.; ADAMS, E.; COOPER, R. W. Karyotypes of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) from different geographic regions. **Am. J. Phys. Anthropol.** 38: 269-278, 1973.
- KAY, R. F. The phyletic relationships of extant and fossil *Pitheciinae* (*Platyrrhini, Anthroidea*). **J. Hum. Evol.** 19: 175-208, 1990.
- KELLOGG, R.; GOLDMAN, E. A. Review of the spider monkeys. **Proc. US Natl. Mus.** 96: 1-45, 1944.
- KING, M. **Species evolution: the role of chromosome change**. Cambridge University Press, Cambridge, 1993.

- KINZEY, W. G. Distribution of primates and forest refuges. *In: Biological diversification in the tropics*. Proc. Fifth Int. Symp. Assoc. Trop. Biol, 8-13, 1979.
- KLONISCH, T.; FROEHLICH, C.; TETENS, F.; FISCHER, B.; HOMBACH-KLONISCH, S. Molecular remodeling of members of the Relaxin family during primate evolution. **Mol. Biol. Evol.** 18: 393-403, 2001.
- KOEHLER, U.; ARNOLD, N.; WIENBERG, J.; TOFANELLI, S.; STANYON, R. Genomic reorganization and disrupted chromosomal synteny in the siamang (*Hylobates syndactylus*) revealed by fluorescence *in situ* hybridization. **Am. J. Phys. Anthropol.** 97: 37-47, 1995a.
- KOEHLER, U.; BIGONI, F.; WIENBERG, J.; STANYON, R. Genomic reorganization in the concolor gibbon (*Hylobates concolor*) revealed by chromosome painting. **Genomics** 30: 287-292, 1995b.
- KOIFFMANN, C. P. Citogenética de símios brasileiros. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1972.
- KOIFFMANN, C. P. Variabilidade cromossômica na família *Cebidae* (*Platyrrhini*, Primata). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1977.
- KOIFFMANN, C. P. Variabilidade cromossômica em *Cebidae*. *In: Genética comparada de primatas brasileiros*. Saldanha, P. ed. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1982.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. Cytogenetics of Brazilian monkeys. **J. Hum. Evol.** 3: 275-282, 1974.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. Importância do estudo cromossômico em macacos sul-americanos. **Ciencia e Cultura** 29: 162-170, 1977.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. The karyotype of *Brachyteles arachnoides* (E. Geoffroy, 1806) (Primates: *Platyrrhini*). **Genetica** 48: 129-130, 1978.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. Chromosome variability in the family

- Cebidae (Platyrrhini)*. **Rev. Brasil. Genet.** 4: 667-677, 1981a.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. The karyotype of *Cacajao melanocephalus* (Platyrrhini, Primates). **Folia Primatol.** 36: 150-155, 1981b.
- KOIFFMANN, C. P.; SALDANHA, P. H. Karyotypic studies in *Atelinae* monkeys. **Rev. Brasil. Genet.** 4: 773-792, 1982.
- KORSTANJE, R.; O'BRIEN, P. C.; YANG, F.; RENS, W.; BOSMA, A. A.; van LITH, H. A.; van ZUTPHEN, L. F.; FERGUSON-SMITH, M. A. Complete homology maps of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and human by reciprocal chromosome painting. **Cytogenet. Cell. Genet.** 86: 317-322, 1999.
- KUKAMOTO, A. T.; HOUCK, M. L. Cytogenetic identification of a hybrid owl monkey, *Aotus nancymae* x *Aotus lemurinus griseimembra*. **J. Zoo Wildl. Med.** 32: 130-133, 2001.
- KUNKEL, L. M.; HELTNE, P. G.; BORGAONKAR, D. S. Chromosomal variation and zoogeography in *Ateles*. **Int. J. Primatol.** 1: 223-232, 1980.
- LENGAUER, C.; WIENBERG, J.; CREMER, T.; LÜDECKE, H.-J.; HORSTHEMKE, B. Comparative chromosome band mapping in primates by *in situ* suppression hybridization of band specific DNA microlibraries. **Hum. Evol.** 6: 67-71, 1991.
- LIMA, M. M. C.; SAMPAIO, M. I. C.; SCHNEIDER, M. P. C.; SCHEFFRAHN, W.; SCHNEIDER, H.; SALZANO, F. M. Chromosome and protein variation in red howler monkeys. **Rev. Brasil. Genet.** 13: 789-802, 1990.
- LIMA, M. M. C.; SEUÁNEZ, H. N. Cytogenetic characterization of *Alouatta belzebul* with atypical pelage coloration. **Folia Primatol.** 52: 97-101, 1989.
- LIMA, M. M. C.; SEUÁNEZ, H. N. Chromosome studies in the red howler monkey *Alouatta seniculus stramineus* (Platyrrhini, Primates): description of an $X_1X_2Y_1Y_2/X_1X_1X_2X_2$ sex-chromosome system and karyological comparison with other subspecies. **Cytogenet. Cell. Genet.** 57: 151-156, 1991.

- LUPSKI, J. R.; STANKIEWICZ, P. Genomic disorders: molecular mechanisms for rearrangements and conveyed phenotypes. **PLoS Genet.** 1: e49. DOI:10.1371/journal.pgen.0010049, 2005.
- MA, N. S. F. Chromosome evolution in the owl monkey, *Aotus*. **Am. J. Phys. Anthropol.** 54: 293-303, 1981.
- MA, N. S. F.; AQUINO, R.; COLLINS, W. E. Two new karyotypes in the Peruvian owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Am. J. Primatol.** 9: 333-341, 1985.
- MA, N. S. F.; GERHARD, D. S.; BOCK, S. C. Homologs of eleven loci on human chromosome 11 assigned to two owl monkey chromosomes. **Cytogenet. Cell. Genet.** 56: 206-211, 1991.
- MA, N. S. F.; JONES, T. C.; BEDARD, M. T.; MILLER, A.; MORGAN, L.; ADAMS, E. The chromosome complement of an *Aotus* hybrid. **J. Hered.** 68: 409-412, 1977.
- MA, N. S. F.; JONES, T. C.; MILLER, A.; MORGAN, L.; ADAMS, E. Chromosome polymorphism and banding patterns in the owl monkey (*Aotus*). **Lab. Anim. Sci.** 26: 1022-1036, 1976.
- MA, N. S. F.; JONES, T. C.; THORINGTON, R. W.; MILLER, A. C.; MORGAN, L. M. Y-autosome translocation in the howler monkeys, *Alouatta palliata*. **J. Med. Primatol.** 4: 299-307, 1975.
- MA, N. S. F.; RENQUIST, D. M.; HALL, R.; SEBGAL, P. K.; SIMONE, T.; JONES, T. C. XX/XO sex determination system in a population of Peruvian owl monkey, *Aotus*. **J. Heredity** 71: 336-342, 1980.
- MA, N. S. F.; ROSSAN, R. N.; KELLEY, S. T.; HARPER, J. S.; BEDARD, M. T.; JONES, T. C. Banding patterns of the chromosomes of two new karyotypes of the owl monkey, *Aotus*, captured in Panamá. **J. Med. Primatol.** 7: 146-155, 1978.
- MAKRINOU, E.; FOX, M.; WOLFE, J.; CAMERON, J.; TAYLOR, K.; EDWARDS, Y. H. *DNM1DN*: a new class of paralogous genomic segments (duplicons) with highly conserved copies on chromosomes Y and 15. **Ann. Hum. Genet.** 68: 85-92, 2004.

- MASSOIA, E.; VACCARO, O. B.; GALLIAR, C.; AMBROSINI, S. La mastofauna del rio Uruguay-i, Provincia de Misiones. **Rev. Mus. Arg. Cs. Nat.** 14: 111-124, 1987.
- MAYR, E. Species, speciation and chromosomes. *In*: **Comparative mammalian cytogenetics**. Benirschke, K. ed. Berlin, Springer-Verlag, 1-7, 1969.
- MEDEIROS, M. A.; BARROS, R. M. S.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y.; PONSÁ, M.; GARCÍA, M.; GARCÍA, F.; EGOZCUE, J. Radiation and speciation of spider monkeys, Genus *Ateles*, from the cytogenetic viewpoint. **Am. J. Primatol.** 42: 167-178, 1997.
- MEIRELES, C. M.; CZELUSNIAK, J.; FERRARI, S. F.; SCHNEIDER, M. P. C.; GOODMAN, M. Phylogenetic relationships among Brazilian howler monkeys, genus *Alouatta* (*Platyrrhini*, *Atelidae*), based on γ^1 -globin pseudogene sequences. **Genet. Mol. Biol.** 22: 337-344, 1999a.
- MEIRELES, C. M.; CZELUSNIAK, J.; SCHNEIDER, M. P. C.; MUÑIZ, J. A. P. C.; BRIGIDO, M. C.; FERREIRA, H. S.; GOODMAN, M. Molecular phylogeny of Ateline New World monkeys (*Platyrrhini*, *Atelinae*) based on γ -globine gene sequences: evidence that *Brachyteles* is the sister group of *Lagothrix*. **Mol. Phylogenet. Evol.** 12: 10-33, 1999b.
- MIKKELSEN, T. S.; WAKEFIELD, M. J.; AKEN, B.; AMEMIYA, C. T.; CHAN, J. L.; DUKE, S.; GARBER, M.; GENTLES, A. J.; GOODSTADT, L.; HEGER, A.; JURKA, J.; KAMAL, M.; MAUCELI, E.; SEARLE, S. M. J.; SHARPE, T.; BAKER, M. L.; BATZER, M. A.; BENOS, P. V.; BELOV, K.; CLAMP, M.; COOK, A.; CUFF, J.; DAS, R.; DAVIDOW, L.; DEAKIN, J. E.; FAZZARI, M. J.; GLASS, J. L.; GRABHERR, M.; GREALLY, J. M.; GU, W.; HORE, T. A.; HUTTLEY, G. A.; KLEBER, M.; JIRTLE, R. L.; KOINA, E.; LEE, J. T.; MAHONY, S.; MARRA, M. A.; MILLER, R. D.; NICHOLLS, R. D.; ODA, M.; PAPENFUSS, A. T.; PARRA, Z. E.; POLLOCK, D. D.; RAY, D. A.; SCHEIN, J. E.; SPEED, T. P.; THOMPSON, K.; VANDEBERG, J. L.; WADE, C. M.; WALKER, J. A.; WATERS, P. D.; WEBBER, C.; WEIDMAN, J. R.; XIE, X.; ZODY, M. C.; BROAD INSTITUTE GENOME SEQUENCING PLATFORM; BROAD INSTITUTE WHOLE GENOME ASSEMBLY TEAM; GRAVES, J. A. M.; PONTING, C. P.; BREEN, M.; SAMOLLOWSKY, P. B.; LANDER, E. S.; LINDBLAD-TOH, K. Genome of the marsupial *Monodelphis domestica*

- reveals innovation in non-coding sequences. **Nature** 447: 167-178, 2007.
- MILLER, C. K.; MILLER, D. A.; MILLER, O. J.; TANTRAVAH, R.; REESE, R. T. Banded chromosomes of the owl monkey, *Aotus trivirgatus*. **Cytogen. Cell. Genet.** 19: 215-226, 1977.
- MILLER, E. R.; GUNNELL, G. F.; MARTIN, R. D. Deep time and the search for anthropoid origins. **Am. J. Phys. Anthropol.** 48: 60-95, 2005.
- MINEZAWA, M.; BORDA, C. J. V. Cytogenetic study of the Bolivian titi and revision of its cytotaxonomy state. **Reports of New World monkeys**. Kyoto University Overseas Research, 4: 39-45, 1984.
- MINEZAWA, M.; HARADA, M.; JORDAN, C.; BORDA, J. V. Cytogenetics of Bolivian endemic red howler monkeys (*Alouatta seniculus sara*): accessory chromosomes and Y-autosome translocation related numerical variations. **Reports of New World monkeys**. Kyoto University Overseas Research, 5: 7-16, 1985.
- MINEZAWA, M.; JORDAN, C. O. C.; BORDA, C. J. V. Karyotypic study of titi monkeys, *Callicebus moloch brunneus*. **Primates** 30: 81-88, 1989.
- MINEZAWA, M.; VALDIVIA, J. Cytogenetic study of the Bolivian monkeys: I. Preliminary report on karyotypes of *Cebus apella*, *Saimiri sciureus*, *Aotus azarae* and *Saguinus labiatus*. **Reports of New World Monkeys**. Kyoto University Overseas Research, 4: 53-67, 1984.
- MISCEO, D.; VENTURA, M.; EDER, V.; ROCCHI, M.; ARCHIDIACONO, N. Human chromosome 16 conservation in primates. **Chromosome Res.** 11: 323-326, 2003.
- MITTERMEIER, R. A.; COIMBRA-FILHO, A. F. Systematics: species and subspecies. *In*: **Ecology and behaviour of neotropical primates**. Coimbra-Filho, F.; Mittermeier, R. A. eds. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 1A: 29-110, 1981.
- MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; COIMBRA-FILHO, A. F. Systematics: species and subspecies, an update. *In*: **Ecology and Behaviour of Neotropical Primates**. Mittermeier, R. A.; Rylands, A.

- B.; Coimbra-Filho, A. F.; da Fonseca, G. A. B. eds. World Wildlife Fund, Washington, DC, 2: 13-75, 1988.
- MOORE, A. J.; CHEVERUD, J. M. Systematics of the *Saguinus oedipus* group of the bare-face tamarins: evidence from facial morphology. **Am. J. Phys. Anthropol.** 89: 73-84, 1992.
- MOORHEAD, P. S.; NOWELL, P. C.; MELLMAN, W. J.; BATTIPS, D. M.; HUNGERFORD, D. A. Chromosome preparations of leukocyte cultures from human peripheral blood. **Exp. Cell. Res.** 20: 613-616, 1960.
- MOREIRA, M. A. M. SRY evolution in *Cebidae* (*Platyrrhini*, Primates). **J. Mol. Evol.** 55: 92-103, 2002.
- MOREIRA, M. A. M.; CANAVEZ, F. C.; PARHAM, P.; SEUÁNEZ, H. N. Assignment of TCF1, TGM1, CALM1, CKB, THBS1, B2M, and FES in *Ateles paniscus chamek* (*Platyrrhini*, Primates). **Cytogenet. Cell. Genet.** 79: 92-96, 1997.
- MORESCALCHI, M. A.; SCHEMPP, W.; CONSIGLIERE, S.; BIGONI, F.; WIENBERG, J.; STANYON, R. Mapping chromosomal homology between humans and the black-handed spider monkey by fluorescence *in situ* hybridization. **Chromosome Res.** 5: 527-536, 1997.
- MUDRY, M. D. Cytogenetic variability within and across populations of *Cebus apella* in Argentina. **Folia Primatol.** 54: 206-216, 1990.
- MUDRY, M. D.; NIEVES, M.; BOLZÁN, A. D. Chromosomal localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in eight species of New World Primates (Neotropical Primates, *Platyrrhini*). **Cytogenet. Genome Res.** 119: 221-224, 2007.
- MUDRY, M.; PONSÀ, M.; BORRELL, A.; EGOZCUE, J.; GARCÍA, M. Prometaphase chromosomes of the howler monkey (*Alouatta caraya*): G, C, NOR, and restriction enzyme (REs) banding. **Am. J. Primatol.** 33: 121-132, 1994.
- MUDRY, M. D.; RAHN, I. M.; GOROSTIAGA, M.; HICK, A.; MERANI, M. S.; SOLARI, A. J. Revised karyotype of *Alouatta caraya* (Primates: *Platyrrhini*) based on synaptonemal complex and banding analyses.

Hereditas 128: 9-16, 1998.

MUDRY, M. D.; RAHN, I. M.; SOLARI, A. J. Meiosis and chromosome painting of sex chromosome systems in *Ceboidea*. **Am. J. Primatol.** 54: 65-78, 2001.

MUDRY, M. D.; SLAVUTSKY, I.; LABAL-de-VINUESA, M. Chromosome among five species of *Platyrrhini* (*Alouatta caraya*, *Aotus azarae*, *Callithrix jacchus*, *Cebus apella* and *Saimiri sciureus*). **Primates** 31: 415-420, 1990.

MUDRY, M.; SLAVUTSKY, I.; ZUNINO, G.; DELPRAT, A.; BROWN, A. A new karyotype of *Cebus apella* (*Cebidae*, *Platyrrhini*) from Argentina. **Rev. Brasil. Genet.** 14: 729-738, 1991.

MUDRY, M. D.; ZUNINO, G. E.; SLAVUTSKY, I.; DELPRAT, A. Características poblacionales y cariotípicas del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) de Argentina. **Boletín Primatológico Latinoamericano** 3: 1-11, 1992.

MUDRY-DE-PARGAMENT, M. D.; LABAL-DE-VINUESA, M. L.; BRIEUX-DE-SALUM, S. Étude cytogénétique du "cai" d'Argentine (*Cebus apella*). **Ann. Génét.** 27: 102-105, 1984a.

MUDRY-DE-PARGAMENT, M. D.; LABAL-DE-VINUESA, M. L.; COLILLAS, O. J.; BRIEUX-DE-SALUM, S. Banding patterns of *Alouatta caraya*. **Rev. Brasil. Genet.** 7: 373-379, 1984b.

MUDRY, M. P.; COLILLAS, O. J.; BRIEUX, S. S. The *Aotus* of northern Argentina. **Primates** 25: 530-537, 1984.

MÜLLER, S. Primate chromosome evolution. *In: Genomic disorders. The genomic basis of disease*. Lupski, J. R.; Stankiewicz, P. ed. Totowa, NJ, Humana Press, 133-152, 2006.

MÜLLER, S.; FINELLI, P.; NEUSSER, M.; WIENBERG, J. The evolutionary history of human chromosome 7. **Genomics** 84: 458-467, 2004.

MÜLLER, S.; HOLLATZ, M.; WIENBERG, J. Chromosomal phylogeny and evolution of gibbons (*Hylobatidae*). **Hum. Genet.** 113: 493-501, 2003.

- MÜLLER, S.; NEUSSER, M.; O'BRIEN, P. C. M.; WIENBERG, J. Molecular cytogenetic characterization of the EBV - producing cell line B95-8 (*Saguinus oedipus*, *Platyrrhini*) by chromosome sorting and painting. **Chromosome Res.** 9: 689-693, 2001.
- MÜLLER, S.; O'BRIEN, P. C. M.; FERGUSON-SMITH, M. A.; WIENBERG, J. Reciprocal chromosome painting between human and prosimians (*Eulemur macaco macaco* and *E. fulvus mayottensis*). **Cytogenet. Cell. Genet.** 78: 260-271, 1997.
- MÜLLER, S.; O'BRIEN, P. C. M.; FERGUSON-SMITH, M. A.; WIENBERG, J. Cross-species colour segmenting: a novel tool in human karyotype analysis. **Cytometry** 33: 445-452, 1998.
- MÜLLER, S.; STANYON, R.; FINELLI, P.; ARCHIDIACONO, N.; WIENBERG, J. Molecular cytogenetic dissection of human chromosomes 3 and 21 evolution. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 97: 206-211, 2000.
- MÜLLER, S.; STANYON, R.; O'BRIEN, P. C. M.; FERGUSON-SMITH, M. A.; PLESKER, R.; WIENBERG, J. Defining the ancestral karyotype for all primates by multidirectional chromosome painting between tree shrews, lemurs and humans. **Chromosoma** 108: 393-400, 1999.
- MÜLLER, S.; WIENBERG, J. "Bar-coding" primate chromosomes: molecular cytogenetic screening for the ancestral hominoid karyotype. **Hum. Genet.** 109: 85-94, 2001.
- MUNDY, N.; KELLY, J. Phylogeny of lion tamarins (*Leontopithecus spp.*) based on interphotoreceptor retinol binding protein sequences. **Am. J. Primatol.** 54: 33-40, 2001.
- MURPHY, W. J.; FRÖNICKE, L.; O'BRIEN, S. J.; STANYON, R. The origin of human chromosome 1 and its homologs in placental mammals. **Genome Res.** 13: 1880-1888, 2003.
- MURPHY, W. J.; LARKIN, D. M.; VAN DER WIND, A. E.; BOURQUE, G.; TESLER, G.; AUVIL, L.; BEEVER, J. E.; CHOWDHARY, B. P.; GALIBERT, F.; GATZKE, L.; HITTE, C.; MEYERS, S. N.; MILAN, D.; OSTRANDER, E. A.; PAPE, G.; PARKER, H. G.; RAUDSEPP, T.; ROGATCHEVA, M. B.; SCHOOK, L. B.; SKOW, L. C.; WELGE, M.;

- WOMACK, J. E.; O'BRIEN, S. J.; PEVZNER, P. A.; LEWIN, H. A. Dynamics of mammalian chromosome evolution inferred from multispecies comparative maps. **Science** 309: 613-617, 2005.
- MURPHY, W. J.; STANYON, R.; O'BRIEN, S. J. Evolution of mammalian genome organization inferred from comparative gene mapping. **Genome Biol.** 2: Reviews0005.1-0005.8, 2001.
- NAGAMACHI, C. Y.; FERRARI, I. Cytogenetic studies of *Callithrix jacchus* (*Callithricidae*, *Platyrrhini*) from two different sites in Brazil. I. Morphologic variability of chromosome Y. **Rev. Brasil. Genet.** 3: 497-507, 1984.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C. Chromosome studies of *Saguinus midas niger*, (*Callithricidae*, Primates) from Tucuruí, Pará, Brazil: comparison with the karyotype of *Callithrix jacchus*. **Am. J. Primatol.** 14: 277-284, 1988.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; BARROS, R. M. S. Cytogenetic study of *Saguinus midas midas* (*Callithricidae*, Primata) from Jari, Brazilian Amazon region. Comparison with the karyotype of *Saguinus midas niger*. **Rev. Brasil. Genet.** 13: 89-96, 1990.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; BARROS, R. M. S. Karyotypic comparison among *Cebuella pygmaea*, *Callithrix jacchus* and *C. emiliae* (*Callitrichidae*, Primates) and its taxonomic implications. **Genetica** 85: 249-257, 1992.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; MUNIZ, J. A.; BARROS, R. M. S.; MATTEVI, M. S. Proposed chromosomal phylogeny for the South American primates of the *Callitrichidae* family (*Platyrrhini*). **Am. J. Primatol.** 49: 133-152, 1999a.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; PISSINATI, A.; RODRIGUES, L. R. R.; GONÇALVES, A. C. O.; BARROS, R. M. S. Dados citogenéticos apoiam a colocação de *Callicebus personatus* (Primates, *Cebidae*) em um grupo próprio. IX Congresso Brasileiro de Primatologia, Santa Tereza, E. S., Brasil, 78, 1999b.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; SCHWARZ, M.; BARROS, R. M.; MATTEVI, M. S. Chromosomal similarities and differences between

- tamarins, *Leontopithecus* and *Saguinus* (Platyrrhini, Primates). **Am. J. Primatol.** 43: 265-276, 1997.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; SCHWARZ, M.; PAIVA, C. M. C.; BARROS, R. M. S.; MATTEVI, M. S. Karyotype of *Callithrix mauesi* (Callitrichidae, Primates) and its relations with those of *C. emiliae* and *C. jacchus*. **Am. J. Primatol.** 33: 309-315, 1994.
- NAGAMACHI, C. Y.; RODRIGUES, L. R. R.; GALETTI JR., P. M.; MANTOVANI, M.; PISSINATI, A.; RISSINO, J. D.; BARROS, R. M. S.; PIECZARKA, J. C. Cytogenetic studies in *Callicebus personatus nigrifrons* (Platyrrhini, Primates). **Caryologia** 56: 47-52, 2003.
- NAPIER, J. R.; NAPIER, P. H. **A handbook of living primates**. London & New York. Academic Press, 1967.
- NASCIMENTO, F. F.; BONVICINO, C. R.; DA SILVA, F. C. D.; SCHNEIDER, M. P. C.; SEUÁNEZ, H. N. Cytochrome *b* polymorphisms and population structure of two species of *Alouatta* (Primates). **Cytogenet. Genome Res.** 108: 106-111, 2005.
- NASH, W. G.; O'BRIEN, S. J. Conserved regions of homologous G-banded chromosomes between orders in mammalian evolution: carnivores and primates. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 79: 6631-6635, 1982.
- NASH, W. G.; WINEBERG, J.; FERGUSON-SMITH, M. A.; MENNINGER, J. C.; O'BRIEN, S. J. Comparative genomics: tracking chromosome evolution in the family *Ursidae* using reciprocal chromosome painting. **Cytogenet. Cell. Genet.** 83: 182-192, 1998.
- NAVARRO, A.; BARTON, N. H. Accumulating postzygotic isolation genes in parapatry: a new twist on chromosomal speciation. **Evolution** 57: 447-459, 2003a.
- NAVARRO, A.; BARTON, N. H. Chromosomal speciation and molecular divergence-accelerated evolution in rearranged chromosomes. **Science** 300: 321-324, 2003b.
- NEUSSER, M.; MÜNCH, M.; ANZENBERGER, G.; MÜLLER, S. Investigation of marmoset hybrids (*Cebuella pygmaea* x *Callithrix jacchus*) and related *Callitrichinae* (Platyrrhini) by cross-species chromosome

- painting and comparative genomic hybridization. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 191-196, 2005.
- NEUSSER, M.; STANYON, R.; BIGONI, F.; WIENBERG, J.; MÜLLER, S. Molecular cytotaxonomy of the New World monkeys (*Platyrrhini*) - comparative analysis of five species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of *Callimico goeldii* within the family of *Callitrichidae*. **Cytogenet. Cell. Genet.** 94: 206-215, 2001.
- NEVILLE, M. K.; GLANDER, K. E.; BRAZA, F.; RYLANDS, A. B. The howling monkeys, genus *Alouatta*. In: **Ecology and behavior of Neotropical primates**. Mittermeier, R. A. *et al.*, eds. World Wildlife Fund, Washington, 1988.
- NICKERSON, E.; NELSON, D. L. Molecular definition of pericentric inversion breakpoints occurring during the evolution of humans and chimpanzees. **Genomics** 50: 368-372, 1998.
- NIE, W.; LIU, R.; CHEN, Y.; WANG, J.; YANG, F. Mapping chromosomal homologies between human and two langurs (*Semnopithecus francoisi* and *S. phayrei*) by chromosome painting. **Chromosome Res.** 6: 447-453, 1998.
- NIE, W.; O'BRIEN, P. C. M.; FU, B.; WANG, J.; SU, W.; FERGUSON-SMITH, M. A.; ROBINSON, T. J.; YANG, F. Chromosome painting between human and Lorisiform Prosimians: evidence for the HSA 7/16 synteny in the primate ancestral karyotype. **Am. J. Phys. Anthropol.** 129: 250-259, 2006.
- NIEVES, M.; ASCUNCE, M. S.; RAHN, M. I.; MUDRY, M. D. Phylogenetic relationships among some *Ateles* species: the use of chromosomal and molecular characters. **Primates** 46: 155-164, 2005.
- NOWAK, R. M. **Primates of the world**. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Md, 100-101, 1999.
- O'BRIEN, S. J.; CEVARIO, S. J.; MARTENSON, J. S.; THOMPSON, M. A.; NASH, W. G.; CHANG, E.; GRAVES, J. A. M.; SPENCER, J. A.; CHO, K. W.; TSUJIMOTO, H.; LYONS, L. A. Comparative gene mapping in the domestic cat (*Felis catus*). **J. Hered.** 88: 408-414, 1997.

- O'BRIEN, S. J.; SEUÁNEZ, N.; WOMACK, E. Mammalian genome organization: an evolutionary view. **Annu. Rev. Genet.** 22: 323-351, 1988.
- O'BRIEN, S. J.; STANYON, R. Ancestral primate viewed. **Nature** 402: 365-366, 1999.
- OHNO, S. **Evolution by gene duplication**. Springer, New York, 1970.
- OHNO, S. Ancient linkage groups and frozen accidents. **Nature** 244: 259-262, 1973.
- PIECZARKA, J. C.; BARROS, R. M.; FARIA, J. R.; NAGAMACHI, C.Y. *Aotus* from the southwestern Amazon region is geographically and chromosomally intermediate between *A. azarae boliviensis* and *A. infulatus*. **Primates** 34: 197-204, 1993.
- PIECZARKA, J. C.; BARROS, R. M.; NAGAMACHI, C. Y.; RODRIGUEZ, R.; ESPINEL, A. *Aotus vociferans* x *Aotus nancymai*: sympatry without chromosomal hybridation. **Primate** 33: 239-245, 1992.
- PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y. Cytogenetic studies of *Aotus* from eastern Amazonia: Y/autosome rearrangement. **Am. J. Primatol.** 14: 255-263, 1988a.
- PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y. The karyotype of *Callicebus moloch moloch* (Cebidae, Primates). **Rev. Brasil. Genet.** 11: 653-659, 1988b.
- PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y.; BARROS, R. M. S. The karyotype of *Ateles paniscus paniscus* (Cebidae, Primates): 2n = 32. **Rev. Brasil. Genet.** 12: 543-551, 1989.
- PONSÀ, M.; GARCÍA, M.; BORRELL, A.; GARCÍA, F.; EGOZCUE, J.; GOROSTIAGA, M. A.; DELPRAT, A.; MUDRY, M. Heterochromatin and cytogenetic polymorphisms in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). **Am. J. Primatol.** 37: 325-331, 1995.
- PORTER, C. A.; CZELUSNIAK, J.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P.; SAMPAIO, I.; GOODMAN, M. Sequences of the primate epsilon-

- globin gene: implications for systematics of the marmosets and other New World primates. **Gene** 205: 59-71, 1997.
- PUJANA, M. A.; NADAL, M.; GUITART, M.; ARMENGOL, L.; GRATACÒS, M.; ESTIVILL, X. Human chromosome 15q11-q14 regions of rearrangements contain clusters of *LCR15* duplicons. **Eur. J. Hum. Genet.** 10: 26-35, 2002.
- QIAN, Y.; JIN, L.; SU, B. Construction and characterization of bacterial artificial chromosome library of black-handed spider monkey (*Ateles geoffroyi*). **Genome** 47: 239-245, 2004.
- RAHN, M. I.; MUDRY, M.; MERANI, M. S.; SOLARI, A. J. Meiotic behavior of the $X_1X_2Y_1Y_2$ quadrivalent of the primate *Alouatta caraya*. **Chrom. Research** 4: 350-356, 1996.
- RAY, D. A. XING, J.; HEDGES, D. J.; HALL, M. A.; LABORDE, M. E.; ANDERS, B. A.; WHITE, B. R.; STOILOVA, N.; FOWLKES, J. D.; LANDRY, K. E.; CHEMNICK, L. G.; RYDER, O. A.; BATZER, M. A. Alu insertion loci and platyrrhine primate phylogeny. **Mol. Phylogenet. Evol.** 35: 117-126, 2005.
- RETTENBERGER, G.; KLETT, C.; ZECHNER, U.; KUNZ, J.; VOGEL, W.; HAMEISTER, H. Visualization of the conservation of synteny between humans and pigs by heterologous chromosomal painting. **Genomics** 26: 372-378, 1995.
- REUMER, J. W.; DE BOER, L. E. Standardization of *Aotus* chromosome nomenclature with descriptions of the $2n = 49-50$ karyotype and that of a new hybrid. **J. Hum. Evol.** 9: 461-482, 1980.
- RICHARD, F.; DUTRILLAUX, B. Origin of human chromosome 21 and its consequences: a 50-million-year-old story. **Chromosome Res.** 6: 263-268, 1998.
- RICHARD, F.; LOMBARD, M.; DUTRILLAUX, B. Zoo-FISH suggests a complete homology between human and capuchin monkey (*Platyrrhini*) euchromatin. **Genomics** 36: 417-423, 1996.
- RICHARD, F.; LOMBARD, M.; DUTRILLAUX, B. Phylogenetic origin of human chromosomes 7, 16, and 19 and their homologs in placental

- mammals. **Genome Res.** 10: 644-651, 2000.
- RICHARD, F.; LOMBARD, M.; DUTRILLAUX, B. Reconstruction of the ancestral karyotype of eutherian mammals. **Chromosome Res.** 11: 605-618, 2003.
- RIED, T.; ARNOLD, N.; WARD, D. C.; WIENBERG, J. Comparative high-resolution mapping of human and primate chromosomes by fluorescence *in situ* hybridization. **Genomics** 18: 381-386, 1993.
- RIESEBERG, L. H. Chromosomal rearrangements and speciation. **Trends Ecol. Evol.** 16: 351-358, 2001.
- ROBINSON, T. J.; RUIZ-HERRERA, A.; FROENICKE, L. Dissecting the mammalian genome - new insights into chromosomal evolution. **Trends Genet.** 22: 297-301, 2006.
- ROBINSON, T. J.; SEIFFERT, E. Afrotherian origins and interrelationships: new views and future prospects. **Curr. Top. Dev. Biol.** 63: 37-60, 2004.
- RODRIGUES, L. R. R.; BARROS, R. M. S.; PISSINATI, A.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y. Cytogenetic study of *Callicebus hoffmanni* (Cebidae, Primates) and comparison with *C. m. moloch*. **Cytobios** 105: 137-145, 2001.
- RODRIGUES, L. R. R.; BARROS, R. M. S.; PISSINATI, A.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y. A new karyotype of an endangered primate species (*Callicebus personatus*) from the Brazilian Atlantic forests. **Hereditas** 140: 87-91, 2004.
- ROKAS, A.; HOLLAND, P. W. Rare genomics changes as a tool for phylogenetics. **Trends Ecol. Evol.** 15: 454-459, 2000.
- ROMAGNO, D.; CHIARELLI, B.; GUARDUCCI, S.; UZIELLI, M. L. G.; SINEO, L. Chromosome mapping of GABRB3 and PML loci in *Macaca* and *Cercopithecus* indicates the mechanism of evolution of human chromosome 15. **Chromosome Res.** 8: 747-749, 2000.
- ROOSMALEN, M. G. M. Van; KLEIN, L. L. The spider monkeys, genus *Ateles*. *In: Ecology and Behaviour of Neotropical Primates*. Mittermeier, R.

- A.; Rylands, A. B.; Coimbra-Filho, A. F.; da Fonseca, G. A. B. eds. World Wildlife Fund, Washington, DC, 2: 455-537, 1988.
- ROSENBERGER, A. L. Systematics: The higher *taxa*. In: **Ecology and behavior of neotropical primates**. Coimbra-Filho, A. F.; Mittermeier, R. eds.. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro 1: 9-27, 1981.
- ROSENBERGER, A. L. Fossil New World monkeys dispute the molecular clock. **J. Hum. Evol.** 13: 737-742, 1984.
- ROSENBERGER, A. L.; SETOGUCHI, T.; SHIGEHARA, N. The fossil record of Callitrichine primates. **J. Hum. Evol.** 19: 209-236, 1990.
- RUBTSOV, N. B.; KARAMISHEVA, T. V.; ASTAKHOVA, N. M.; LIEHR, T.; CLAUSSEN, U.; ZHDANOVA, N. S. Zoo-FISH with region-specific paints for mink chromosome 5q: delineation of inter- and intrachromosomal rearrangements in human, pig, and fox. **Cytogenet. Cell. Genet.** 90: 268-270, 2000.
- RUBTSOV, N. B.; KARAMYSHEVA, T. V.; ANDREENKOVA, O. V.; BOCHKAEREV, M. N.; KARTAVTSEVA, I. V.; ROSLIK, G. V.; BORISSOV, Y. M. Comparative analysis of micro and macro B chromosomes in the Korean field mouse *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Murinae) performed by chromosome microdissection and FISH. **Cytogenet. Genome Res.** 106: 289-294, 2004.
- RUIZ-GARCÍA, M.; ALVAREZ, D. RFLP analysis of mtDNA from six platyrrhine genera: phylogenetic inferences. **Folia Primatol.** 74: 59-70, 2003.
- RUIZ-GARCÍA, M.; ESCOBAR-ARMEL, P.; ALVAREZ, D.; MUDRY, M.; ASCUNCE, M.; GUTIERREZ-ESPELETA, G.; SHOSTELL, J. M. Genetic variability in four *Alouatta* species measured by means of nine DNA microsatellite markers: genetic structure and recent bottlenecks. **Folia Primatol.** 78: 73-87, 2007.
- RUIZ-HERRERA, A.; GARCÍA, F.; AZZALIN, C.; GIULOTTO, E.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M.; GARCÍA, M. Distribution of intrachromosomal telomeric sequences (ITS) on *Macaca fascicularis* (Primates) chromosomes and their implication for chromosome evolution. **Hum. Genet.** 110: 578-586, 2002b.

- RUIZ-HERRERA, A.; GARCÍA, F.; AGUILERA, M.; GARCIA, M.; FONTANALS, M. P. Comparative chromosome painting in *Aotus* reveals a highly derived evolution. **Am. J. Primatol.** 65: 73-85, 2005b.
- RUIZ-HERRERA, A.; GARCÍA, F.; MORA, L.; EGOZCUE, J.; PONSÀ, M.; GARCÍA, M. Evolutionary conserved chromosomal segments in the human karyotype are bounded by unstable chromosome bands. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 161-174, 2005a.
- RUIZ-HERRERA, A.; PONSÀ, M.; GARCÍA, F.; EGOZCUE, J.; GARCÍA, M. Fragile sites in human and *Macaca fascicularis* are breakpoints in chromosome evolution. **Chromosome Res.** 10: 33-44, 2002a.
- RUMPLER, Y.; DUTRILLAUX, B. Evolution chromosomique des Prosimiens. **Mammalia** 50: 82-107, 1986.
- RYLANDS, A. B.; SCHNEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A.; GROVES, C. P.; RODRIGUES, L. R. An assessment of the diversity of New World primates. **Neotrop. Primates** 8: 61-93, 2000.
- SAMONTE, R. V.; EICHLER, E. E. Segmental duplications and the evolution of the primate genome. **Nat. Rev. Genet.** 3: 65-72, 2002.
- SAMPAIO, M. I. C.; SCHNEIDER, M. P. C. Electrophoretic studies of a natural population of *Chiropotes satanas satanas* (Cebidae, Platyrrhini) from the Amazonian region. **Rev. Brasil. Genet.** 1: 67-74, 1986.
- SCHERTHAN, H.; CREMER, T.; ARNASON, U.; WEIER, H. U.; LIMA-DE-FARIA, A.; FRÖNICKE, L. Comparative chromosome painting discloses homologous segments in distantly related mammals. **Nat. Genet.** 6: 342-347, 1994.
- SCHNEIDER, H.; CANAVEZ, F. C.; SAMPAIO, I.; MOREIRA, M. A. M.; TAGLIARO, C. H.; SEUÁNEZ, H. N. Can molecular data place each neotropical monkey in its own branch? **Chromosoma** 109: 515-523, 2001.

- SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P. C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M. L.; STANHOPE, M.; CZELUSNIAK, J.; GOODMAN, M. Molecular phylogeny of the New World monkeys (*Platyrrhini*, Primates). **Mol. Phylogenet. Evol.** 2: 225-242, 1993.
- SCHNEIDER, I.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P.; SILVA, A. The prion protein and New World primate phylogeny. **Genet. Mol. Biol.** 27: 505-510, 2004.
- SEABRIGHT, M. A rapid banding technique for human chromosome. **Lancet** 2: 971-972, 1971.
- SEARLE, J. B. A hybrid zone comprising staggered chromosomal clines in the house mouse (*Mus musculus domesticus*). **Proc. R. Soc. Lon. B Biol. Sci.** 246: 47-52, 1991.
- SENA, L.; VALLINOTO, M.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H.; FERRARI, S. F.; SCHNEIDER, M. P. Mitochondrial COII gene sequences provide new insights into the phylogeny of marmoset species groups (*Callitrichidae*, Primates). **Folia Primatol.** 73: 240-251, 2002.
- SEUÁNEZ, H. N.; ALVES, G.; O'BRIEN, S. J. Genetic characterization of parental cell lines and biochemical analysis of somatic cell hybrids between mouse (RAG) cells and fibroblasts of *Ateles paniscus chamek* (Primates, *Platyrrhini*). **Am. J. Primatol.** 30: 181-194, 1993.
- SEUÁNEZ, H. N.; ALVES, G.; O'BRIEN, S. J. Gene mapping in the spider monkey (*Ateles paniscus chamek*). **J. Hered.** 85: 466-473, 1994.
- SEUÁNEZ, H. N.; ARMADA, J. L.; BARROSO, C.; REVENDE, C.; DA SILVA, V. F. The meiotic chromosomes of *Cebus apella* (*Cebidae*, *Platyrrhini*). **Cytogenet. Cell. Genet.** 36: 517-524, 1983.
- SEUÁNEZ, H. N.; BONVICINO, C. R.; MOREIRA, M. A. M. The primates of the Neotropics: genomes and chromosomes. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 38-46, 2005.
- SEUÁNEZ, H. N.; DIFIORE, A.; MOREIRA, M. A. M.; ALMEIDA, C. A. S.; CANAVEZ, F. C. Genetic studies in *Leontopithecus*. In: **Lion tamarins: biology and conservation**. Kleiman, D. G.; Rylands, A. B. eds.. Smithsonian Institution Press, Washington DC 117-132, 2002.

- SEUÁNEZ, H. N.; FORMAN, L.; ALVES, G. Comparative chromosome morphology in three Callitrichid genera: *Cebuella*, *Callithrix*, and *Leontopithecus*. **J. Hered.** 79: 418-424, 1988.
- SEUÁNEZ, H. N.; LACHTERMACHER, M.; CANAVEZ, F. C.; MOREIRA, M. A. M. The human chromosome 3 gene cluster ACY1-CACNA1D-ZNF64-ATP2B2 is evolutionarily conserved in *Ateles paniscus chamek* (*Platyrrhini*, Primates). **Cytogenet. Cell. Genet.** 77: 314-317, 1997.
- SEUÁNEZ, H. N.; LIMA, C. R.; LEMOS, B.; BONVICINO, C. R.; MOREIRA, M. A. M.; CANAVEZ, F. C. Gene assignment in *Ateles paniscus chamek* (*Platyrrhini*, Primates). Allocation of 18 markers of human syntenic groups 1, 2, 7, 14, 15, 17 and 22. **Chromosome Res.** 9: 631-639, 2001.
- SHERLOCK, J. K.; GRIFFIN, D. K.; DELHANTY, J. D. A.; PARRINGTON, J. M. Homologies between human and marmoset (*Callithrix jacchus*) chromosomes revealed by comparative chromosome painting. **Genomics** 33: 214-219, 1996.
- SILVA-LÚPEZ, G.; MOTTA-GILL; SANCHES-HERNANDEZ, A. I. Taxonomic notes on *Ateles geoffroyi*. In: **Neotropical Primates**. Rylands, A.; Rodriguez Luna, E. eds. Conservation International, Minas Gerais, Brazil, 4, 1996.
- SINGER, S. S.; SCHMITZ, J.; SCHWIEGK, C.; ZISCHLER, H. Molecular cladistic markers in New World monkey phylogeny (*Platyrrhini*, Primates). **Mol. Phylogenet. Evol.** 26: 490-501, 2003.
- SMITH, J. D. The systematic status of the black howler monkey (*Alouatta pigra* Lawrence). **J. Mammal.** 51: 358-369, 1970.
- SOLARI, A. J.; RAHN, M. I. Fine structure and meiotic behaviour of the male multiple sex chromosomes in the genus *Alouatta*. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 262-267, 2005.
- STANKIEWICZ, P.; LUPSKI, J. R. Genomic architecture, rearrangements and genomic disorders. **Trends Genet.** 18: 74-82, 2002.
- STANKIEWICZ, P.; PARK, S. S.; INOUE, K.; LUPSKI, J. R. The evolutionary chromosome translocation 4;19 in *Gorilla gorilla* is associated with

microduplication of the chromosome fragment syntenic to sequences surrounding the human proximal *CMT1A-REP*. **Genome Res.** 11: 1205-1210, 2001.

STANYON, R.; BIGONI, F.; SLABY, T.; MÜLLER, S.; STONE, G.; BONVICINO, C. R.; NEUSSER, M.; SEUANEZ, H. N. Multi-directional chromosome painting maps homologies between species belonging to three genera of New World monkeys and humans. **Chromosoma** 113: 305-315, 2004.

STANYON, R.; BONVICINO, C. R.; SVARTMAN, M.; SEUÁNEZ, H. N. Chromosome painting in *Callicebus lugens*, the species with the lowest diploid number ($2n = 16$) known in primates. **Chromosoma** 112: 201-206, 2003b.

STANYON, R.; CONSIGLIERE, S.; BIGONI, F.; FERGUSON-SMITH, M.; O'BRIEN, P. C. M.; WIENBERG, J. Reciprocal chromosome painting between a New World primate, the woolly monkey, and humans. **Chromosome Res.** 9: 97-106, 2001.

STANYON, R.; CONSIGLIERE, S.; MÜLLER, S.; MORESCALCHI, A.; NEUSSER, M.; WIENBERG, J. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between the dusky titi and squirrel monkey. **Am. J. Primatol.** 50: 95-107, 2000.

STANYON, R.; DUMAS, F.; STONE, G.; BIGONI, F. Multidirectional chromosome painting reveals a remarkable syntenic homology between the greater galagos and the slow loris. **Am. J. Primatol.** 68: 349-359, 2006.

STANYON, R.; KOEHLER, U.; CONSIGLIERE, S. Chromosome painting reveals that galagos have highly derived karyotypes. **Am. J. Phys. Anthropol.** 117: 319-326, 2002.

STANYON, R.; ROCCHI, M.; CAPOZZI, O.; ROBERTO, R.; MISCEO, D.; VENTURA, M.; CARDONE, M. F.; BIGONI, F.; ARCHIDIACONO, N. Primate chromosome evolution: ancestral karyotypes, marker order and neocentromeres. **Chromosome Res.** 16: 17-39, 2008.

STANYON, R.; STONE, G.; GARCIA, M.; FROENICKE, L. Reciprocal chromosome painting shows that squirrels, unlike murid rodents, have

- a highly conserved genome organization. **Genomics** 82: 245-249, 2003a.
- STANYON, R.; TOFANELLI, S.; MORESCALCHI, M. A.; AGORAMOORTHY, G.; RYDER, O. A.; WIENBERG, J. Cytogenetic analysis shows extensive genomic rearrangements between red howler (*Alouatta seniculus*, Linnaeus) subspecies. **Am. J. Primatol.** 35: 171-183, 1995.
- STANYON, R.; WIENBERG, J.; ROMAGNO, D.; BIGONI, F.; JAUCH, A.; CREMER, T. Molecular and classical cytogenetic analyses demonstrate an apomorphic reciprocal chromosomal translocation in *Gorilla gorilla*. **Am. J. Phys. Anthropol.** 88: 245-250, 1992.
- STEIPER, M. E.; RUVOLO, M. New World monkey phylogeny based on X-linked G6PD DNA sequences. **Mol. Phylogenet. Evol.** 27: 121-130, 2003.
- STEIPER, M. E.; YOUNG, N. M. Primate molecular divergence dates. **Mol. Phylogenet. Evol.** 41: 384-394, 2006.
- SUMMER, A. T. A simple technique for demonstrating centromere heterochromatin. **Exp. Cell. Res.** 75: 304-306, 1972.
- SVARTMAN, M.; STONE, G.; PAGE, J. E.; STANYON, R. A chromosome painting test of the basal eutherian karyotypes. **Chromosome Res.** 12: 45-53, 2004.
- SVARTMAN, M.; STONE, G.; STANYON, R. The ancestral eutherian karyotype is present in *Xenarthra*. **PLoS. Genet.** 2(7): e109. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020109, 2006.
- TAGLIARO, C. H.; SCHNEIDER, M. P. C.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. C.; STANHOPE, M. J. Marmoset phylogenetics, conservation perspectives, and evolution of the mtDNA control region. **Mol. Biol. Evol.** 14: 674-684, 1997.
- TELENIUS, H.; CARTER, N. P.; BEBB, C. E.; NORDENSKJOLD, M.; PONDER, B. A.; TUNNACLIFFE, A. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. **Genomics** 13: 718-25, 1992.

- THREADGILL, D. S.; KRAUS, J. P.; KRAWETZ, S. A.; WOMACK, J. E. Evidence for the evolutionary origin of human chromosome 21 from comparative gene mapping in the cow and mouse. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 88: 154-158, 1991.
- THREADGILL, D. S.; WOMACK, J. E. Mapping HSA 3 loci in cattle: additional support for the ancestral synteny of HSA 3 and 21. **Genomics** 8: 1143-1148, 1991.
- TORRES, O. M.; ENCISO, S.; RUIZ, F.; SILVA, E.; YUNIS, I. Chromosome diversity of the genus *Aotus* from Colombia. **Am. J. Primatol.** 44: 255-275, 1998.
- TORRES, O. M.; RAMÍREZ, C. Estudio citogenético de *Alouatta palliata* (Cebidae). **Caldasia** 25: 193-198, 2003.
- TURLEAU, C.; de GROUCHY, J.; KLEIN, M. Caryotype d'un atèle mâle (*Ateles paniscus*). **Ann. Génét.** 17: 213-215, 1974.
- VAN ROOSMALEN, M. G. M.; VAN ROOSMALEN, T.; MITTERMEIER, R. A. A taxonomic review of the titi monkey, genus *Callicebus* Thomas, 1903, with the description of two new species, *Callicebus bernhardi* and *Callicebus stephennashi*, from Brazilian Amazonia. **Neotrop. Primates** 10: 1-52, 2002.
- VASSART, M.; GUEDANT, A.; VIE, J. C.; KERAVEC, J.; SEQUELA, A.; VOLOBOUEV, V. T. Chromosomes of *Alouatta seniculus* (Platyrrhini, Primates) from French Guiana. **J. Hered.** 87: 331-334, 1996.
- VENTURA, M.; MUDGE, J. M.; PALUMBO, V.; BURN, S.; BLENNOW, E.; PIERLUIGI, M.; GIORDA, R.; ZUFFARDI, O.; ARCHIDIACONO, N.; JACKSON, M. S.; ROCCHI, M. Neocentromeres in 15q24-26 map to duplicons with flanked an ancestral centromere in 15q25. **Genome Res.** 13: 2059-2068, 2003.
- VIEGAS-PÉQUIGNOT, E.; KOIFFMANN, C. P.; DUTRILLAUX, B. Chromosomal phylogeny of *Lagothrix*, *Brachyteles* and *Cacajao*. **Cytogenet. Cell. Genet.** 39: 99-104, 1985.
- VILLALOBOS, F.; VALERIO, A. A.; RETANA, A. P. A phylogeny of howler monkeys (Cebidae: *Alouatta*) based on mitochondrial, chromosomal

- and morphological data. **Rev. Biol. Trop.** 52: 665-677, 2004.
- VOLLETH, M.; HELLER, K. G.; PFEIFFER, R. A.; HAMEISTER, H. A comparative Zoo-FISH analysis in bats elucidates the phylogenetic relationships between Megachiroptera and five microchiropteran families. **Chromosome Res.** 10: 477-497, 2002.
- VOLLETH, M.; MÜLLER, S. Zoo-FISH in the European mole (*Talpa europaea*) detects all ancestral Boreo-eutherian human homologous chromosome associations. **Cytogenet. Genome Res.** 115: 154-157, 2006.
- WEIMER, J.; KIECHLE, M.; SENGGER, G.; WIEDEMANN, U.; OVENS-RAEDER, A.; SCHUIERER, S.; KAUTZA, M.; SIEBERT, R.; ARNOLD, N. An easy and reliable procedure of microdissection technique for the analysis of chromosomal breakpoints and marker chromosomes. **Chromosome Res.** 7: 355-362, 1999.
- WIENBERG, J. Fluorescence *in situ* hybridization to chromosomes as a tool to understand human and primate genome evolution. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 139-160, 2005.
- WIENBERG, J.; JAUCH, A.; LÜDECKE, H.-J.; SENGGER, G.; HORSTHEMKE, B.; CLAUSSEN, U.; CREMER, T.; ARNOLD, N.; LENGAUER, C. The origin of human chromosome 2 analyzed by comparative chromosome mapping with a DNA microlibrary. **Chromosome Res.** 2: 405-410, 1994.
- WIENBERG, J.; JAUCH, A.; STANYON, R.; CREMER, T. Molecular cytotaxonomy of primates by chromosomal *in situ* suppression hybridization. **Genomics** 8: 347-350, 1990.
- WIENBERG, J.; STANYON, R. Chromosome painting in mammals as an approach to comparative genomics. **Curr. Opin. Genet. Dev.** 5: 792-797, 1995.
- WIENBERG, J.; STANYON, R. Comparative painting of mammalian chromosomes. **Curr. Opin. Genet. Dev.** 7: 784-791, 1997.
- WIENBERG, J.; STANYON, R. Comparative chromosome painting of primate genomes. **Ilar. J.** 39: 77-91, 1998.

- WIENBERG, J.; STANYON, R.; JAUCH, A.; CREMER, T. Homologies in human and *Macaca fuscata* chromosomes revealed by *in situ* suppression hybridization with human chromosome specific DNA libraries. **Chromosoma** 101: 265-270, 1992.
- WIENBERG, J.; STANYON, R.; NASH, W. G.; O'BRIEN, P. C. M.; YANG, F.; O'BRIEN, S. J.; FERGUSON-SMITH, M. A. Conservation of human vs. feline genome organization revealed by reciprocal chromosome painting. **Cytogenet. Cell. Genet.** 77: 211-217, 1997.
- WOLFHEIM, J. H. **Primates of the world: Distribution, abundance and conservation**. University of Washington Press, Seattle, 1983.
- YANG, F.; ALKALAEVA, E. Z.; PERELMAN, P. L.; PARDINI, A. T.; HARRISON, W. R.; O'BRIEN, P. C.; FU, B.; GRAPHODATSKY, A. S.; FERGUSON-SMITH, M. A.; ROBINSON, T. J. Reciprocal chromosome painting among human, aardvark, and elephant (superorder Afrotheria) reveals the likely eutherian ancestral karyotype. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 100: 1062-1066, 2003.
- YANG, F.; FU, B.; O'BRIEN, P. C. M.; NIE, W.; RYDER, O. A.; FERGUSON-SMITH, M. A. Refined genome-wide comparative map of the domestic horse, donkey and human based on cross-species chromosome painting: insight into the occasional fertility of mules. **Chromosome Res.** 12: 65-76, 2004.
- YANG, F.; GRAPHODATSKY, A. S.; LI, T.; FU, B.; DOBIGNY, G.; WANG, J.; PERELMAN, P. L.; SERDUKOVA, N. A.; SU, W.; O'BRIEN, P. C. M.; WANG, Y.; FERGUSON-SMITH, M. A.; VOLOBOUVER, V.; NIE, W. Comparative genome maps of the pangolin, hedgehog, sloth, anteater, and human revealed by cross-species chromosome painting: further insight into the ancestral karyotype and genome evolution of eutherian mammals. **Chromosome Res.** 14: 283-296, 2006.
- YANG, F.; O'BRIEN, P. C. M.; WIENBERG, J.; FERGUSON-SMITH, M. A. A reappraisal of the tandem fusion theory of karyotype evolution in the Indian muntjac using chromosome painting. **Chromosome Res.** 5: 109-117, 1997b.
- YANG, F.; MÜLLER, S.; JUST, R.; FERGUSON-SMITH, M. A.; WIENBERG,

- J. Comparative chromosome painting in mammals: human and the Indian muntjac (*Muntiacus muntjak vaginalis*). **Genomics** 39: 396-401, 1997a.
- YUNIS, E.; TORRES, O. M. DE C.; RAMIREZ, C. Genus *Aotus*: Q and G-band karyotypes and natural hybrids. **Folia Primatol.** 27: 165-177, 1977.
- YUNIS, E. J.; TORRES de CABALLERO, O. M.; RAMÍREZ, C.; RAMIREZ, E. Chromosomal variations in the primate *Alouatta seniculus seniculus*. **Folia Primatol.** 25: 215-224, 1976.
- YUNIS, J. J.; PRAKASH, O. The origin of man: a chromosomal pictorial legacy. **Science** 215: 1525-1530, 1982.