BIOMEDICA
Vol. 9, Nos. 1 y 2 - 1989

CARACTERIZACION CARIOLOGICA DE *Proechimys sp.* (RODENTIA: ECHIMYIDAE) DE UNA COLONIA EXPERIMENTAL

MARTA LUCIA BUENO*, MARCELA GOMEZ-LAVERDE**, ALBERTO MORALES***

El Instituto Nacional de Salud (INS) posee una colonia experimental de *Proechimys sp*, originada a partir de animales provenientes de un foco enzoótico de Puerto Boyacá (Vereda Dos Quebradas, Departamento de Boyacá, Colombia); estos animales se han utilizado en la replicación del virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) de la cual son hospederos naturales.

En el presente trabajo se establece su cariotipo con bandas QFQ, GTC, CBG y NOR, mediante la técnica de microcultivo de linfocitos en sangre periférica.

El número cromosómico obtenido (2n=32) es compartido con *P. oconnelli* (del grupo *semispinosus sensu* Patton) presentando cariotipos prácticamente iguales y con *P. simonsi* (=*P. hendeei*, del grupo *simonsi sensu* Patton), con diferencias apreciables.

Al analizar en conjunto los aspectos de distribución geográfica y de cariología, se observa que aunque cariotípicamente son muy semejantes, *P. oconnelli* no es probablemente la especie de los *Proechimys* de este estudio.

El amplio rango de distribución de *P. chrysaeolus*, incluye posiblemente la localidad del animal origen de la colonia y puede ser la especie a la que pertenecen; sin embargo, no se conoce su cariotipo resultando imposible la comparación.

El taxon a nivel específico de los *Proechimys* de la colonia no podrá ser establecido hasta no ampliar el conocimiento morfólogico y cariológico actual sobre las especies del género.

INTRODUCCION

Las ratas espinosas (Familia *Echimyidae*, género *Proechimys*) han despertado gran interés en estudios de biología y epidemiología de parasitosis tropicales por el evidente papel de estos roedores en los ciclos boscosos de protozoarios y virus en algunas zoonosis. Se han encontrado como hospederos de leishmaniasis (1), tripanosomas (2) y arbovirus como el de la encefalitis equina venezolana (3) entre otras virosis (4) y son hospederos intermedios de la equinococsis tropical (*Echinococcus*) en algunas áreas endémicas de Panamá y de la Amazonía Colombiana (5, 6).

En Colombia, se aisló el virus EEV de ejemplares de *Proechimys sp.* en el foco enzoótico de encefalitis

* Bióloga, Instituto Nacional de Salud, Grupo de Genética. Apartado 80080, Bogotá. Profesor Asistente, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
** Bióloga, Estudiante del Postgrado en Sistemática-Zoología, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Apartado 93169, Bogotá.
***Bacteriólogo, Instituto Nacional de Salud, Jefe Grupo de Entomología. Apartado 80080, Bogotá.

equina venezolana en la vereda Dos Quebradas, municipio de Puerto Boyacá, departamento de Boyacá, por los grupos de Virología y Entomología del INS (según datos no publicados). A partir de la captura de una hembra grávida, en mayo de 1972, que en cautividad parió cinco crías, se inició una colonia experimental, mantenida en un laboratorio de campo localizado en el municipio de Armero (departamento del Tolima) hasta la fecha.

El género *Proechimys* presenta una gran diversidad y un rango de distribución geográfica bastante amplio en el Neotrópico (7).

Debido a la dificultad existente en la delimitación de las especies, se ha empleado una gran cantidad de caracteres, entre ellos la morfología del cráneo (7, 8), de los tubérculos plantares y de los báculos penianos (7, 9). A pesar de los trabajos realizados aún no es posible delimitar y caracterizar a cada una de las especies por medio de la morfología, situación que ha llevado a utilizar información extraida del cariotipo, proteínas séricas y tisulares.

Las relaciones hospedero-parásito en general son altamente específícas y es relevante en estudios epidemiológicos establecer claramente a las especies implicadas en cada uno de los ciclos.

El objetivo de este trabajo es describir cariológicamente a los *Proechimys* de la colonia del Instituto Nacional de Salud.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 8 animales adultos (4 machos y 4 hembras) provenientes de la colonia. Los ejemplares se mantuvieron vivos en el laboratorio del INS en Bogotá, de 8 a 15 días y de cada uno se efectuaron 2 cultivos de linfocitos obtenidos de muestras de sangre periférica.

Para la obtención de los cariotipos se efectuaron cultivos de 68 horas siguiendo la metodología tradicional para microcultivos de linfocitos en sangre periférica (10, 11). Como mitógeno se empleó una lectina extraida del haba común, (*Vicia faba*), obtenida en el laboratorio de Genética del INS según metodología de Arango y Moreno (12), que en trabajos previos demostró su eficacia como agente mitogénico de linfocitos de primates y roedores (13, 14). Las modificaciones en los procesos de fijación y extendido de las células fueron anteriormente mencionadas (14).

La caracterización de cada par cromosómico se efectuó mediante las técnicas para bandas QFQ de Casperson (15), GTC de Seabright (16), CGB de Summer (17) y NOR de Bloom y Goodpasture (18).

La morfología cromosómica se obtuvo seleccionando 15 metafases coloreadas con Giemsa, teniendo en cuenta para esta selección el grado de contracción, extendido y mínima sobreposición de los cromosomas. Se midieron las longitudes de los brazos largos (q), de los brazos cortos (p) y total (C) de los cromosomas, con un calibrador Vernier (530-104); se calcularon la relación de brazos r ($r = q/p$) y el índice centromérico i ($i = 100\ p/C$). Se tomó como 100% la longitud total promedio del complemento (LTC) autosómico haploide de la hembra y se calculó la longitud total relativa de cada uno de los cromosomas (% LTC = C/LTC).

En la clasificación morfológica se consideraron cromosomas de dos brazos a todos aquellos con relación de brazos (r) inferior a 7.0 (M, m, sm y st), según las mediciones y los criterios de Levan (19). En el establecimiento de los grupos de cromosomas se siguió a Reig y Useche (20) y a Reig *et al* (21), con algunas modificaciones, quedando establecidos 4 grupos (grupo A: cromosomas grandes (LTC > 8%), metacéntricos, submetacéntricos o subtelocéntricos, grupo B: cromosomas medianos y pequeños (LTC < a 8%), metacéntricos y submetacéntricos, grupo C: cromosomas de grandes a pequeños, acrocéntricos o subtelocéntricos y el grupo compuesto por los cromosomas sexuales).

Los animales fueron preparados a la manera convencional de piel y esqueleto y depositados en la colección teriológica del Museo de Historia Natural del Instituto de Ciencias Naturales (Universidad Nacional de Colombia, Bogotá), con los números de colección ICN 10199 a ICN 10204.

RESULTADOS

El cariotipo (2n=32, FN=56) está compuesto por 15 pares de autosomas (grupos A, B y C) y un par de gonosomas, heteromórficos en los machos (Fig. 1).

El grupo A, lo conforman dos pares de autosomas grandes, subtelocéntricos. El par A-1 es el más largo del complemento (14.59% de la longitud total del complemento, LTC, i=20.1) con una débil constricción secundaria en el último tercio de los brazos largos, que se visualiza en la coloración Giemsa como una región acromática y en los tratamientos con Tripsina (CTG, Fig. 4) y/o con Quinacrina (QFQ, Fig. 3) como una banda negativa. La región pericentromérica es GTG negativa y CTG positiva (Fig. 2). El par A-2 consta de autosomas grandes subtelocéntricos, (12.60% de la LTC, i=16.7) con heterocromatina centromérica (Fig. 4). La región terminal de los brazos largos también presenta una banda acromática en Giemsa, no expresada en todas las metafases, con comportamiento al bandeo y posición similar a los descritos para el par A-1.

El grupo B lo conforman 10 pares de cromosomas (B-3 a B-12) de dos brazos, de medianos a pequeños, metacéntricos o submetacéntricos (ver porcentajes de la LTC e índices centroméricos (i) en la Tabla 1). Dentro de este grupo el par B-7 es un elemento marcador dentro del cariotipo, caracterizado por presentar una nítida constricción secundaria en los brazos largos, que se presenta como región acromática en Giemsa y CBG (Figs.1 y 4) y es positiva en la coloración con nitrato de plata, NOR (no se presenta fotografía); con esta última tinción no se detectó ningún otro cromosoma portador de regiones organizadoras nucleolares.

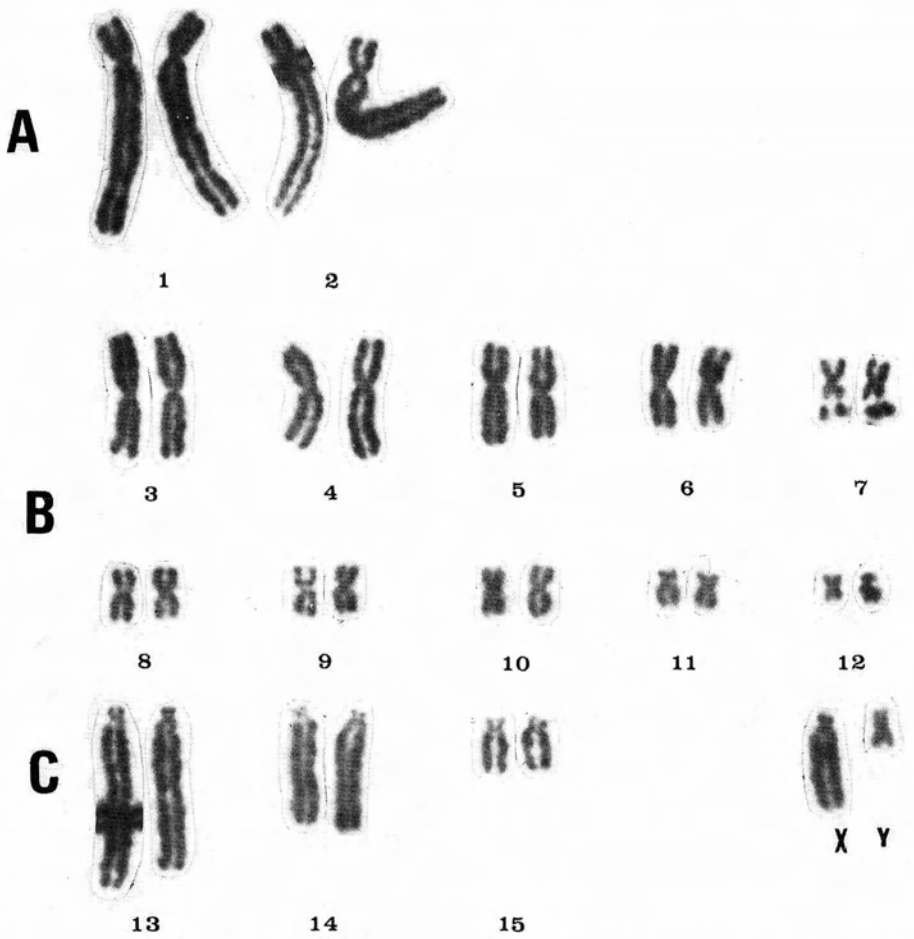

Fig. 1. Complemento cromosómico en coloración de Giemsa (ejemplar macho de *Proechimys sp.*).

Fig. 2. Complemento cromosómico con bandas G (GTG) (ejemplar macho).

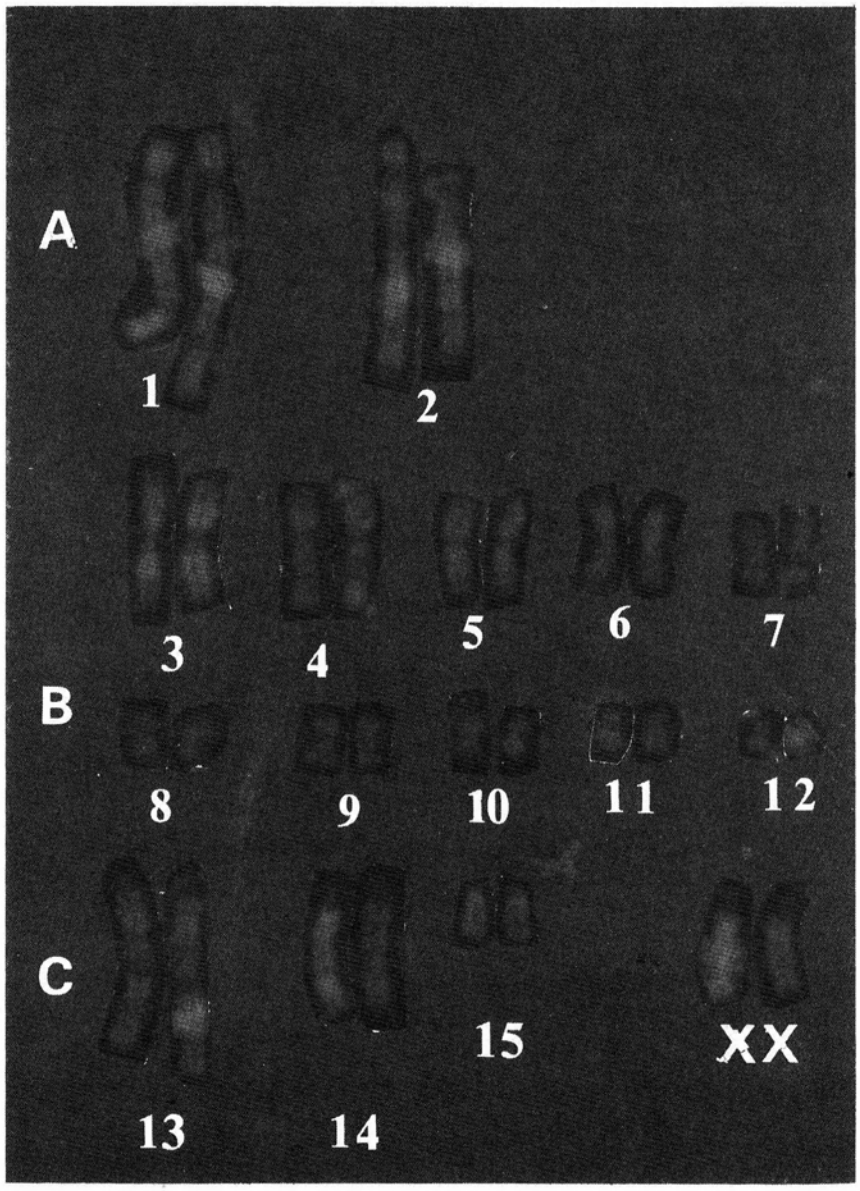

Fig. 3. Complemento cromosómico con bandas Q (QFQ) (ejemplar hembra).

El grupo C consta de tres pares de autosomas (C-13 a C-15), de grandes a medianos, acrocéntricos o subtelocéntricos, con centrómeros en la región terminal en los pares C-13 y C-14 (i=6.8 y 8.1, respectivamente) y subterminal en el par C-15 (i=20.3). El par C-13 (11.24% de la LTC) le sigue en longitud a los cromosomas del grupo A. El par C-14 tiene aproximadamente 2/3 de la longitud del C-13 (7.92% de la LTC) y el par C-15 es aún más pequeño (3.51% LTC).

Los gonosomas son heteromórficos en los machos. El cromosoma X es de tamaño mediano (6.77% de la LTC), acrocéntrico (i=11.6), mientras que el cromosoma Y es pequeño (2.68% de la LTC), metacéntrico, con una región eucromática distal en brazos largos y un bloque heterocromático grande que incluye los brazos cortos y la parte proximal centromérica de los brazos largos (Fig. 4).

Todos los elementos del complemento autosómico son de dos brazos (metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos), con excepción de los pares C-13 y C-14 que poseen centrómero terminal (acrocéntricos).

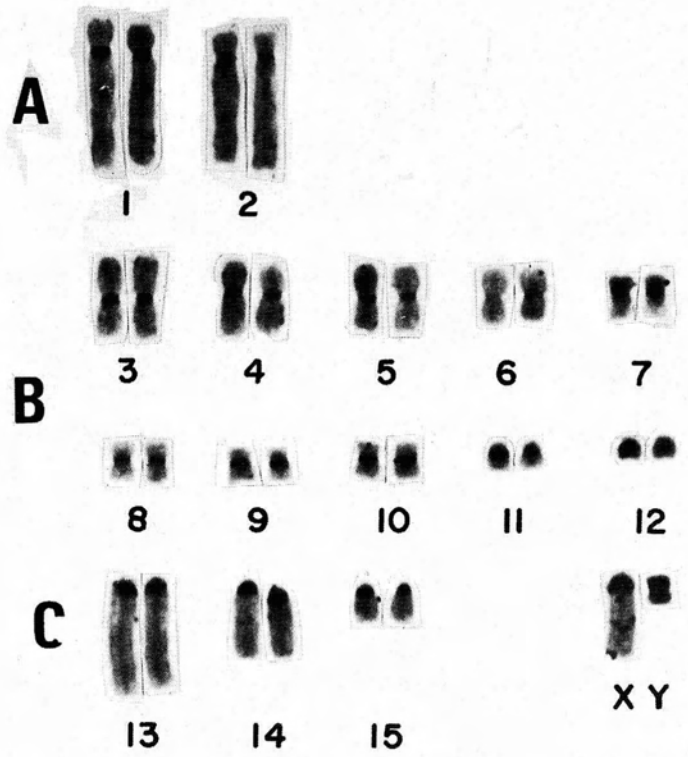

Fig. 4. Complemento cromosómico con bandas C (CBG) (ejemplar macho). El cromosoma Y por su pequeño tamaño aparece casi totalmente heterocromático, sin embargo, notar la banda mayor que se visualiza en los brazos cortos. Los demás elementos del complemento presentan únicamente heterocromatina centromérica.

TABLA 1

Medidas cromosómicas: C (promedio de la longitud total para cada par de cromosomas homólogos), %LTC (longitud relativa de cada par del complemento), r (relación de brazos), i (índice centromérico), morfología según la posición del centrómero (m, sm, t, st) y designación usual del cromosoma (M, SM, ST y A). (ver texto). El total del complemento haploide es igual a 208.94.

Cromosoma	C	p	q	%LTC	r	i	Morfolog.	Designac.
A– 1	30.21	6.10	23.76	14.59	3.89	20.1	st	ST
A– 2	26.10	4.38	21.84	12.60	4.89	16.7	st	ST
B– 3	16.19	7.40	8.79	7.82	1.19	45.7	sm	SM
B– 4	14.20	5.66	8.54	6.86	1.50	39.8	m	M
B– 5	12.54	5.74	6.82	6.05	1.19	45.7	m	M
B– 6	10.42	4.80	5.56	5.03	1.16	46.0	m	M
B– 7	8.33	3.11	5.54	4.02	1.78	37.3	sm	SM
B– 8	7.06	3.05	4.00	3.41	1.31	43.2	m	M
B– 9	6.43	2.82	3.60	3.10	1.23	43.8	m	M
B–10	6.08	2.60	3.46	2.93	1.32	42.7	m	M
B–11	5.03	1.82	3.13	2.43	1.72	36.1	m	M
B–12	3.40	1.29	2.00	1.64	1.55	37.9	m	M
C–13	23.27	1.59	21.60	11.24	13.58	6.8	t	A
C–14	16.40	1.33	15.06	7.92	11.26	8.1	t	A
C–15	7.27	1.48	5.78	3.51	3.89	20.3	st	ST
X	14.02	1.63	12.49	6.77	7.66	11.6	t	A
Y	5.56	2.42	3.16	2.68	1.30	43.5	m	M

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El número cromosómico 2n=32 de *Proechimys sp.* es compartido con *P. simonsi* (=*P. hendeei*) (8, 20, 22) y con *P. oconnelli* (8), según los cariotipos publicados hasta el presente.

El número fundamental es diferente en estas tres especies, FN=52 en *P. oconnelli*, FN=56 en *Proechimys sp.* y FN=58 en *P. simonsi*, calculado luego de definir la morfología cromosómica; sin embargo, el número fundamental no es una buena herramienta de comparación entre cariotipos pues varía según el grado de contracción de los cromosomas en las metafases estudiadas; esto ocasiona dificultad al definir los cromosomas de dos brazos particularmente en los cromosomas más pequeños.

La comparación entre el cariotipo de *Proechimys sp.* de la colonia y de *P. hendeei* (=*P. simonsi*) fue realizada con el trabajo de Patton y Gardner (22) pues la fotografía es más nítida que en Reig y Useche (20). Para la comparación con *P. oconnelli*, se utilizó el trabajo de Gardner y Emmons (8). Al mencionar los cromosomas se respetó la denominación dada por cada autor; las letras resaltadas corresponden a los pares cromosómicos en *Proechimys sp.*

Los cariotipos de *P. simonsi* y de *Proechimys sp.*, aunque son iguales en el número cromosómico, presentan diferencias apreciables: 1) los dos pares cromosómicos de mayor tamaño del complemento (A-1 y A-2 en ambas especies) difieren en su morfología, (son submetacéntricos en *P. simonsi* y subtelocéntricos en *Proechimys sp.*). 2) *P. simonsi* posee 8 pares cromosómicos entre medianos y pequeños, metacéntricos y submetacéntricos (B-3 a B-10) mientras que en *Proechimys sp.* son 10 los pares cromosómicos con estas características (B-3 a B-12). 3) *P. simonsi* posee tres pares de cromosomas subtelocéntricos pequeños (C-12

a C-14) y *Proechimys sp.* sólo uno (C-15). 4) El cromosoma Y en *P. simonsi* es acrocéntrico (según explicaciones en el texto, pues la fotografía del cariotipo es de un ejemplar hembra) y en *Proechimys sp.* es metacéntrico.

El cariotipo de *Proechimys sp.* es similar al de *P. oconnelli*: los dos pares cromosómicos más grandes son subtelocéntricos (A-1, A-2 y C-1, C-2, respectivamente) y el par que les sigue en tamaño es acrocéntrico (C-13 y D-1). Poseen 4 pares de cromosomas medianos, metacéntricos y submetacéntricos (B-3 a B-6 y B-1 a B-4) y 4 pares metacéntricos pequeños (B-8, B-9, B-10 y B-12 y B-5 a B-8).

La diferencia entre los dos cariotipos está en el segundo par cromosómico más pequeño que es metacéntrico en *Proechimys sp.* (B-11) y acrocéntrico (subtelocéntrico ?) en*P. oconnelli* (D-4); esto podría indicar una inversión pericéntrica o una deleción en los brazos cortos. Otras posibles diferencias estarían en: 1) el único par cromosómico portador de una constricción secundaria es submetacéntrico en *Proechimys sp.* (B-7) y está localizado en el grupo de los subtelocéntricos en *P. oconnelli* (C-11); sin embargo, en la fotografía presentada para esta última especie aparece claramente como submetacéntrico y, 2) el segundo par acrocéntrico en tamaño en *P. oconnelli* (D-2) es equivalente en longitud a un poco más de la mitad del acrocéntrico más grande (D-1) y el par cromosómico atribuido a los cromosomas X es aproximadamente igual en longitud a las dos terceras partes del D-2.; en *Proechimys sp.*, el segundo par acrocéntrico en longitud (C-14) es en tamaño las dos terceras partes del par grande (C-13) y el cromosoma que representa un poco más de la mitad del C-13 es el X. Si consideramos que en *P. oconnelli* el par sexual no pudo ser determinado con exactitud (sólo se trabajó en un ejemplar hembra), podemos suponer que el par sexual XX de esta última especie es realmente el numerado como D-2; bajo este punto de vista el grupo de los acrocéntricos y el par sexual serían equivalentes en los dos cariotipos.

Según el reciente trabajo de Patton (7) el género *Proechimys*, que ocupa un amplio rango geográfico desde Centroamérica hasta Brasil, comprende 9 grupos de especies, 8 de las cuales están representadas en Colombia.

P. oconnelli (localidad típica, Villavicencio, Meta) sería el único representante amazónico del grupo *semispinosus*; este grupo tiene una distribución que comprende Centro América y las tierras bajas del pacífico colombiano y ecuatoriano y un área limitada a Villavicencio, Meta y localidades cercanas (San Juan de Arama). Por lo tanto, y a pesar de la similitud cariotípica encontrada, es poco probable que *Proechimys sp.* de la colonia pertenezca a esta especie.

Los *Proechimys* del presente estudio (provenientes de Puerto Boyacá, Boyacá), por distribución geográfica, pertenecerían al grupo *trinitatus sensu* Patton. Dentro de este grupo tendríamos en el país las especies *P. mincae* (localidad típica Minca, Sierra Nevada de Santa Marta, con representación en varias localidades del departamento del Magdalena), *P. magdalenae* (localidad típica, Mompós, Bolívar, encontrada además en Zaragoza, Antioquia), *P. chrysaeolus* (localidad típica, Muzo, Boyacá, con distribución que comprende Bolívar, Cauca, Córdoba y Tolima) y especies del complejo *guairae* (en Arauca y Norte de Santander).

P. mincae, con distribución restringida al departamento del Magdalena posee un cariotipo distinto (2n=48 y FN=68) (8).

El complejo *guairae* ha sido extensamente estudiado en Venezuela por Osvaldo Reig y colaboradores (20, 21, 23) y comprende carioformos con diversos números cromosómicos 2n=42, 44, 46, 48, 50 y 62.

Desafortunadamente, no se conocen los cariotipos de *P. magdalenae* ni de *P. chrysaeolus* pero, debido a la amplia distribución geográfica de esta última especie que incluiría a Puerto Boyacá, sugerimos que es la posible especie a la cual pertenecen los animales de la colonia; sin embargo, hasta no realizar estudios comparativos de morfología y cariología, no es posible hacer conclusiones al respecto.

La utilización de una lectina de la *Vicia faba* (favina), como mitógeno, proporciona un excelente material cromosómico para la obtención de los diferentes tipos de bandeamientos en los cromosomas de roedores.

El bandeo cromosómico permite realizar el análisis citogenético de especies relacionadas permitiendo establecer los posibles rearreglos ocurridos entre ellas.

Algunos de éstos han sido sugeridos para el género (20, 23), a partir de observaciones de cariotipos coloreados con Giemsa, con base en la morfología cromosómica y en bandas espontáneas. Es indispensable realizar bandeos cromosómicos en todas las especies para poder conocer y confirmar la historia cariológica del género.

A pesar de los trabajos publicados sobre la cariología básica, aún se desconoce el cariotipo de más de la mitad de las especies descritas (8). Para Colombia, ha sido reportado el cariotipo básico de 4 de las 12 posibles especies. Sólo se ha realizado bandeo cromosómico en tres especies brasileras (24, 25, 26) y dos en especies colombianas (14, y el presente trabajo).

Es primordial el estudio de los *Proechimys* en Colombia que permita delimitar y caracterizar a cada una de las especies presentes en el país.

SUMMARY

The Colombian National Institute of Health (INS) owns an experimental colony of *Proechimys sp.* which started from native animals from an enzootic focus located in Puerto Boyacá (Dos Quebradas area, Boyacá, Colombia). These animals have been used for viral replication of Venezuelan Equine Encephalitis virus since they are natural reservoirs of the infection.

It this paper, we present the cariotype established by QFQ, GTC, CBG and NOR banding using lymphocyte microculture from peripheral blood.

The chromosome number thus obtained (2n=32) is share with *P. oconnelli* (*semispinosus* group *sensu* Patton) having just about the same karyotype, and with *P. simonsi* (= *P. hendeei*, from the *simonsi* group *sensu* Patton) with remarkable differences.

When we analysed both the geograhical distribution and the karyology, we could think that even though they are very similar from the karyotypic point of view, *P. oconnelli* is probably not the species from this study.

The wide range of distribution of *P. chrysaeolus* could include the original location of this animals with wich the colony was started and, therefore, could be species that they belong to. However, its karyotype is unknown and its comparison become impossible.

The taxon of the *Proechimys* of the colony specifically will not be stablished unless the morphological and karyological knowledge is broadened on the species of the genus.

AGRADECIMIENTOS

Al Grupo de Genética (INS) por su constante apoyo y colaboración durante la ejecución de este trabajo.

A Jorge Hernández Camacho (INDERENA) y a Alberto Cadena (ICN) por sus valiosas sugerencias.

A Eutimio Guerra, Auxiliar Técnico del Laboratorio de Campo "Bernardo Samper Sordo" del INS, por el cuidado de la colonia desde su inicio.

BIBLIOGRAFIA

1. Lainson R. The American Leishmaniases: some observations on their ecology and epidemiology. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 1983; 77(5): 569.

2. Telford SR, Tonn RJ, Betancourt P, González J. Nuevos hospederos para *Trypanosoma cruzi* en Venezuela. Bol Div Malaria y Saneamiento Ambiental. 1975; 15(5): 240.

3. Jonkers A, Spence HL, Downs WG, Aitken THG, Worth CB. Arbovirus studies in Bush Forest, Trinidad, W.I. September 1959-December 1964. VI. Rodent associated viruses (VEE and agents of Group C and Guama): Isolations and further stadies. Am J Trop Med Hyg 1968; 17: 285.

4. Causey CE. The role of small mammals in maintenance of arboviruses in the brazilian amazon forests. Ann Microbiol 1963; 11(A): 119.

5. Sousa OE, Thatcher VE. Observation on the life cycle of *Echinococcus oligarthus* (Diesing, 1863) in the Republic of Panama. Ann Trop Med and Parasitol, 1969; 63 (2): 165

6. Howells RE, Schnur LF, Cadena A. Hydatid cyst in spiny rats in Amazonas, Colombia. Ann Trop Med Parasitol 1978; 72 (4): 395.

7. Patton JL. Species groups of spiny rats, genus *Proechimys (Rodentia: Echimyidae)*. Fieldiana Zoology. 1987; 39: 205.

8. Gardner AL, Emmons LH. Species groups in *Proechimys (Rodentia: Echimyidae* as indicated by karyology and bullar morphology. J Mamm 1984; 65 (1): 10.

9. Martín RE. Cranial and bacular variation in populations of spiny rats of the genus *Proechimys (Rodentia: Echimyidae)* from South America. Smithsonian Contrib Zool. 1970; 35: 1.

10. Moorhead PS, Nowell PC, Hellman EJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp Cell Res. 1970; 20: 613.

11. Hungerford DA. Leukocites cultures from small inocula of whole blood and the preparations of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic. Cell Stain Technol 1965; 40: 33.

12. Arango M, Moreno MC. Propiedades mitogénicas y leucoaglutinantes en linfocitos humanos de la lectina del haba (*Vicia faba*). Tesis de química. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1977.

13. Giraldo A, Bueno ML, Silva E, Ramírez J, Umaña J, Espinal C. Estudio citogenético de 288 *Aotus* colombianos. Biomédica. 1986; 6(1-2): 5.

14. Gómez-Laverde M, Bueno ML, Cadena A. *Proechimys semispinosus (Rodentia: Echimyidae)* de Gorgona in Aguirre J. y O. Rangel (eds). Biota y ecosistemas en Gorgona y Gorgonilla. Fondo FEN Colombia. Bogotá. (en prensa).

15. Caspersson T, Zech L, Johansson IC, Modest EJ. Identification of human chromosomes by DNA binding fluorescent agents. Chromosoma 1970; 30: 215.

16. Seabright MA. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 1972; 2: 971.

17. Summer AT. A simple technique for demostrating centromeric heterochromatin. Exp Cell Res 1972; 75: 304.

18. Bloom SE, Goodpasture C. An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. Hum Genet 1976; 34: 199.

19. Levan A, Fredge K, Sandborg A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 1964; 52: 201.

20. Reig OA, Useche M. Diversidad cariotípica y sistemática en poblaciones venezolanas de *Proechimys (Rodentia, Echimyidae)* con datos adicionales sobre poblaciones de Perú y Colombia. Acta Cient Venezolana. 1976; 27: 132.

21. Reig OA, Aguilera M, Barros MA, Useche M. Chromosomal speciation in Rassenkreis of Vezuelan spiny rats (genus *Proechimys, Rodentia, Echimyidae*). Genética. 1980; 52/53: 291.

22. Patton JL, Gardner AL. Notes on the systematics of *Proechimys (Rodentia: Echimyidae)* with emphasis on Peruvian forms. Occas Pap Mus Zool. Louisiana State Univ 1972; 44: 1.

23. Reig OA. Modelos de especiación cromosómica en las casiraguas (género *Proechimys*) de Venezuela in Reig, O.A. Ecología y genética de la especiación animal. 1980; Univ Simón Bolívar Caracas. 295.

24. Yonenaga Y. Karyotypes and chromosome polymorphism in Brazilian rodents. Cariologia. 1975; 28: 269.

25. Figuereido V, Barros R. Polimorfismos de bandas G em *Proechimys guiannensis* da Amazonia. Proc Cienc Cult. 1983; 35: 705.

26. L'abbate M, Yonenaga-Yassuda, Souza MJ, Kasahara S. Cromosomos supernumerarios em *Proechimys iheringi iheringi* (2n=62-65) e padroes de bandas obtidas por incorporacao de 5-bromodeoxiuridina. Proc Cienc Cult. 1983; 35: 680.