

MEMORIAL ACADÊMICO PARA PROGRESSÃO DE PROFESSOR ASSOCIADO IV PARA PROFESSOR TITULAR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

CLEUSA YOSHIKO NAGAMACHI

1975 - 2016

Quando se vai fazer uma dedicatória de um trabalho de uma vida toda ou parte dela, fica difícil escolher uma pessoa, porque existem várias pessoas que merecem ser lembradas e receber uma homenagem. Como este documento conta as lembranças de uma vida profissional, escolhi duas pessoas pois, sem elas, tenho certeza, eu não teria conseguido chegar até aqui. Assim dedico a história da minha vida acadêmica ao meu esposo Julio e à minha filha Natalia. Ao Julio pela paciência, cumplicidade, companheirismo de luta, de trabalho, de incentivo e de todas as coisas que partilhamos. Sem ele eu não teria conseguido ficar em Belém. À minha filha que veio para trazer muitas alegrias, coragem para eu poder sempre seguir adiante. Natalia veio me ajudar a crescer e me tornar uma pessoa melhor; veio me mostrar que a vida é muito mais do que aquilo que a gente enxerga.

SUMÁRIO

INFANCIA E FORMAÇÃO BÁSICA	4
FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO	4
1) Graduação e Iniciação Científica (1975 - 1978)	4
2) Pós-Graduação: Mestrado (1979 - 1982)	
3) Universidade Federal do Pará	
4) Os primeiros anos em Belém	
5) Pós-Graduação: Doutorado (1990-1995)	
6) Retorno a Belém após o Doutorado	
6A) Publicações da minha tese	
6B) Publicações da tese do Julio	
6C) Outros artigos em Primatas desenvolvidos em Belém	19
7) As novas linhas de pesquisa após o Doutorado (1995 - 2002)	
7A) A linha de pesquisa em Citogenética de Quiróptera	
7B) A linha de pesquisa em Citogenética de Peixes	
7C) A retomada da linha de pesquisa em Citogenética de Roedores	
7D) A linha de pesquisa em Citogenética de Aves	
8) A ideia de implantar a técnica de Hibridização in situ fluorescente (FISI	H)27
9) Pós-doutorado no Exterior (PDE, 2003-2004)	
10) Retorno a Belém após o PDE	
10A) Pintura Cromossômica em Quiróptera	
10B) Pintura Cromossômica em Aves	37
10C) Pintura Cromossômica em <i>Gymnotus</i>	
10D) Pintura Cromossômica em Roedor	
11) O surgimento de novas linhas de pesquisa após o PDE (2004 - atual)	39
11A) A linha de pesquisa em Citogenética de Anfíbios	39
11B) A linha de pesquisa em Câncer: uma passagem rápida	40
11C) A linha de pesquisa em Mutagênese: uma linha promissora	42
11D) A linha de pesquisa em Citogenética de Escorpião	44
12) Projetos de Pesquisa com apoio financeiro	45
12A) Projetos sob minha coordenação	45
12B) Projetos sob coordenação do Julio	46
13) Parcerias Científicas e Projetos em colaboração	47
14) Entrada e Saída de Professores	48
15) Formação de Recursos Humanos	49
15A) Alunos orientados no Projeto Primatas	49
15B) Alunos orientados no Projeto Quiróptera	49
15C) Alunos orientados no Projeto Peixes	50
15D) Alunos orientados no Projeto Roedor	52
15E) Alunos orientados no Projeto Mutagênese	54
15F) Alunos orientados no Projeto Câncer	54
16) Perspectivas Futuras	54
ACD A DECIMENTOS	56

INFANCIA E FORMAÇÃO BÁSICA

Nasci em cinco de fevereiro de 1956 na cidade de Andradina, estado de São Paulo. Meus pais, Massahiro Nagamati e Shizue Nagamati, são japoneses imigrantes. Sou a caçula de seis irmãos: Luis, João, Nelson, Antonio, Aparecida e eu. Apesar de todas as dificuldades econômicas, considero que tive uma infância muito boa. Tive toda minha educação básica em Andradina, sempre em escolas públicas. No início de 1974 fui para São Paulo capital fazer o cursinho (Objetivo) visando fazer o vestibular para ingressar em uma universidade. Só no cursinho é que me dei conta do quanto o ensino fundamental e médio na minha cidade era fraco. A pressão emocional foi muito grande, principalmente considerando que a minha falta de base em muitas matérias. Felizmente consegui passar e ingressei no curso de Biomedicina da USP de Ribeirão Preto.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

1) Graduação e Iniciação Científica (1975 - 1978)

Cursei minha graduação em Ciências Biológicas modalidade médica pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP). A turma era pequena, de apenas 20 alunos. Os dois primeiros anos fazíamos as disciplinas juntos com a turma de medicina (80 alunos) consideradas disciplinas básicas. No terceiro ano os alunos de medicina iam para as disciplinas voltadas para a parte clínica e as da biomedicina, voltadas para a pesquisa. A ideia deste curso de biomedicina era formar docentes e pesquisadores nas áreas básicas da medicina.

Em julho de 1975 iniciei minha primeira experiência com a pesquisa. Fiz estágio voluntário com o Dr. Lucio Antonio de Oliveira Campos que, na época, era aluno de doutorado sob orientação do Dr. Moacyr Antonio Mestriner. O estágio teve por objetivo a iniciação no estudo da genética em abelhas e contribuição na pesquisa: "Efeito da alimentação em resposta ao hormônio juvenil em *Mellipona quadrifasciatta*". Neste período, conheci o "coordenador da pesquisa em genética de abelhas", o Dr. Warwick Estevam Kerr que é um pessoa muito querida e um grande pesquisador. Tenho boas recordações dele. Ele me chamava de "japonesa". Um dia ele falou para o Lucio: põe a "japonesa" para fazer um estudo

sobre o "voo nupcial das abelhas". Meu estágio durou até março de 1977 quando o Dr. Lucio foi contratado como professor na Universidade Federal de Viçosa. Eu não tinha experiência o bastante no tema da pesquisa para continuar sem a presença do orientador. Estava pensando em procurar estágio em outro lugar quando a Dra. Iris Ferrari me convidou para fazer estágio no laboratório dela, trabalhando com citogenética de primatas calitriquídeos. O laboratório da Dra. Iris era bastante organizado e bem estruturado para o bom funcionamento do trabalho. Inicialmente passei por todo aprendizado de funcionamento do laboratório. Aprendi a lavar, embalar e esterilizar material; preparar reagentes, incluindo meio de cultura e esterilização; tirar sangue e fazer cultura de linfócitos, usar os microscópios. Iniciei o treinamento com cromossomos humanos, onde ela me passava como atividade, desenhar as metáfases humanas coradas convencionalmente e analisar o cariótipo no desenho, identificando os cromossomos nos grupos de A a G e, quando possível, identificar os pares 1, 2, 3, 16 e X. A Dra. Iris queria treinar bem meu olho para identificar os cromossomos, de modo que ela sempre passava as fotos das metáfases humanas mais feias para eu montar cariótipo. Graças a isso hoje eu tenho um olho bem crítico para analisar cariótipo humano e identificar cromossomos homólogos nos cariótipos da biodiversidade.

Durante este estágio, aprendi também a cuidar das larvas de Tenebrio, alimentar os *Callithrix*, tirar sangue dos animais e fazer as culturas, revelar filmes das fotos das metáfases, fazer cópias em papel e todo procedimento para análise dos cariótipos. Nesta etapa do aprendizado tive ajuda de vários técnicos do laboratório onde não poderia deixar de mencionar aqui dois em especial, por todo auxílio e horas muito agradáveis no trabalho: o querido amigo Silvio Avelino dos Santos (homenageado como técnico em destaque no Encontro de Citogenética de 2015) com as culturas, reagentes e andamento das atividades do laboratório; a querida amiga Maria Helena (*in memorian*) por todo aprendizado com a parte fotográfica (revelar filmes, copiar e revelar as fotos das metáfases para análise e para as pranchas finais). Maria Helena tinha que revelar filmes e fazer cópias fotográficas para o trabalho de todos, principalmente dos casos clínicos da Dra. Iris. Eu me lembro que sempre tinha gente atormentando a Maria Helena porque estava com o trabalho atrasado e precisava das fotos. Isso era

rotina na vida dela. Nas primeiras vezes que isso aconteceu comigo, fiquei super chateada mas não havia jeito, havia uma fila. Um dia vi um aluno ajudando a Maria Helena. Aí eu descobri que, se o aluno está com muita pressa, basta se dispor a ajuda-la que as fotos saiam mais rápido. Conclusão, eu sempre marcava períodos para ir ajuda-la e passava horas muito agradáveis (exceto pelo cheiro do fixador fotográfico) conversando com Maria Helena. Quando a gente precisava de fotos 3X4 ela batia as fotos e fazia as cópias pra gente, bastava pedir. Era comum as pessoas pegarem as fotos e dizer: credo Maria Helena, estou horrível! Ela sempre tinha a resposta na ponta da língua: eu sou só fotografa, não faço milagres! Com isso, eu nunca reclamei das fotos que ela fazia pra mim.

No último ano da graduação, tinha que fazer minha monografia e estudar para a seleção do mestrado. Tinha poucas aulas e o estágio. A maior parte do meu tempo eu passava na biblioteca central estudando para esta seleção.

Os alunos de Medicina, quando se formavam, tinha dois anos de Residência Médica garantida: bastava se formar. Neste ano a Faculdade resolveu implantar o sistema se seleção, de modo que os alunos teriam que fazer prova para conseguir vaga na Residência. Isso ocorreu devido à alta demanda de alunos de outras Universidades (principalmente do Norte e Nordeste). Como a Universidade não poderia atender a todos, resolveram implantar o processo seletivo. Foi um protesto geral: os alunos se revoltaram, fizeram um abaixo assinado para ver se revertia a situação. Um dia eu estava na biblioteca estudando e os alunos de Medicina foram solicitar a minha assinatura para o abaixo assinado, alegando que não era justo alunos do Norte/Nordeste virem tirar a vaga deles, alunos da USP. Eu estava aborrecida porque estava estudando para minha seleção do Mestrado e eles fazendo aquela confusão toda. Olhei pra eles e disse que não ia assinar coisa nenhuma. Eles, muito indignados queriam saber o porque. Eu olhei bem pra eles e disse: eu estou estudando para fazer a prova de seleção de Mestrado para poder ingressar na pós-graduação. Eles disseram que eram coisas diferentes porque a seleção para ingressar na pósgraduação sempre existiu e a deles era para tirar os direitos que eles tinham há anos. Aí eu disse: vocês estão fazendo todo este barulho porque vocês acham que, por terem cursado a USP vocês tem mais direito do que os alunos que cursaram uma universidade qualquer no Norte/Nordeste? Quer dizer, vocês

estão com medo de perder a vaga para alunos do Norte/Nordeste, é isso? Faça me o favor! Mostre que vocês cursaram uma USP! Com isso, perdi muitos amigos da medicina!

2) Pós-Graduação: Mestrado (1979 -1982)

Ingressei no curso de Mestrado em Ciências Biológicas (Conceito CAPES 6) em 1979, bolsista CAPES, sob orientação da Dra. Iris Ferrari. Desenvolvi a dissertação "Estudos citogenéticos em saguis brasileiros da espécie *Callithrix jacchus* (Callithrichidae, Primates)". Durante o período do mestrado, conheci vários alunos de mestrado e doutorado vindos de vários locais do Brasil.

Me lembro pouco das disciplinas que cursei para obter os créditos. A única que me marcou muito foi a disciplina da Dra. Iris, conhecida entre os alunos como "catorzão" pois era uma disciplina de 14 créditos, de um semestre, que incluía a parte teórica e prática, onde cada aluno tinha que fazer um trabalho envolvendo a técnica mais recente em citogenética e apresentar os resultados obtidos no Congresso de Genética. Quando fiz a disciplina, a técnica recémimplantada no laboratório era a de Troca entre Cromátides Irmãs (TCI).

Conheci Julio Cesar Pieczarka no período da disciplina da Dra. Iris. Ele tinha passado na seleção de mestrado na Genética de Curitiba, para trabalhar com citogenética de roedores sob orientação do Dr. Ives Sbalqueiro que, na época, estava sem condições de assumir sua orientação. Ele foi a Ribeirão Preto cursar a disciplina e, após, resolveu prestar seleção de mestrado com a Dra. Iris e acabou ficando em Ribeirão Preto trabalhando com citogenética de felinos. Nos tornamos amigos, namorados e nos casamos em 23 de julho de 1983.

Conclui meu mestrado em 1982. Os resultados obtidos geraram minhas duas primeira publicações:

Nagamachi CY & Ferrari I (1984). Cytogenetic studies of *Callithrix jacchus* (Callithricidae, Platyrrhini) from two diferente sites in Brazil. I. Morphologic variability of Chromosome Y. Genetics and Molecular Biology 7 (3): 497-507;

Nagamachi CY & Ferrari I (1986). Cytogenetic studies of *Callithrix jacchus* (Callithricidae, Platyrrhini) from two diferente sites in Brazil. II. NOR on the Y chromosome. Mammalian chromosomes newsletter 27: 81-86.

3) Universidade Federal do Pará

Após a defesa do Mestrado (1982), ingressei no doutorado e fiquei muito envolvida com as disciplinas de modo que, no início de 1983 eu já tinha integralizado todos os créditos para o doutorado. Nesta época eu já estava preocupada com a questão de emprego e estava atenta para os concursos que iam aparecendo. Tinha surgido um concurso em Mato Grosso, cuja inscrição poderia ser feita por correio. A data do concurso ainda não estava marcada. Enviei, via SEDEX, toda documentação solicitada para a inscrição no concurso e fiquei aguardando resposta da minha inscrição. Após duas semanas, como eu ainda não havia recebido nenhum comunicado, entrei em contato com a secretaria e me informaram que meus documentos não chegaram a tempo e que o concurso já havia sido realizado.

Neste mesmo ano Marucia Amorim (na época aluna de doutorado com a Dra. Iris Ferrari) e Iracilda Sampaio (na época aluna de mestrado com o Dr. Moacir Mestriner), ambas professoras do departamento de Genética da Universidade Federal do Pará (Belém) nos avisaram de um concurso que ia ter em Belém, na área de Genética. Julio e eu resolvemos prestar este concurso.

O concurso ocorreu em agosto de 1982. Foi minha primeira viagem de avião. Quando desci do avião, senti o calor imenso de Belém subindo pelas pernas – fiquei desesperada. Queria voltar para dentro do avião. Eu disse pro Julio: quero voltar porque não vou aguentar este calor todo.

Ficamos hospedados na casa dos pais do Dr. Claudio Amorim (esposo da Marúcia). Na véspera do Concurso era aniversário da dona Leonice (mãe do Claudio). Ela fez todas as comidas paraenses: maniçoba, vatapá, pato no tucupi e diversas sobremesas. Julio comeu tudo de tudo e mais um pouco. Conclusão: passou mal de noite.

Além de Julio e eu, vieram fazer este concurso o Dr. João Pina Neto (já Prof. na USP de Ribeirão Preto), Maria Lucia Harada e Arno Hamel, entre outros. Após a seleção, Pina, Julio e eu retornamos a Ribeirão Preto. Havia apenas uma vaga. O Pina passou em primeiro lugar mas não assumiu e o Julio foi chamado para assumir a vaga e assinou o contrato em março de 1983. Fui convidada para vir a Belém junto com ele e ficar fazendo pesquisa com uma bolsa DCR pelo

projeto do Dr. Horácio Schneider. Assim que assumimos nossas atividades em Belém, o Prof. Horácio Schneider nos chamou para uma reunião e expos os planos de pesquisa do Departamento de Genética. A ideia dele era reunir todos os pesquisadores em um único projeto para conseguir um bom apoio financeiro e obter um volume grande de resultados. Para minha felicidade, o organismo de estudo escolhido foi Primata não humano. Assim eu continuei fazendo pesquisa em citogenética de calitriquídeos, grupo de estudo da minha dissertação. Portanto, não tive problemas em obter os primeiros resultados, apesar das dificuldades laboratoriais. Após assumir em Belém, solicitei o cancelamento do meu doutorado em Ribeirão Preto.

Na época havia uma vaga para Professor Titular e o Dr. Horácio negociou a troca desta vaga por três vagas para professor Auxiliar de ensino. Fiquei como bolsista DCR até dezembro de 1983, quando saiu meu contrato como Professora Auxiliar. Como eu já tinha o título de Mestre, solicitei a progressão para Profa. Assistente. Fiz um relatório científico bem detalhado dos resultados obtidos durante o período da bolsa e encaminhei ao CNPq, agradecendo a bolsa recebida e solicitando o cancelamento da mesma pelo fato de eu estar sendo contratada como professora. Semanas depois, eu recebo uma carta do CNPq dizendo que eu havia sido contemplada com uma bolsa de Pesquisa. Eu achei que o CNPg não havia entendido minha mensagem solicitando o cancelamento da bolsa e estava me concedendo uma prorrogação da bolsa DCR. Escrevi novamente ao CNPq esclarecendo que eu não poderia ficar com a bolsa DCR por já ter assinado o contrato como professora. O CNPq me respondeu dizendo que havia entendido a minha mensagem e que eu havia sido contemplada com uma bolsa de pesquisa (diferente da bolsa DCR) por um período de dois anos. Assim começou minha caminhada como bolsista de produtividade do CNPq.

4) Os primeiros anos em Belém

Quando viemos morar em Belém, inicialmente ficamos hospedados na caso dos pais do Claudio (Sr. João e Dona Leonice). Eles eram inconformados de não estarmos casados ainda e morando fora de casa. Quando conseguimos alugar nosso primeiro apartamento (Vila do IAPI em São Brás), eles não queriam que fossemos morar juntos. Nós nos casamos em 23 de julho de 1983, em São Paulo

onde morava minha família. Julio retornou a Ribeirão Preto no início de 1984 para defender a dissertação de mestrado.

Os primeiro anos em Belém foram muito difíceis pois tivemos que nos adaptar a várias mudanças em nossas vidas, tanto pessoal como profissional.

Quando eu avisei que viria morar em Belém do Pará, minha família, especialmente minha mãe, ficaram inconformados e muito preocupados por causa da grande distância de São Paulo.

A adaptação à cidade de Belém foi muito difícil pois tudo era muito diferente: o clima muito quente e úmido, o estilo de vida dos paraenses, a alimentação, etc. Eu estava acostumada ao ritmo de São Paulo e achava que tudo era muito devagar na cidade. As padarias não funcionavam de fim de semana, o comércio fechava na hora do almoço. Tinha muita dificuldade de comprar verduras para salada, entre outras coisas.

Em 1985 compramos, via financiamento, nosso primeiro apartamento na Rua São Pedro. Fomos morar lá neste mesmo ano. Em 1986 veio fazer concurso pelo departamento de Biologia, a minha colega e grande amiga desde a graduação, Luiza Nakayama. Ela foi aprovada e veio morar em Belém com a filhinha dela de dois anos, Moana Luri de Almeida, que se tornou minha filha do coração. Em 16 dezembro de 1987 nós ganhamos o melhor presente de nossas vidas, a vinda da nossa filha Natalia Harumi Pieczarka. A partir de então, nossa vida se tornou mais completa, com um núcleo familiar maior, uma vez que Luiza e Moana passaram a fazer parte da família e as duas meninas (Natalia e Moana) foram criadas como irmãs.

A adaptação na vida profissional foi bastante difícil. Estávamos acostumados ao laboratório bem estruturado da Dra. Iris Ferrari na USP de Ribeirão Preto. O laboratório de citogenética de Belém encontrava-se em condições bem precárias. A Profa. Marucia Amorim se encontrava em Ribeirão Preto fazendo o Doutorado, a Profa. Maria de Fátima Assis, na USP de São Paulo fazendo o Mestrado e a Dra. Regina Barros, quem coordenava o laboratório de citogenética, estava com o filho muito doente e, por isso, meio afastada das atividades do laboratório. Devido a isso o laboratório estava quase sem reagentes, vidrarias e/ou equipamentos. As poucas lâminas histológicas que haviam eram muito antigas e estavam muito oxidadas. Em uma tentativa de

recuperar essas lâminas, Julio e Horácio resolveram "ferver" as lâminas em solução de sulfocrômica, o que foi um desastre completo por causa da fumaça altamente tóxica e, pior, não resolveu o problema da oxidação das lâminas que foram descartadas. O único fotomicroscópio que havia (Zeiss 3) estava quebrado. Julio o enviou para a Zeiss de São Paulo para fazer um orçamento para o conserto. O valor era muito alto e não tínhamos recurso para efetuar o pagamento. Entramos em desespero quando a Zeiss nos ameaçou de leiloar o equipamento se não efetuássemos o pagamento. Em desespero, Julio enviou uma carta ao CNPq explicando a situação e pedindo ajuda para que não perdêssemos o único fotomicroscópio que tínhamos. Sensibilizado, o CNPq atendeu o pedido e pagou o conserto, o que foi um grande alívio pois pudemos tocar nossas pesquisas. A partir daí a situação do laboratório começou a melhorar aos pouquinhos. Neste período, o Prof. Horácio Schneider, juntamente com os professores Luiz Carlos da Lima Silveira e Cristovam Diniz, conseguiram aprovar um projeto junto à FINEP para fazer estudos genéticos e fisiológicos de primatas. Também recebemos doação de dois microscópios da Alemanha Oriental (Jenaval e Jenalumar, ambos da Zeiss Jena), dentro do convênio entre Brasil e Alemanha Oriental, de troca de equipamentos por café.

Em 1984 surgiu uma grande oportunidade do grupo conseguir obter grandes amostras biológicas de espécies de primatas. Tivemos autorização da Eletronorte para participar do trabalho de campo na área de enchimento da Usina Hidrelétrica de Tucurui que, quando fechassem suas comportas, haveria inundação em uma grande área (cerca de 2.500 m²). Os trabalhos de campo foram divididos em duas fases, uma antes do fechamento das comportas (fase de levantamento faunístico) e outra, após o fechamento (fase de resgate). Fizemos um esquema de revezamento entre os pesquisadores do grupo de genética, que íamos junto com pesquisadores de outros departamentos (zoologia, ecologia, psicologia, etc), do Centro Nacional de Primatas e do Museu Paraense Emilio Goeldii (MPEG). Na fase de levantamento faunístico (fase pré-fechamento das comportas) coletamos amostras biológicas nas áreas onde seriam inundadas quando da abertura das comportas. Nesta fase alguns exemplares foram abatidos para ficar no acervo do MPEG. Na medida do possível, tirávamos o sangue dos animais, tanto para cultura de linfócitos como para estudos de polimorfismo

proteico. Para mim foi uma experiência fantástica! Os acampamentos eram montados no meio da floresta. Chegávamos nos acampamentos de voadeira (minha primeira experiência em viajar de voadeira). Tínhamos que dormir em rede com mosqueteiro por causa dos insetos. Paulista não sabe dormir em rede eu amanhecia toda quebrada, com dores na coluna. Só melhorou quando me ensinaram que tinha que dormir de atravessado. Acordávamos todos os dias bem cedinho para caminhar pela trilha para observar a ocorrência de primatas. Logicamente encontrávamos todos os tipos de animais. A natureza é uma coisa incrível! Foi uma experiência inesquecível estar no meio da floresta amazônica, em contato direto com a natureza e conhecendo a incrível biodiversidade local. Após o início da abertura das comportas (já no segundo semestre de 1984), o rio começou a aumentar o nível da água. A partir de então, iniciou-se a fase de resgaste chamada Operação Curupira com a finalidade de resgatar animais das áreas alagadas e transferi-los para áreas de soltura livres do alagamento. Era muito triste ver os animais presos às copas das árvores, as populações ribeirinhas tendo que ser desalojadas de suas casas para irem morar em casas construídas na cidade. Os animais eram resgatados e transferidos para uma área de quarentena, onde eram acompanhados por veterinários, biólogos, pesquisadores e técnicos treinados para o manuseio e cuidados com os animais. Para a coleta do sangue normalmente os animais eram sedados e feito o acompanhamento por profissionais treinados. As amostras de sangue de primatas para estudos de isoenzimas foram imensas e estão servindo para estudos moleculares até o presente. Para estudos citogenéticos, o rendimento foi bem menor devido à necessidade de realizar cultura de linfócitos para se obter os cromossomos metafásicos. Para isso, o sangue dos animais eram coletados em condições de assepsia, com seringas previamente heparinizadas. Este sangue tinha que ser levado de voadeira para a cidade de Tucurui para ser enviado a Belém via aérea para poder ser cultivado no laboratório. O envio destas amostras dependia de ter voos para Belém. Alguns exemplares de cada espécie eram enviados para o Centro Nacional de Primatas (CENP) onde eram mantidos para estudos. O CENP foi de grande contribuição para nossos estudos por se manter de portas abertas para as nossas solicitações de coleta de amostras biológicas. Na época e por vários anos o Dr. José Augusto Pereira Carneiro Muniz, médico

veterinário e diretor do CENP, sempre se mostrou disponível para que coletássemos amostras de sangue para cultivo celular. Para estudos citogenéticos, os animais mantidos no CENP eram de grande ajuda pois podíamos coletar com calma, fazer as culturas com mais tranquilidade para obtenção dos cromossomos metafásicos. Além disso, tínhamos possibilidade de fazer re-coleta caso as culturas não tivessem dado bom resultado.

Nos anos seguintes após Tucuruí, houveram possibilidades de coleta em outras hidrelétricas (Balbina, Amazonas: 1987-88; Samuel, Rondônia: 1987-89; Santo Antônio, Jari: 1989) mas, para nós da cito era mais vantajoso coletar as amostras no CENP depois e fazer as culturas com mais tranquilidade.

Após este período de intensa atividade de coleta, sentimos a necessidade de implementar no laboratório de citogenética a cultura de fibroblastos visando fazer um banco de células da nossa biodiversidade. Sabendo que o Instituto Evandro Chagas trabalha de rotina com cultura de todo tipo, solicitamos estágio no laboratório de cultura. Passamos alguns meses aprendendo tudo sobre cultura de células sob a supervisão da Sra. Celia Nakauth, que se colocou à disposição para nos auxiliar em tudo que fosse necessário. A partir daqui começa nossa maratona no sentido de montar estrutura laboratorial para implementar a cultura de fibroblastos.

Os primeiros artigos em citogenética em amostras procedentes de Tucurui foram publicadas em 1988, com descrição de cariótipos de espécies de primatas sul-americanos ainda não estudados.

Pieczarka JC, Nagamachi CY (1988). Cytogenetic studies of *Aotus* from eastern Amazonia: Y/autosome rearrangement. American Journal of Primatology 14:255 - 263.

Nagamachi CY, Pieczarka JC (1988). Chromosome studies of *Saguinus midas niger* (Callithricidae, Primates) from Tucuri, Para, Brazil: comparison with the karyotype of *Callithrix jacchus*. American Journal of Primatology 14:277 - 284.

Pieczarka JC, Nagamachi CY (1988). The karyotype of *Callicebus moloch moloch*. Genetics and Molecular Biology 11:653 - 659.

Cleusa Yoshiko Nagamachi - Memorial Acadêmico 1975-2016

Neste interim, a Dra. Regina Barros que estava meio afastada da pesquisa, retornou e se integrou no estudo citogenético dos Primatas. Nos dois anos seguintes, mais três artigos foram publicados:

- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Barros RMS (1989). The karyotype of *Ateles paniscus paniscus* (Cebidae, Primates): 2n = 32. Genetics and Molecular Biology 12:543 551.
- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Barros RMS (1990). Cytogenetic studies of *Saguinus midas midas* (Callitrichidae, Primates) from Jari, Brazilian Amazonia. Comparison with the karyotype of *Saguinus midas niger*. Genetics and Molecular Biology 13:89 96.

Barros RMS, Nagamachi CY, Pieczarka JC (1990). Chromosomal evolution in *Callithrix emiliae*. Chromosoma 99:440 - 447.

Em 1986 Julio e eu tínhamos aprovado projetos de pesquisa pelo Edital do CNPq, o Programa Integrado de Genética (PIG). Com a verba destes projetos conseguimos melhorar as condições de pesquisa do laboratório de citogenética e da parte de cultura celular que, devido à carência de verba, conseguíamos doação de meio de cultura do Instituto Evandro Chagas. Quando passamos a comprar os meios para cultura, nos demos conta do quanto era caro fazer cultura celular. Com as amostras que tínhamos das coletas em Tucurui e também, das coletas dos animais mantidos no Centro Nacional de Primatas, tanto de Tucurui como de outras localidades (incluindo outras hidrelétricas), conseguimos obter resultados para publicações futuras.

A bolsa de pesquisa que eu havia ganho após o cancelamento da bolsa DCR tinha durabilidade de dois anos. Assim, a cada dois anos eu tinha que fazer um relatório, um novo projeto com novas etapas a serem cumpridas e solicitar nova bolsa. No final de 1988, quando eu enviei ao CNPq o relatório das atividades do período 1986 a 1988 e a solicitação da bolsa para o novo período, o CNPq me concedeu a bolsa por mais dois anos mas com um aviso de que esta seria a última vez que eles iam me conceder a bolsa como Mestre. Eles me recomendaram providenciar o doutorado para depois solicitar novamente a bolsa de pesquisa. Assim, o ano de 1989 ficamos em função de providenciar o

doutorado. Escrevemos para a Dra. Margarete Sune Mattevi perguntando se ela aceitava nos orientar. Ela nos deu o aval positivo e nos instruiu do procedimento burocrático de passar pela seleção para ingressar no doutorado. Fizemos todo procedimento, tanto para o ingresso no doutorado, como para o afastamento das atividades na universidade. Fomos contemplados com uma bolsa pela UFPA. Quando já estava acertado toda a parte burocrática do ingresso no doutorado, enviei uma carta ao CNPq solicitando a suspensão temporária da bolsa para a realização do doutorado, conforme eles haviam me recomendado.

5) Pós-Graduação: Doutorado (1990-1995)

Em dezembro de 1989 fomos passar o Natal em Curitiba com a família do Julio, como fazíamos todos os anos. Desta vez, fomos já para ir a Porto Alegre após as festas de final de ano. Após passarmos a virada do ano em São Paulo com minha família, retornamos a Curitiba. Julio foi pra Porto Alegre antes para procurar lugar para morarmos. Só depois é que Natalia e eu fomos pra lá, já com apartamento alugado. Após instalarmos, entramos em contato com a nossa orientadora, a Dra. Margarete Mattevi, para saber onde ir para nos apresentarmos. Como a genética estava de mudança para o campus, Margarete disse que era pra gente ir cursando as disciplinas. Após a mudança, nos reunimos com ela para discutirmos os projetos de doutorado. Ela concordou com meu projeto inicial que era estudar a evolução cromossômica dos primatas da família Callithricidae, visando fazer uma filogenia cromossômica. Eu já havia publicado os cariótipos de algumas espécies desta família e já tinha obtido resultados para mais um artigo que estava em fase de redação, assim como, tínhamos dados de outras espécies de primatas não calitriquídeos, que foram publicados durante o período do nosso doutorado.

Nagamachi CY, Pieczarka JC, Barros RMS (1992). Karyotypic comparison among *Cebuella pygmaea, Callithrix jacchus* and *C. emiliae* (Callitrichidae, Primates) and its taxonomic implications. Genetica 85:249 - 257.

Pieczarka JC, Barros RMS, Nagamachi CY, Rodrigues R, Espinel A (1992). *Aotus vociferans* × *Aotus nancymai*: sympatry without chromosomal hybridization. Primates 33:239 - 245.

Pieczarka JC, Barros RMS, Faria, F. M., Nagamachi CY (1993). *Aotus* from the southwestern Amazon region is geographically and chromosomally intermediate between *A. azarae boliviensis* and *A. infulatus*. Primates 34:197 - 204.

Para a obtenção das amostras biológicas para o doutorado, contamos com a colaboração de várias pessoas, em especial o Dr. José Augusto Pereira Carneiro Muniz, diretor do Centro Nacional de Primatas, Ananindeua-PA e o Dr. Alcides Pissinatti, diretor do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro. Também contamos com a colaboração do Sr. Marco Schwarz que tinha um sítio em Morretes (Paraná) onde criava várias espécies de primatas. Entramos em contato com ele e solicitamos coletar amostras de sangue para fazer os trabalhos em citogenética. Ele não só concordou, como nos dava carona até o sítio dele para fazermos as coletas. Nós marcávamos as datas das coletas, íamos a Curitiba e ele passava na casa dos pais do Julio para nos apanhar para irmos ao sítio dele fazer as coletas. Depois da coleta ele nos trazia de volta a Curitiba. Em Curitiba, solicitamos ao Dr. Iglenir Cavalli o uso do laboratório para fazer as culturas dos exemplares coletados.

Coletamos uma espécie nova de *Callithrix* (*C. mauesi*), sendo este o primeiro artigo publicado do meu doutorado:

Nagamachi CY, Pieczarka JC, Schwarz M, Paiva CMC, Barros RMS, Mattevi MS (1994). Karyotype of *Callithrix mauesi* (Callitrichidae, Primates) and its relations with those of *C. emiliae* and *C. jacchus*. American Journal of Primatology 33:309 - 315.

Ficamos em Porto Alegre fazendo o doutorado durante 4 anos (1990-1993). Foram 4 anos muito bons, bem aproveitados. A Margarete (*in memoriam*) era muito mais que uma orientadora – era uma grande amiga. Adoramos trabalhar no laboratório dela. Adoramos não sermos responsáveis pela manutenção do laboratório e de não termos que nos preocupar com a verba para manter o funcionamento do laboratório. Adoramos morar em Porto Alegre.

Retornamos a Belém no início de 1994. Foi um ano difícil pois, além de termos que assumir nossas atividades de ensino na graduação, tínhamos que escrever a Tese de doutorado que foi defendida em 31 de março de 1995. A

banca examinadora foi constituída por: Dr. Antony B. Rylands (Depto. De Zoologia, ICB, UFMg); Dra. Iris Ferrari (Depto. Genética e Morfologia, ICB, UnB); Dr. Thales Freitas (Depto. Genética, UFRGS). Fui aprovada pelos três membros da banca com conceito final A (Excelente).

6) Retorno a Belém após o Doutorado

De posse do certificado de conclusão do Doutorado, providenciei um novo projeto de pesquisa "Relações cromossômicas e filogenéticas entre o gênero *Callimico* (Platyrrhini, Primates) e os Callitriquideos", escrevi uma carta ao CNPq solicitando a reativação da minha bolsa de pesquisa. Recebi resposta do CNPq dizendo que eles estavam me concedendo a bolsa de Pesquisa na categoria 2C, com vigência para o período de 01/08/95 a 30/07/97.

Em 1996 a Dra. Regina Barros se aposentou mas continuou fazendo pesquisa conosco como bolsista de produtividade do CNPq até início de 2005. Foi realizado o concurso publico para ocupar a vaga, com a banca examinadora constituída pelas doutoras Regina Barros (UFPA), Margarete Sune Mattevi (UFRGS) e Nazareth Rabelo Gay (USP). Foram aprovados três candidatos (Edivaldo Herculano Correa de Oliveira, Isabel Rosa Cabral e Alexandre Lemos). O primeiro colocado, Edivaldo de Oliveira assumiu a vaga da Regina em 1997 e logo se integrou ao grupo, onde fez o doutorado em Curitiba (1997-2001) com o Dr. Ives Sbalqueiro, na co-orientação do Julio e sanduíche na Alemanha com o Dr. Stefan Müller, trabalhando com Primatas.

Em 1997 a Prof. Maria de Fatima Lima de Assis se aposentou e foi trabalhar no Instituto Evandro Chagas, onde ela já vinha desenvolvendo suas atividades na parte de cultura celular. A vaga da Fátima foi ocupada pela segunda colocada no concurso, Isabel Cabral, que foi trabalhar com o grupo da citogenética humana, junto com o Dr. Rommel Burbano, grupo formado pela Dra. Marúcia Amorim em citogenética humana.

Após a conclusão do doutorado, Julio e eu assumimos as atividades de ensino, pesquisa, a responsabilidade de manter o laboratório funcionando, além de trabalhar na publicação dos artigos do doutorado, entre outros. Fomos convidados a publicar os resumos das nossas teses na Revista Neotropical Primates. Os artigos das teses foram publicados no período de 1994 até 2001. Da

minha tese de doutorado foram publicados mais quatro artigos (totalizando 5 publicações), além dos artigos da tese do Julio e outros trabalhos com Primatas realizados já em Belém pelo grupo, alguns alunos de mestrado da Dra. Regina Barros.

6A) Publicações da minha tese:

- Nagamachi CY (1995). Chromosomal relations and phylogenetic and phenetic analyses in the Callitrichidae. Neotropical Primates, Belo Horizonte, MG 2 (3): 88-89.
- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Barros RMS, Schwarz M, Muniz JAPC, Mattevi MS (1996). Chromosomal relationships and phylogenetic and clustering analyses on genus *Callithrix*, Group *argentata* (Callitrichidae, Primates). Cytogenetics and Cell Genetics 72:331 338.
- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Schwarz M, Barros RMS, Mattevi MS (1997). Chromosomal similarities and differences between tamarins, *Leontopithecus* and *Saguinus* (Platyrrhini, Primates). American Journal of Primatology 43:265 276.
- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Schwarz, Marco, Barros RMS, Mattevi MS (1997). Comparative chromosomal study of five taxa of genus *Callithrix*, group *jacchus* (Platyrrhini, Primates). American Journal of Primatology 41:53 60.
- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Schwarz M, Barros RMS, Mattevi MS (1999). Chromosomal phylogeny of South American primates of the Callitrichidae family (Platyrrhini). American Journal of Primatology 49:133 152.

6B) Publicações da tese do Julio:

- Pieczarka JC (1994). Cytogenetic studies in Neotropical Primates. Neotropical Primates 2:12 13.
- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Barros RMS, Mattevi MS (1996). Analysis of constitutive heterochromatin by *in situ* digestion with restriction enzymes in species of the group *Callithrix argentata* (Callitrichidae, Primates). Cytogenetics and Cell Genetics 72:325 330.

- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Barros RMS, Muniz JAPC, Mattevi MS (1998). Analysis of constitutive heterochromatin of *Aotus* (Cebidae, Primates) By restriction enzyme and fluorochromes. Chromosome Research 6:77 83.
- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Barros RMS, Schwarz M, Mattevi MS (2000). Characterization of constitutive heterochromatin of *Callithrix geoffroyi* (Callitrichidae, Primates) by restriction enzyme and fluorochromes. Cytobios 101:161 172.
- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Muniz JAPC, Barros RMS, Brigido MCO, Mattevi MS (2001). Restriction enzyme and fluorochrome banding analysis of the constitutive heterochromatin of *Saguinus* genus species (Callitrichidae, Primates). Cytobios 105:13 26.

6C) Outros artigos em Primatas desenvolvidos em Belém:

- Medeiros MAA, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Ponsà M, Garcia M, Egozcue J, Barros RMS (1997). Radiation and speciation of spider monkeys, genus *Ateles*, under the cytogenetic viewpoint. American Journal of Primatology 42:167-178.
- Barros RMS, Pieczarka JC, Brigido MCO, Muniz JAPC, Rodrigues LRR, Nagamachi CY (2000). A new karyotype in *Callicebus torquatus* (Cebidae, Primates). Hereditas 133:55 58.
- Moura Pensin C, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Muniz JAPC, Brigido MCO, Pissinati A, Marinho ANR, Barros RMS (2001). Cytogenetic relations among the genera of the subfamily Pitheciinae (Cebidae, Primates). Caryologia 54:385 391.
- Rodrigues LRR, Barros RMS, Pissinati A, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2001). Cytogenetic study of *Callicebus hoffmannsi* (Cebidae Primates) and comparison with *C. m. moloch*. Cytobios 105:137 145.
- Nagamachi CY, Rodrigues LRR, Galetti Jr PM, Mantovani M, Pissinati A, Rissino JD, Barros RMS, Pieczarka JC (2003). Cytogenetic studies in *Callicebus personatus nigrifrons* (Platyrrhini, Primates). Caryologia 56 (1): 47-52.
- Rodrigues LRR, Barros RMS, Pissinati A, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2004). A new karyotype of an endangered primates species (*Callicebus personatus*) from the Brazilian Atlantic forests. Hereditas 140: 87-91.

- Rodrigues LRR, Souza MC, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2006). Karyotypic study of *Callicebus coimbrai*, a rare and threatened Primates species from Brazil. Caryologia 59 (3): 248-252.
- Pereira TV, Salzano FM, Mostwska A, Trzeciak WH, Linares AR, Chies JA, Saavedra C, Nagamachi CY, Hurtado AM, Hill K, Castrodeguerra D, Silvajúnior WA, Bortolini MC (2006). Natural selection and molecular evolution in primate PAX9 gene, a major determinant of tooth development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103 (15): 5676-5682.
- Nieves M, de Oliveira EHC, Amaral PJS, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Mühlmann MC, Mudry MD (2011). Analysis of the heterochromatin of *Cebus* (Primates, Platyrrhini) by micro-FISH and banding pattern comparisons. Journal of Genetics 90:111 117.

7) As novas linhas de pesquisa após o Doutorado (1995 - 2002)

7A) A linha de pesquisa em Citogenética de Quiróptera

Em 1995 orientei meu primeiro Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). O aluno Luis Reginaldo Ribeiro Rodrigues queria trabalhar com morcegos e assim, abriu-se uma nova linha de pesquisa no laboratório: Citogenética de Quiróptera: "Estudo citogenético em *Artibeus lituratus* (Chiroptera – Phyllostomidae)". Nos credenciamos como orientadores da Pós-Graduação em Ciências Biológicas e Luis Reginaldo foi meu primeiro aluno de Mestrado (1996 a 1998): "Relações cromossômicas entre *Phyllostomus* e *Artibeus* (Phyllostomidae – Chiroptera)". Dos trabalhos do Luis foram publicados os artigos:

- Rodrigues LRR, Barros RMS, Assis MFL, Aguiar SM, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2000). Chromosome comparison between two species of *Phyllostomus* (Chiroptera Phyllostomidae) from Brazilian Amazonia, with some phylogenetic insights. Genetics and Molecular Biology 23:595 599.
- Rodrigues LRR, Barros RMS, Marques-Aguiar S, Assis MFL, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2003). Comparative cytogenetics of two phyllostomids bats. A new hypothesis to the origin of the rearranged X chromosome from *Artibeus lituratus*. Caryologia 56 (4): 413-419.

- Outros alunos ingressaram no projeto morcego, gerando novas publicações:
- Noronha RCR, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Aguiar SM, Barros RMS (2001). Sexautosome translocations: meiotic behavior suggests an inactivation block with permanence of autosomal gene activity in Phyllostomid bats. Cariologia 55 (3): 267-278.
- Neves ACB, Pieczarka JC, Barros RMS, Aguiar SM, Rodrigues LRR, Nagamachi CY (2001). Cytogenetic studies on *Choeroniscus minor* (Chiroptera, Phyllostomidae) from Amazon region. Cytobios 105: 91-98.
- Ribeiro NAB, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Rissino JD, Neves ACB, Gonçalves ACO, Marques-Aguiar S, Assis MFL, Barros RMS (2003). Cytogenetic analysis in species of the subamilly Glossophaginae (Phyllostomidae-Chiroptera) supports a polyphyletic origin. Caryologia 56 (1): 85-95.
- Noronha RCR, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Marques-Aguiar S, Assis MFL, Barros RMS (2004). Meiotic analyses of the sex chromosomes in Carollinae-Phyllostomidae (Chiroptera): NOR separates the XY1Y2 into two independent parts. Caryologia 57 (1): 1-9.
- Silva AM, Marques-Aguiar S, Barros RMS, Nagamachi CY, Pieczarka JC (2005). Comparative cytogenetic analysis in the species *Uroderma magnirostrum* and *U. bilobatum* (cytotype 2n=42) (Phyllostomidae, Sternodermatinae) in the Brazillian amazon. Genetics and Molecular Biology 28 (2): 248-253.
- Gomes AJB, Rodrigues LRR, Rissino JD, Nagamachi CY, Pieczarka JC (2010). Biogeographical karyotypic variation of *Rhinophylla fischerae* (Chiroptera: Phyllostomidae) suggests the occurrence of cryptic species. Comparative Cytogenetics 4:79 85.
- Gomes AJB, Nagamachi CY, Rodrigues LRR, Farias SG, Rissino JD, Pieczarka JC (2012). Karyotypic variation in *Rhinophylla pumilio* Peters, 1865 and comparative analysis with representatives of two subfamilies of Phyllostomidae (Chiroptera). Comparative Cytogenetics 6(2):213 225.
- Araujo REF, Nagamachi CY, Costa MJR, Noronha RCR, Rodrigues LRR, Pieczarka JC. First description of multivalent ring structures in Eutherian mammalian meiosis: New chromosomal characterization of *Cormura brevirostris* (Emballonuridae, Chiroptera). Genetica (*in press*).

7B) A linha de pesquisa em Citogenética de peixes

Em 1997 o Prof. Dr. Edilson Matos veio nos procurar e solicitar o uso do laboratório de citogenética para fazer uma cultura e preparação cromossômica. Ele tinha organizado um curso de especialização na Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP) e a pesquisadora convidada do Rio de Janeiro queria fazer a parte citogenética. Quando a pesquisadora entrou no laboratório, ficamos super felizes por re-encontrar a Dra. Erica Pauls (nós a conhecíamos no período do mestrado, quando fomos a São Carlos fazer a disciplina de Citogenética de Populações ministrada pelo Prof. Dr. Luiz Bertollo). Ao saber que não trabalhávamos com peixes, ela ficou inconformada e disse que tínhamos que implantar esta linha aqui em Belém. Como nós não demonstramos nenhum interesse, ela sugeriu da gente auxiliar na implantação da linha na FCAP, no que nós concordamos em dar este apoio.

Saiu um edital da SECTAM (Governo do Estado do Pará), Fundo Estadual de Ciência e Tecnologia (FUNTEC) para apoio a projetos de pesquisa. Submetemos o projeto "Caracterização da Ictiofauna da Região de Peixe-Boi, município de Peixe-Boi, Estado do Pará, com vistas à Piscicultura". A ideia era implantar um grupo de citogenética de peixes na FCAP. Quando saiu o resultado do edital com a aprovação do nosso projeto, marcamos uma reunião com o pessoal da FCAP para discutirmos o andamento do projeto. Foi aí que o pessoal da FCAP nos informou que não estavam mais interessados em fazer a parte citogenética. Estávamos no dilema: tínhamos um projeto aprovado e não tínhamos pessoal para trabalhar no projeto! O que fazer? Resolvemos arregaçar as mangas e selecionar alunos para trabalhar no projeto. Entre alguns alunos de IC, veio para a entrevista um aluno recém formado, o Augusto Cesar Paes de Souza, o que foi muito bom e fundamental para a implantação da linha de peixes no laboratório. Augusto é a pessoa mais apaixonada por peixes que eu conheço. Conseguimos implementar para o Augusto, uma bolsa de Aperfeiçoamento pelo CNPq. Augusto veio quase pronto: sabia coletar, cuidar e lidar com os peixes. Só precisava aprender a fazer as preparações cromossômicas e estudar citogenética. Devido à dedicação do Augusto conseguimos implantar a linha de citogenética de peixes. Tivemos a colaboração da Dra. Eliana Feldberg do INPA

- neste processo. Augusto fez o mestrado no período de 2001 a 2003 pela pósgraduação de Zoologia sob orientação do Julio: "Descrição cariotípica de peixes dos gêneros *Baryancistrus, Parancistrus, Peckoltia* e *Ancistrus* (Ancistrinae, Loricariidae) da bacia Amazônica". Desta dissertação foram publicados dois artigos (estando devendo pelo menos mais um):
- Souza ACP, Nascimento AL, Carvalho Jr JR, Barros RMS, Feldberg E, Nagamachi CY, Pieczarka JC (2004). Karyotypic analysis of *Baryancistrus aff. niveatus* (Ancistrinae, Loricariidae) by C-Banding, AG-NOR, CMA3, DAPI and FISH. Caryologia 57:219 223.
- Souza ACP, Nagamachi CY, Milhomem SSR, Feldberg E, Pieczarka JC (2009). Cytogenetic analysis in catfish species of the genus *Peckoltia* Miranda Ribeiro, 1912 (Teleostei: Siluriformes: Loricariidae). Comparative Cytogenetics 3:103 109.

Outros alunos ingressaram no projeto peixes, gerando novas publicações:

- Nascimento AL, Souza ACP, Feldberg E, Carvalho Jr JR, Barros RMS, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2006). Cytogenetic analysis on *Pterophyllum scalare* (Perciformes, Cichlidae) from Jari River, Pará state. Caryologia 59 (2): 138-143.
- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Souza ACP, Milhomem SSR, Castro RR, Nascimento AL (2006). An adaptation to DAPI-banding to fishes chromosomes. Caryologia 59 (1): 43-46.
- Milhomem SSR, Pieczarka JC, Crampton WGR, Souza ACP, Carvalho Jr JR, Nagamachi CY (2007). Differences in karyotype between two sympatric species of *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) from the Eastern Amazon of Brasil. Zootaxa 1397: 55-62.
- Milhomem SSR, Pieczarka JC, Crampton WGR, Silva, Silva DS, Souza ACP, Carvalho Jr JR, Nagamachi CY (2008). Chromosomal evidence for a cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes, Gymnotidae). BMC Genetics 9:75.
- Silva DS, Milhomem SSR, Souza ACP, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2008). A conserved karyotype of *Sternopygus macrurus* (Sternopygidae, Gymnotiformes) in the Amazon region: differences from other hydrographic basins suggest cryptic speciation. Micron 39:1251 1254.

- Milhomem SSR, Souza ACP, Nascimento AL, Carvalho Jr JR, Feldberg E, Pieczarka JC, N Nagamachi CY (2008). Cytogenetic studies in fishes of the genera *Hassar, Platydoras* and *Opsodoras* (Doradidae, Siluriformes) from Jari and Xingu rivers, Brazil. Genetics and Molecular Biology 31:256 260.
- Silva DS, Milhomem SSR, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2009). Cytogenetic studies in *Eigenmannia virescens* (Sternopygidae, Gymnotiformes) and new inferences on the origin of sex chromosomes in the *Eigenmannia* genus. BMC Genetics 10:74.
- Milhomem SSR, Castro RR, Nagamachi CY, Souza ACP, Feldberg E, Pieczarka JC (2010). Different cytotypes in fishes of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803, (Siluriformes: Loricariidae) from Xingu river (Amazon region, Brazil). Comparative Cytogenetics 4:45 54.
- Cardoso AL, Pieczarka JC, Feldberg E, Milhomem SSR, Moreira-Almeida T, Silva DS, Silva PC, Nagamachi CY (2011). Chromosomal characterization of two species of genus *Steatogenys* (Gymnotiformes: Rhamphichthyoidea: Steatogenini) from the Amazon basin: sex chromosomes and correlations with Gymnotiformes phylogeny. Reviews in Fish Biology and Fisheries 21:613 621.
- Milhomem SSR, Crampton WGR, Pieczarka JC, Silva DS, Cardoso AL, Silva PC, Oliveira JA, Nagamachi CY (2012). Chromosomal and electric signal diversity in three sympatric electric knifefish species (*Gymnotus*, Gymnotidae) from the Central Amazon Floodplain. Reviews in Fish Biology and Fisheries 22:485 497.
- Milhomem SSR, Crampton WGR, Pieczarka JC, Shetka GH, Silva DS, Nagamachi CY (2012). *Gymnotus capanema*, a new species of electric knife fish (Gymnotiformes, Gymnotidae) from eastern Amazonia, with comments on an unusual karyotype. Journal of Fish Biology 80:802 815.
- Cardoso AL, Sales KAH, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Noronha RCR (2013). Comparative cytogenetics of two species of genus *Scobinancistrus* (Siluriformes, Loricariidae, Ancistrini) from the Xingu River. Comparative Cytogenetics 7:43 51.
- Silva PC, Nagamachi CY, Silva DS, Milhomem SSR, Cardoso AL, Oliveira JA, Pieczarka JC (2013). Karyotypic similarities between two species of

- *Rhamphichthys* (Rhamphichthyidae, Gymnotiformes) from the Amazon basin. Comparative Cytogenetics 7:279 291.
- Silva FHR, Pieczarka JC, Cardoso AL, Silva PC, Oliveira JA, Nagamachi CY (2014). Chromosomal diversity in three species of electric fish (Apteronotidae, Gymnotiformes) from the Amazon Basin. Genetics and Molecular Biology 37:638 645.
- Ferreira RO, Pereira AL, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Souza LM, Noronha RCR (2014). Caracterização citogenética de uma espécie de *Spatuloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) do Rio Xingu (Pará, Amazônia, Brasil). Biota Amazônia 4: 30-36.
- Silva DS, Peixoto LAW, Pieczarka JC, Wolsiacki WB, Ready J, Nagamachi CY (2015). Karyotypic and morphological divergence between two cryptic species of *Eigenmannia* in the Amazon basin with a new occurrence of XX/XY sex chromosomes (Gymnotiformes: Sternopygidae). Neotropical Ichthyology 13:297 308.
- Cardoso AL, Ready JS, Pieczarka JC, Milhomem SSR, Figueiredo-Ready WMB, Silva FHR, Nagamachi CY (2015). Chromosomal variability between populations of *Electrophorus electricus* Gill, 1864 (Pisces: Gymnotiformes: Gymnotidae). Zebrafish 12(6):440-447.
- Cardoso AL, Pieczarka JC, Nagamachi CY (2015). X1X1X2X2/X1X2Y sex chromosome systems in the Neotropical Gymnotiformes electric fish of the genus *Brachyhypopomus*. Genetics and Molecular Biology 38:213-219.
- Cardoso AL, Carvalho HLS, Benathar TCM, Serrão SMG, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Souza LM, Read JS, Noronha RCR (2016). Integrated cytogenetic and mitochondrial DNA analyses indicate that two different phenotypes of *Hypancistrus* (L066 and L333) belong to the same species. Zebrafish 1: 1-7.

7C) A retomada da linha de pesquisa em Citogenética de roedores

A Dra. Regina Barros fez o doutorado dela em citogenética de roedores na USP de São Paulo sob orientação do Dr. Oswaldo Frota Pessoa (1978). Em Belém, Regina se integrou no projeto de citogenética de primatas e passou a trabalhar em colaboração comigo e com Julio, onde formamos um grupo bem integrado.

Cleusa Yoshiko Nagamachi - Memorial Acadêmico 1975-2016

Em 2001, um aluno da Regina, Nelson Antonio Ribeiro Bailão, tinha terminado a dissertação em citogenética de morcego, pediu para trabalhar com roedores, onde ele desenvolveu sua tese no período de 2001 a 2006 sob o tema: "Análises cromossômicas e Filogenia em roedores do gênero *Proechimys* (Echimydae – Rodentia)" pelo Programa de Genética e Biologia Molecular. Ele iniciou a tese sob orientação da Regina mas concluiu sob minha orientação devido ao fato da Regina ter se afastado definitivamente da academia por problemas de saúde. Assim, a linha de citogenética de roedores retornou ao laboratório. Nelson publicou um artigo e está devendo o segundo.

Ribeiro NAB, Pieczarka JC, Soares MCP, Nagamachi CY (2011). Identification of a long-standing colony of *Proechimys* at the Instituto Evandro Chagas, Pará, Brazil, based on cytogenetic information. Revista Pan-Amazônica de Saúde 2:59 - 66.

Outros alunos ingressaram no projeto roedor, gerando novas publicações: Rosa CC, Flores T, Pieczarka JC, Rossi RV, Sampaio MIC, Rissino JD, Amaral PJS, Nagamachi CY (2012). Genetic and morphological variability in South American rodent *Oecomys* (Sigmodontinae, Rodentia): evidence for a complex of species. Journal of Genetics 91:265 - 277.

- Amaral PJS, Nagamachi CY, Noronha RCR, da Costa MJR, Pereira AL, Rossi RV, Mendes-Oliveira AC, Pieczarka JC (2013). *Proechimys* (Rodentia, Echimyidae): characterization and taxonomic considerations of a form with a very low diploid number and a multiple sex chromosome system. BMC Genetics 14:1 7.
- Silva WO, Pieczarka JC, Rossi RV, Schneider H, Sampaio I, Miranda CL, da Silva CR, Cardoso EM, Nagamachi CY (2015). Diversity and karyotypic evolution in the Genus *Neacomys* (Rodentia, Sigmodontinae). Cytogenetic and Genome Research DOI: 10.1159/000441173.
- Costa MJR, Amaral PJS, Pieczarka JC, Sampaio MI, Rossi RV, Mendes-Oliveira AC, Noronha RCR, Nagamachi CY. Cryptic species in *Proechimys goeldii* (Rodentia, Echimyidae)? A case of molecular and chromosomal differentiation in allopatric populations. Cytogenetic and Genome Research (*in press*).

7D) A linha de pesquisa em Citogenética de Aves

Em 2001 Edivaldo concluiu seu doutorado e retornou a Belém. Ele queria abrir uma linha de pesquisa em citogenética de aves e nos convidou para participar do projeto. Como ele não tinha nenhum apoio financeiro ele solicitou que pudéssemos iniciar o projeto usando todos os reagentes e estrutura do laboratório, uma vez que os reagentes, tanto de cultura celular e para a parte de técnicas citogenéticas eram os mesmos que tinham sido adquiridos com nossos projetos (do Julio e meu) para desenvolver as pesquisas em outras linhas. Nós achamos que seria bom para o grupo expandir as linhas de pesquisa aqui na Amazônia e concordamos em iniciar o projeto neste esquema. Em 2002 Edivaldo selecionou alguns alunos de IC para iniciar o projeto de citogenética de aves. Foram obtidas algumas culturas de fibroblastos que estão congeladas no nosso banco de células. Ele já tinha ideia de trabalhar com pintura cromossômica em aves.

de Oliveira EHC, Tagliarini MM, Nagamachi CY, Pieczarka JC (2006). Comparação genômica em aves através de sondas cromossomo-específicas. Ararajuba. Revista Brasileira de Ornitologia 14:47 - 52.

Uma das alunas de IC, Marcella Mergulhão Tagliarini, concluiu a graduação (2004), mestrado (2007) em citogenética clássica, publicando os primeiros artigos:

Tagliarini MM, Nagamachi CY, Pieczarka JC, De Oliveira EHC (2007). Description of two new karyotypes and Cytotaxonomic considerations on Falconiformes. Ararajuba. Revista Brasileira de Ornitologia 15: 261-266.

Tagliarini MM, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Rissino JD, de Oliveira EHC (2009). Chromosomal analysis in Cathartidae: distribution of heterochromatic blocks and rDNA, and phylogenetic considerations. Genetica 135:299 - 304.

8) A ideia de Implantar a Técnica de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH)

No período de 8 a 10 de janeiro de 1996, teve em Santiago (Chile) o 4º Simpósio de Verão "Genes and Genomes: Structure, Mapping and Diversity" do qual participaram, entre outros, os Drs. James Watson e Artur Kornberg. Após o Simpósio, ocorreu um Workshop de duas semanas, no qual foi realizada a

primeira demonstração formal da técnica de hibridização *in situ* na América do Sul (embora a citogenética da USP de SP já estivessem implantando a técnica). Julio foi um dos três representantes brasileiros selecionados para participar deste Simpósio e Workshop. Ele voltou muito empolgado com a certeza de que a citogenética das próximas décadas seguiriam pelo caminho da FISH e que tínhamos que colocar a técnica funcionando no laboratório. A primeira ideia foi iniciar fazendo Pintura Cromossômica utilizando sondas comercializadas de cromossomos totais humanas, em metáfases dos nossos Primatas.

Em 1998 veio trabalhar no nosso laboratório o biomédico Jorge Dores Rissino, que foi fazer um treinamento em cultura de fibroblastos, no Instituto Evandro Chagas, sob a vistoria da nossa colega Fátima Assis, que já estava atuando na parte de cultivo celular neste Instituto. Após este treinamento, Jorge ficou responsável pela parte de Cultura Celular no laboratório de Citogenética, assim como pela continuidade do banco de fibroblastos da nossa biodiversidade que Julio e eu havíamos iniciado antes de irmos para o doutorado.

Também em 1998 aprovamos um projeto grande (na coordenação geral do Julio) pelo edital da FINEP, no programa PPD-G7. Foi uma felicidade muito grande pois, com a verba do projeto, conseguimos comprar vários reagentes e equipamentos necessários à implantação e funcionamento da técnica de FISH, adaptando o laboratório para a citogenética molecular. Além disso, conseguimos melhorar o laboratório de cultura celular, adquirindo um Fluxo Laminar novo e containers de Nitrogênio líquido para congelamento das células da biodiversidade.

O uso de sondas humanas comerciais além de não poderem ser amplificadas eram muito caras e, devido a isso, limitava os estudos. Edivaldo, recém contratado em 1997, estava fazendo doutorado em Curitiba no tema: "Filogenia na subfamília Atelinae (Primates, Platyrrhini): Análise comparativa por pintura cromossômica multicor". Em 1999 estabelecemos convênio de pesquisa com o Dr. Stefan Muller da Ludwig-Maximilians-Universität de Munique, Alemanha e o Edivaldo foi fazer o sanduíche no laboratório do Dr. Muller, onde ele foi desenvolver a parte de pintura cromossômica. Julio, como orientador tinha que ir em visita ao laboratório do Dr. Stefan discutir o andamento do trabalho do Edivaldo. Em agosto de 2000, Julio, Regina e eu fomos

passar um mês na Alemanha, para desenvolvermos trabalhos em colaboração. Levamos lâminas preparadas de várias espécies de Primatas do Novo Mundo para aplicar a técnica de Pintura Cromossômica utilizando sondas humanas.

Como resultado deste convênio, ganhamos cópia das matrizes das sondas de cromossomos totais de humano para pesquisas futuras. A partir dessas matrizes, foi possível amplificar e marcar as sondas com os fluorocromos disponíveis no laboratório. Isso barateou muito os custos da técnica de pintura cromossômica.

Das hibridizações feitas na Alemanha mais as feitas no Brasil com as sondas amplificadas no nosso laboratório, foi possível desenvolver, além da tese de doutorado do Edivaldo, cinco dissertações de mestrado (Liane Fiuza de Melo Finotello, Paulo José Siqueira do Amaral, Ana Carolina Barata das Neves, Ana Carla de Oliveira Gonçalves e Daniela Cristiane da Cruz Rocha) e uma tese de doutorado (Luis Reginaldo Ribeiro Rodrigues). Estes trabalhos geraram algumas publicações:

- de Oliveira EHC, Neusser M, Figueiredo W, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Sbalqueiro IJ, Wienberg J, Muller S (2002). The phylogeny of howler monkeys (Alouatta, Platyrrhini): Reconstruction by multi-color cross species chromosome painting. Chromosome Research 10:669 683.
- Barros RMS, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Rodrigues LRR, Neusser M, de Oliveira EHC, Wienberg J, Muniz JAPC, Rissino JD, Muller S (2003). Chromosomal studies in *Callicebus donacophilus pallescens*, with classic and molecular cytogenetic approaches: Multicolor FISH using human and *Saguinus oedipus* painting probes. Chromosome Research 11:327 334.
- de Oliveira EHC, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Sbalqueiro IJ, Muller S, Neusser M (2005). Phylogenetic inferences of Atelinae (Platyrrhini) based on multi-directional chromosome painting in *Brachyteles arachnoides, Ateles paniscus paniscus* and *Ateles b. marginatus*. Cytogenetic and Genome Research 108:183 190.
- Amaral PJS, Finotelo LFM, de Oliveira EHC, Pissinatti A, Nagamachi CY, Pieczarka JC (2008). Phylogenetic studies of the genus *Cebus* (Cebidae-Primates) using chromosome painting and G-banding. BMC Evolutionary Biology 8:169.

Finotelo LFM, Amaral PJS, Pieczarka JC, de Oliveira EHC, Pissinatti A, Neusser M, Muller S, Nagamachi CY (2010). Chromosome phylogeny of the subfamily Pitheciinae (Platyrrhini, Primates) by classic cytogenetics and chromosome painting. BMC Evolutionary Biology 10:189.

Rodrigues LRR, Pissinati A, Rissino JD, Pieczarka JC, de Oliveira EHC, Nagamachi CY (2011). Genomic mapping of human chromosome paints on the threatened masked titi monkey (*Callicebus personatus*). Cytogenetic and Genome Research 133:1 - 7.

As sondas humanas resolviam o problema do projeto Primatas mas as hibridização em espécies filogeneticamente distantes como morcegos e roedores não funcionavam de modo satisfatório. Assim, surgiu a ideia de fazermos um Pós-doutorado em um lugar no exterior que tivesse estrutura para a produção de sondas.

9) Pós-doutorado no Exterior (PDE, 2003-2004)

Em julho de 2001 fomos participar do "Third European Cytogenetics Conference" em Paris. Lá encontramos o Professor Dr. Malcolm Ferguson-Smith, chefe do Cambridge Resource Centre for Comparative Genomics (Cambridge University, UK). Conversamos com ele da possibilidade de irmos ao laboratório dele fazer nossos pós-doutorado, visando produzir sondas da nossa biodiversidade para futuros estudos em colaboração, com o que ele concordou. Conversamos com ele dos trâmites de fazer o projeto e solicitar bolsa e afastamento da universidade. Dissemos que isso levaria um tempo ainda.

Retornando a Belém, iniciamos a elaboração do projeto de pesquisa e solicitação da licença para transporte de amostras biológicas. Essa licença demorou muito pra sair, o que atrasou muito a nossa ida para o pós-doc. Após a liberação da licença, já no início de 2003, entramos com o pedido de bolsa junto ao CNPq de Pós-doutorado no exterior (PDE). O projeto inicial do Julio era produzir sondas de mamíferos (morcegos e roedores) e aves por Citometria de Fluxo a partir de preparações cromossômicas feitas de cultura de fibroblastos. O meu projeto inicial era produzir sondas de várias espécies de peixes ornamentais

por microdissecção. Comunicamos o Dr. Malcolm da situação e que estávamos aguardando resposta do CNPq.

Enquanto aguardávamos resposta do CNPq, Dr. Malcolm nos convidou para irmos ao laboratório dele passar um período de treinamento inicial, pago pelo projeto dele. Fazia parte da equipe do Dr. Malcolm: Patricia O'Brien, técnica que era responsável pela produção de sondas por Citometria de Fluxo; Dr. Fengtang Yang (pesquisador) e o Dr. Willam Rens (pesquisador). Fomos para Cambridge e passamos os meses de março e abril de 2003 fazendo treinamento técnico de pintura cromossômica com sondas humanas em metáfases de morcego e roedor. Lá aprendemos a amplificar as sondas e fazer as FISH. Sentimos todas as dificuldades da técnica, além de ficar preocupada com meu projeto de produzir sondas por microdissecção, uma vez que constatamos que a técnica de microdissecção não era feita de rotina no laboratório.

Em agosto daquele ano recebemos o comunicado do CNPq da aprovação dos nossos PDE. Foi uma correria grande para nos prepararmos para a viagem. Tivemos que solicitar nosso afastamento, o afastamento temporário no colégio da nossa filha, preparar todas as culturas de fibroblasto de todas as espécies que queríamos levar para fazer as sondas (morcegos, roedores e aves), todas as preparações cromossômicas já feitas. De peixe, levamos várias preparações cromossômicas para fazer sondas por microdissecção. Também, enviei uma mensagem ao CNPq solicitando a interrupção temporária da minha bolsa de produtividade para fazer o PDE.

Viajamos para Cambridge em setembro de 2003. Assim que chegamos em Cambridge, levamos as culturas e todas as preparações cromossômicas para o laboratório. Ficamos as duas primeiras semanas em função de resolver a questão da moradia, escola para nossa filha Natalia e o curso de inglês da nossa sobrinha Moana Luri de Almeida (que foi passar dois meses conosco) e as questões burocráticas de entrada no país (registro na polícia), abrir conta no banco para podermos receber a bolsa, etc. Após isso, mergulhamos no trabalho. Assumimos o cultivo das nossas células e iniciamos o aprendizado em fazer a microdissecção (sistema de agulha). Enquanto esperávamos as culturas crescerem para obter as preparações cromossômicas para a Patricia O'Brien (responsável pelo citômetro de fluxo) fazer o Sorting dos cromossomos, ficamos tentando fazer

microdissecção das preparações de peixes. Fiquei nesta tentativa durante quase três meses. Quebrei umas trezentas agulhas até conseguir microdissecar os primeiros cromossomos. Entretanto não conseguimos boas amplificações por PCR desses cromossomos microdissecados. O tempo corria muito rápido. Após as festas de final de ano, eu já estava desesperada por não ter nenhum resultado concreto e não via perspectiva de obter algum resultado apresentável. Por outro lado, o projeto do Julio de fazer sondas por Citometria de Fluxo era muito amplo por abranger grupos diferentes de vertebrados com uma imensa diversidade de espécies. Isso exigia um volume de trabalho para uma vida toda. Assim, conversamos com nosso supervisor de dividir o projeto do Julio, onde ele ficaria com o projeto de morcegos (Phyllostomus hastatus, 2n=32 e Carollia brevicaudata, 2n=20/21) e aves (Harpia harpyja, 2n=58) e eu assumiria o projeto de roedores. Dr. Malcolm concordou com este arranjo mas disse que gostaria que eu insistisse em obter sondas de peixes mas que ele queria que eu fizesse culturas de peixes para produzir as sondas também por Citometria de Fluxo.

Imediatamente providenciei um projeto em roedor e uma carta ao CNPq solicitando a mudança de projeto, explicando toda situação. O CNPq aprovou a mudança e assim, eu fiquei bem mais tranquila. De roedor tínhamos levado biópsia de esquilo da Amazônia (provavelmente *Sciurus aestuans*, 2n=40), *Dasyprocta leporina* (2n=64) e *Proechimys roberti* (2n=30).

Fiquei muito preocupada com a questão das culturas de fibroblastos de peixes porque nós não tínhamos nenhuma experiência com cultura de peixe. Escrevemos para o Jorge e Augusto pedindo para eles coletarem biópsia de várias espécies de peixes para nos enviar. Augusto foi coletar os peixes e, além de coletar as biópsias, ele fez preparação cromossômica direta de todos para saber o cariótipo dos exemplares. Quando as amostras chegaram (após mais de duas semanas porque, apesar da licença ter seguido junto, o material ficou bastante tempo retido em Campinas), fomos cuidar de fazer as culturas de todas as biópsias para ver se alguma crescia. Vieram biópsia de várias espécies de peixes e nós cultivamos todas na esperança de alguma crescer. Neste momento eu nem me preocupei em saber quais eram as espécies e nem qual era o cariótipo de cada amostra. De todas as biópsias que vieram e foram cultivadas, somente uma

deu sinal de crescimento. Pela numeração, fomos ver o protocolo do bicho para saber qual espécie era: *Gymnotus carapo* (2n=42), uma espécie de peixe elétrico da Ordem Gymnotiformes. Era a primeira vez que eu ouvia falar deste grupo de peixes. A partir de então, fui fazer revisão sobre este grupo de peixes.

De todas as culturas que estavam crescendo, a primeira a estar em condições de fazer sondas foi a do morcego *Phyllostomus hastatus*. Foi uma alegria imensa quando a Patricia O'Brien nos entregou os eppendorfs com os cromossomos separados. Fizemos a PCR primária, depois o Reample e, a partir deste, os PCR de marcação. Testamos cada sonda nas metáfases da espécie para caracterizar a qual cromossomo correspondia cada sonda. Mais adiante conseguimos produzir as sondas da outra espécie de morcego, *Carollia brevicauda* e o primeiro artigo foi publicado em 2005. Desde então, estas sondas estão sendo utilizadas para mapeamento genômico comparativo de várias espécies de Phyllostomidae, constituindo trabalhos de mestrado e doutorado de vários alunos. Estes resultados estão permitindo estabelecer as relações filogenéticas entre os gêneros e a reconstrução da história da evolução cromossômica do grupo.

Das três espécies de roedor que tínhamos levado cultura eu estava muito na expectativa de obter sondas do *Proechimys roberti* por já ter amostras de várias espécies deste grupo no laboratório aguardando as sondas para fazer o mapeamento genômico comparativo. Infelizmente a cultura desta espécie não vingou e não conseguimos produzir as sondas. De roedor, conseguimos sondas da cutia, *Dasyprocta leporina* (2n=64). Conseguimos fazer a caracterização das sondas e estávamos fazendo o mapeamento comparativo em metáfases do *Proechimys roberti* (2n=30). Infelizmente a preparação cromossômica acabou e não conseguimos terminar o mapeamento. Atualmente conseguimos novas preparações de *P. goeldii* e estamos prosseguindo com o mapeamento comparativo.

De peixe, conseguimos fazer sondas do *Gymnotus carapo* (2n=42), caracterizamos as sondas e mapeamos no cariótipo do citótipo com 2n=40 (espécie críptica) e publicamos o artigo em 2010.

Durante o período que estivemos em Cambridge, interagimos com dois pesquisadores do grupo do Malcolm: Drs. Fengtang Yang e Willem Rens. Destes,

o Dr. Yang sempre se mostrou muito acessível para nos auxiliar em tudo. Eu diria que Fengtang Yang é o pesquisador que mais entende de Pintura Cromossômica. Ele sempre se mostrou disposto a nos auxiliar em todas as dificuldades técnicas e dúvidas que tínhamos. Até hoje, quando a gente está com alguma dúvida, a gente manda uma mensagem e ele nos responde sempre. Ele nos cedeu algumas sondas e propôs trabalhos em colaboração e até hoje, mantemos parceria de pesquisa com os Drs. Ferguson-Smith e Yang (atualmente pesquisador do Singer Institute).

Ao final do PDE, conseguimos trazer para o Brasil as sondas que produzimos da nossa biodiversidade (roedor, peixe e morcego) além de sondas de outras espécies que foram cedidas para trabalhos em colaboração. Destacamos aqui as sondas da ave stone curlew (*Burhinus oedicnemus*, 2n=42) da ordem Charadriiforme (cedidas pelo Dr. Yang em concordância com Dr. Ferguson-Smith) que apresenta 2n baixo e muito poucos microcromossomos, o que facilita muito o estudo da evolução cromossômica em aves por mapeamento genômico comparativo.

Já de volta a Belém, providenciei um relatório ao CNPq das atividades desenvolvidas no PDE. Providenciei também um novo projeto solicitando a retomada da bolsa de produtividade, que foi concedido por mais dois anos. Assim, tenho conseguido manter a bolsa de produtividade até o presente.

Em 2010 retornamos a Cambridge (utilizando a verba da Taxa de Bancada) para produzir sondas de outra espécie de roedor, desta vez da espécie *Hylaeamys megacephalus* (2n=54, Sigmodontinae, Oryzomyini). Estas sondas são excelentes e hibridizam facilmente em metáfases de espécies de todas as tribos de Sigmodontinae. Mapeamos as sondas no genoma de *Cerradomys langguthi* (2n=46) e publicamos o artigo em 2013. Essas sondas estão servindo para trabalhos de vários alunos de mestrado e doutorado. Novamente ganhamos para pesquisas em colaboração, sondas das espécies: *Gallus gallus e Mus musculus*, ambas utilizadas na literatura como padrão na análise comparativa dos genomas de aves e roedores, respectivamente.

Em 2006 e 2007 Edivaldo foi fazer o PDE no mesmo convenio de pesquisa com o grupo de Cambridge na supervisão do Professor Malcolm Ferguson-Smith para fazer sondas de outras espécies de aves.

10) Retorno a Belém após o PDE

Após o retorno do PDE, nos empenhamos em finalizar as análises dos resultados obtidos em Cambridge visando a publicação dos artigos e em ajustar a técnica de Pintura cromossômica no laboratório.

O projeto de morcego é o que mais avançou com a Pintura Cromossômica pelo fato das sondas produzidas serem de espécies com cariótipos com poucos cromossomos e com pouca Heterocromatina Constitutiva que, quando presente em grande quantidade, atrapalha muito na hibridização e na análise. Este é o caso das sondas da Cutia que, além de ter número alto de cromossomos (2n=64) os cromossomos apresentam grande quantidade de Heterocromatina constitutiva. As sondas da outra espécie de roedor (obtidas em 2010), *Hylaeamys megacephalus* (2n=54, Sigmodontinae, Oryzomyini) são excelentes e estão sendo hibridizadas nos cariótipos de várias espécies de Sigmodontinae, constituindo trabalhos de mestrado e doutorado de vários alunos. A sonda das aves stone curlew (*Burhinus oedicnemus*, 2n=42) e *Gallus gallus* estão funcionando bem nas nossas aves e já temos alunos fazendo mapeamento genômico comparativo. As sondas da espécie de peixe *Gymnotus carapo* (2n=42) também estão funcionando bem e já temos alunos trabalhando com estas sondas em outras espécies de *Gymnotus*.

Vários artigos estão sendo publicados com Pintura Cromossômica utilizando sondas cromossômicas da nossa Biodiversidade, produzidas na Inglaterra:

10A) Pintura Cromossômica em Quiróptera:

Pieczarka JC, Nagamachi CY, O'Brien PCM, Yang F, Rens W, Barros RMS, Noronha RCR, Rissino JD, de Oliveira EHC, Ferguson-Smith MA (2005). Reciprocal chromosome painting between two South American bats: *Carollia brevicauda* and *Phyllostomus hastatus* (Phyllostomidae, Chiroptera). Chromosome Research 13:339 - 347.

Noronha RCR, Nagamachi CY, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC (2009). Neo-XY body: an analysis of XY1Y2 meiotic behavior in *Carollia* (Chiroptera, Phyllostomidae) by chromosome painting. Cytogenetic and Genome Research 124:37 - 43.

- Noronha RCR, Nagamachi CY, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC (2010). Meiotic analysis of XX/XY and neo-XX/XY sex chromosomes in Phyllostomidae by cross-species chromosome painting revealing a common chromosome 15-XY rearrangement in Stenodermatinae. Chromosome Research 18:667 676.
- Sotero-Caio CG, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Gomes AJB, Lira TC, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Souza MJ, Santos N (2011). Chromosomal homologies among vampire bats revealed by chromosome painting (Phyllostomidae, Chiroptera). Cytogenetic and Genome Research 132:156 164.
- Ribas TFA, Rodrigues LRR, Nagamachi CY, Gomes AJB, Benathar TCM, O'Brien PCM, Yang F, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC (2013). Two new cytotypes reinforce that *Micronycteris hirsuta* Peters, 1869 does not represent a monotypic taxon. BMC Genetics 14:119.
- Pieczarka JC, Gomes AJB, Nagamachi CY, Rocha DCC, Rissino JD, O'Brien PCM, Yang F, Ferguson-Smith MA (2013). A phylogenetic analysis using multidirectional chromosome painting of three species (*Uroderma magnirostrum*, *U. bilobatum* and *Artibeus obscurus*) of subfamily Stenodermatinae (Chiroptera-Phyllostomidae). Chromosome Research 21:1 10.
- Ribas TFA, Rodrigues LRR, Nagamachi CY, Gomes AJB, Rissino JD, O'Brien PCM, Yang F, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC (2015). Phylogenetic reconstruction by cross-species chromosome painting and G-banding in four species of Phyllostomini tribe (Chiroptera, Phyllostomidae) in the Brazilian Amazon: an independent evidence for Monophyly. PLoS ONE 10(3): e0122845. doi:10.1371/journal.pone.0122845.
- Rahn MI, Noronha RCR, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Solari AJ, Sciurano RB (2015). Protein markers of synaptic behavior and chromatin remodeling of the neo-XY body in phyllostomid bats. Chromosoma DOI 10.1007/s00412-015-0566-1.
- Gomes AJB, Nagamachi CY, Rodrigues LRR, Benathar TCM, Ribas TFA, O'Brien PCM, Yang F, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC. Chromosomal phylogeny of Vampyressine bats (Chiroptera, Phyllostomidae) with description of two new sex chromosome systems. BMC Evolutionary Biology (*in press*).

Atualmente o projeto de pintura cromossômica em morcegos conta com uma aluna de doutorado Thayse Cristine Melo Benathar, uma aluna que acabou de ingressar no Mestrado, Jéssica Barata da Silva e uma aluna de Iniciação Científica Daniely Freitas do Nascimento. Quero destacar aqui o empenho e a dedicação da Thayse não só com o trabalho do doutorado dela mas também, em auxiliar Jéssica e Daniely.

10B) Pintura cromossômica em aves:

- de Oliveira EHC, de Moura SP, Dos Anjos LJS, Nagamachi CY, Pieczarka JC, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA (2008). Comparative chromosome painting between chicken and spectacled owl (*Pulsatrix perspicillata*): implications for chromosomal evolution in the Strigidae (Aves, Strigiformes). Cytogenetic and Genome Research 122:157 162.
- de Oliveira EHC, Tagliarini MM, Rissino JD, Pieczarka JC, Nagamachi CY, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA (2010). Reciprocal chromosome painting between white hawk (*Leucopternis albicollis*) and chicken reveals extensive fusions and fissions during karyotype evolution of Accipitridae (Aves, Falconiformes). Chromosome Research 18:349 355.

10C) Pintura cromossômica em peixe *Gymnotus*:

Para a finalização do primeiro artigo de Pintura Cromossômica em *Gymnotus*, contei com a dedicação da minha aluna de doutorado, Susana Suely Rodrigues Milhomem (Variabilidade cromossômica em espécies do gênero *Gymnotus* (Gymnotidae-Gymnotiformes: primeira abordagem com técnicas de pintura cromossômica) e após, outros artigos foram e estão sendo produzidos:

- Nagamachi CY, Pieczarka JC, Milhomem SSR, O'Brien PCM, de Souza ACP, Ferguson-Smith, MA (2010). Multiple rearrangements in cryptic species of electric knifefish, *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Gymnotiformes) Revelead by chromosome painting. BMC Genetics (Online), 11:28.
- Milhomem SSR, Scacchetti PC, Pieczarka JC, Ferguson-Smith MA, Pensonato-Alves JC, O'Brien PCM, Foresti F, Nagamachi CY (2013). Are NORs always located on homeologous chromosomes? A FISH investigation with rDNA and

whole chromosome probes in *Gymnotus* fishes (Gymnotiformes). Plos One 8:55608.

Nagamachi CY, Pieczarka JC, Milhomem SSR, Batista JA, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA (2013). Chromosome Painting Reveals Multiple Rearrangements between *Gymnotus capanema* and *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Gymnotiformes). Cytogenetic and Genome Research 141:163 - 168.

10D) Pintura cromossômica em Roedor:

No projeto do roedor, com as sondas de *Hylaeamys megacephalus* (2n=54) produzidas em novembro de 2010, quero destacar o empenho de três alunos que fizeram um mutirão na FISH cross-species no cariótipo de *Cerradomys langguthi* (2n=64), visando a publicação rápida do primeiro artigo para liberar a utilização das sondas: Stella Miranda Malcher, Jamilly Amaral Pinto e Adenilson Leão Pereira.

Nagamachi CY, Pieczarka JC, O'Brien PCM, Pinto JA, Malcher SM, Pereira AL, Rissino J, Mendes-Oliveira AC, Rossi RV, Ferguson-Smith MA (2013). FISH with whole chromosome and telomeric probes demonstrates huge karyotypic reorganization with ITS between two species of Oryzomyini (Sigmodontinae, Rodentia): *Hylaeamys megacephalus* probes on *Cerradomys langguthi* karyotype. Chromosome Research, 21: 107 - 119.

Suárez P, Nagamachi CY, Lanzone C, Malleret MM, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Pieczarka JC (2015). Clues on syntenic relationship among some species of Oryzomyini and Akodontini Tribes (Rodentia: Sigmodontinae). PLoS ONE 10(12): e0143482. doi:10.1371/journal.pone.0143482.

Pereira AL, Malcher SM, Nagamachi CY, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Mendes-Oliveira AC, Julio Cesar Pieczarka (2016). Extensive chromosomal reorganization in the evolution of New World muroid rodents (Cricetidae, Sigmodontinae): Searching for ancestral phylogenetic traits. PLoS ONE 11(1): e0146179. doi:10.1371/journal.pone.0146179.

Atualmente o projeto conta com o empenho de quatro alunos de doutorado (Jamilly Amaral Pinto, Marlyson Jeremias Rodrigues da Costa, Stella Miranda Malcher e Willam Oliveira da Silva) e uma aluna de mestrado (Vergiana dos Santos Paixão). Estes alunos formam uma equipe de trabalho colaborativo,

onde eles fazem revezamento nas coletas e organização do material de campo e das preparações cromossômicas.

11) O surgimento de novas linhas de pesquisa após o PDE (2004 - atual)

Após o nosso retorno do PDE, foram surgindo novas linhas de pesquisa:

11A) A linha de pesquisa em Citogenética de Anfíbio

Esta linha se iniciou e 2003 com a vinda de Pablo Suarez pra Belém fazer o mestrado na Genética e Biologia Molecular, sob orientação do Julio. Pablo Suarez concluiu sua graduação em Licenciatura em Genética na Universidade Nacional de Missiones, UNAM, Argentina em 2002. Desenvolveu seu mestrado pelo PPGBM no período de 2003 a 2005 com a dissertação "Estudos citogenéticos em espécies dos gêneros *Leptodactylus* Fitzinger 1993 e *Bufo* Laurenti 1768 (Amphibia, Anura)" e o doutorado pelo PPZ no período de 2005 a 2010 sob o tema "Estudos cromossômicos em anuros das famílias Hylidae e Leptodactylidae (Amphibia: Anura), sempre sob orientação do Julio.

Além do Pablo, em 2014 foi desenvolvido um TCC pela aluna Jéssica Barata da Silva sob o tema "Citogenética da Salamandra Brasileira *Bolitoglossa paraensis* (Unsterstein, 1930) (Caudata: Plethodontidae)".

Nesta linha de pesquisa foram publicados os seguintes artigos:

- Ferro JM, Marti DA, Bidau CJ, Suárez P, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Baldo D (2012). B chromosomes in the Tree Frog (Anura: Hylidae). Herpetologica 68: 482-490.
- Suárez P, Cardoso D, Baldo D, Pereyra MO, Faivovich J, Obrico VGD, Catroli GF, Gabriele M, Bernarde PS, Nagamachi CY, Hddad CFB, Pieczarka JC (2013). Chromosome Evolution in Dendropsophini (Amphibia, Anura, Hylinae). Cytogenetic and Genome Research 295-308.
- Silva JB, Suárez P, Nagamachi CY, Carter TF, Pieczarka JC (2014). Cytogenetics of the Brazilian *Bolitoglossa paraensis* (Unterstein, 1930) salamanders (Caudata, Plethodontidae). Genetics and Molecular Biology 37: 526-529.

11B) A linha de pesquisa em Câncer: uma passagem rápida

Em 2004, período em que estávamos na Inglaterra fazendo nosso PDE, o Edivaldo me enviou uma mensagem dizendo que apareceu no laboratório uma aluna vinda de Salvador, Ana Patricia Barros Cordeiro, procurando por mim. Essa aluna foi enviada pela minha grande amiga Lilia Maria de Azevedo Moreira (nós nos conhecemos em Ribeirão Preto durante o meu Mestrado e Doutorado dela com a mesma orientadora, Dra. Iris Ferrari). Ana Patricia queria fazer o Mestrado no PPGBM sob minha orientação. Eu pedi para Edivaldo deixa-la frequentando o laboratório até eu retornar do PDE, no início de 2004. Ela ficou estudando para a prova de seleção.

Mais adiante, Edivaldo escreveu outra mensagem para nós (Julio e eu) dizendo que o Prof. Nilson Praia Anselmo (Professor do Departamento de Genética) tinha retornado do doutorado e estava organizando um projeto de pesquisa em Câncer do Sistema Nervoso (tema da tese de doutorado dele) e estava nos convidando (professores da Citogenética) para compor com ele neste projeto. Como o projeto não tinha nenhum recurso financeiro, o Edivaldo solicitou que pudéssemos começar trabalhando com os reagentes de cultura e de citogenética que já tínhamos no laboratório, adquiridos de outros projetos que Julio e eu tínhamos comprado e deixado para os alunos irem tocando as pesquisas. Nós concordamos em dar este apoio inicial e assim, concordamos em participar do projeto.

Quando retornamos a Belém, após as festas de final de ano e férias de janeiro, Ana Patrícia estava bem engajada no projeto Câncer junto com Edivaldo. Achei ótimo pois ela ia ficar trabalhando no grupo. Ana Patrícia foi a primeira aluna a desenvolver o Mestrado com a parte citogenética dentro do projeto Câncer: "Alterações cromossômicas, gênicas e proliferativas em um Meningioma Cordóide recorrente" (2005-2007). Edivaldo orientou mais dois alunos no projeto Câncer: 1) Fabio Pacheco Estumano da Silva que fez o TCC em 2006, concluiu o Mestrado em 2009 e iniciou o doutorado em 2009; 2) Luciana Gonçalves Quintana que concluiu o Mestrado em 2008 e iniciou o doutorado em 2009.

Em setembro 2008 aconteceu o 54º Congresso Brasileiro de Genética em Salvador. Lá eu encontrei com minha amiga Lilia e ela me cobrou o fato de eu não

estar orientando nenhum dos alunos que ela tinha enviado pra Belém. Eu sabia que tinha vindo outro aluno dela, o Carlos Eduardo Matos Carvalho Bastos (eu não o conhecia pessoalmente), que tinha acabado de concluir o Mestrado com a Dra. Maria Lucia Harada. Eu respondi que os dois alunos dela estavam bem encaminhados e que estavam em boas mãos.

Neste mesmo ano Carlos veio me procurar porque queria fazer o doutorado comigo. Eu disse que ele primeiro deveria conversar com a Lucia sobre as intenções dele. Ele disse que já tinha conversado com ela e que estava tudo bem. Ele queria fazer o doutorado no projeto Câncer. Eu falei para ele esperar um pouco e fui chamar o Edivaldo que era a pessoa que estava mais em contato com o Nilson, coordenador do projeto. O Edivaldo veio se reunir comigo e com Carlos e eu expliquei da intenção do Carlos de trabalhar no projeto Câncer. O Edivaldo deu todo apoio, dizendo que seria ótimo ter mais um aluno de doutorado trabalhando no projeto. Eu então propus de convidarmos o Nilson para atuar como co-orientador e fazer um trabalho mais completo. Assim, chamamos o Prof. Nilson para a reunião e ficou acertado dessa maneira.

Carlos ingressou no doutorado pela pós-graduação de Neurociências e Biologia Celular. Ele foi aprovado e iniciou o doutorado no final de 2008.

Em 2010, Edivaldo nos comunicou que estava saindo do grupo e indo trabalhar no Instituto Evandro Chagas, com todos os alunos dele. Diante disso, Julio e eu achamos por bem nos desvincularmos do projeto Câncer. Como o Carlos estava no meio do doutorado e o Nilson, além de coordenador do projeto era co-orientador do Carlos, chamamos o Nilson para comunicar nossa saída do projeto após a conclusão do trabalho do Carlos.

Em 2013, com a finalização do doutorado do Carlos "Alterações genéticas e epigenéticas em meningiomas na população paraense", o projeto câncer deixa de fazer parte da linha de pesquisa no nosso laboratório. Carlos já submeteu um artigo e está finalizando o segundo.

O projeto Câncer rendeu algumas publicações:

Cordeiro AP, Silva FPE, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Anselmo NP, Brito JRN, Serra DV, Liehr T, Weise A, de Oliveira EHC (2009). Comparative analysis of proliferative and genetic alterations in a primary chordoid meningioma and

its recurrence using locus-specific probes and AgNOR. Molecular Medicine Reports 2:449 - 454.

- Quintana LG, da Silva FPE, Pieczarka JC, Nagamachi CY, Anselmo NP, de Oliveira EHC (2010). Correlation between argyrophilic Nucleolar Organizer Region staining and brain tumor classification and grading. Cancer Investigation 28:459 464.
- Silva FPE, Cordeiro AP, Nagamachi CY, Pieczarka JC, Rens W, Weise A, Liehr T, Mkrtchyan H, Anselmo NP, de Oliveira EHC (2010). A case of aggressive medulloblastoma with multiple recurrent chromosomal alterations. Cancer Genetics and Cytogenetics 196:198 200.
- Bastos CEMC, Borges BN, Pieczarka JC, Diniz IG, Brito JRN, Anselmo NP, Nagamachi CY. Analysis of the MTHFR C677T polymorphism in meningiomas: case control study of patients in Pará state, Brazil and meta-analysis. PLos One (submitted).

11C) A linha de pesquisa em Mutagênese: uma linha promissora

Esta linha de pesquisa teve início em 2008 quando aprovamos um projeto grande, o PRONEX, via FAPESPA – CNPq ("Definição de organismos aquáticos com potencial para utilização como bioindicadores de qualidade da água") coordenado pelo Julio, na qual, contemplava uma bolsa DCR (Desenvolvimento Científico Regional). Assim, recebemos em nosso laboratório o Bolsista DCR, Dr. José Augusto de Oliveira David, com o projeto de pesquisa: "Aplicação das técnicas de micronúcleo e cometa em eritrócitos de peixes da Ordem Gymnotiformes como bioindicadores no Estado do Pará". Para desenvolver o projeto, foram selecionados duas alunas de Iniciação Científica: Karina Motta Melo e Ingrid Reale Alves. As coletas eram realizadas junto com o grupo de Citogenética de peixes, apoiado pelo projeto.

Em 2009 José David foi aprovado em um concurso e foi contratado como Professor Adjunto na Universidade Federal do Espírito Santo. Ele cancelou sua bolsa DCR e foi assumir o cargo. As duas alunas de IC tinham que fazer o TCC em 2010. Assim, eu fiquei com a orientação da Karina ("Formação espontânea de micronúcleos em peixes elétricos da região Amazônica") e o Julio, da Ingrid ("Utilização de peixes Gymnotiformes como bioindicadores de danos genotóxico

e mutagênicos no Rio Caripetuba – Abaetetuba – PA"). Os resultados dos dois TCCs geraram o artigo:

Melo KM, Alves IR, Pieczarka JC, David JAO, Nagamachi CY, Grisolia CK (2013). Profile of micronucleus frequencies and nuclear abnormalities in different species of electric fishes (Gymnotiformes) from the Eastern Amazon. Genetics and Molecular Biology 36:425 - 429.

Após a formatura, as meninas pediram para continuar na linha de mutagênese mas mudando um pouco o foco do trabalho. Elas queriam testar o efeito de plantas medicinais. No início de 2011 elas prestaram seleção para Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. As duas passaram na seleção. Assim, convidamos o Dr. Cesar Grisolia da Universidade de Brasília para atuar como co-orientador das meninas.

Ingrid Reale Alves fez o mestrado sob orientação do Julio e co-orientação do Cesar no tema: "Avaliação do potencial tóxico de *Eleutherinae plicata* Herb em camundongos Swiss". 2011-2013. Após o mestrado, Ingrid foi fazer o doutorado na USP de São Paulo.

Karina Motta Melo fez o mestrado sob minha orientação e co-orientação do Cesar no tema: "Avaliação do efeito tóxico, genotóxico e mutagênico da rotenona usando duas espécies de peixes como organismo teste". 2011-2013. Karina publicou dois artigos:

Melo KM, Grisolia CK, Pieczarka JC, Souza LR, Souza-Filho J, Nagamachi CY (2014). FISH in micronucleus test demonstrate aneugenic action of rotenone in a common freshwater fish species, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Mutagenesis, 1-5. [Neste artigo agradecemos ao Dr. Cesar Martins da UNESP de Botucatu por ceder as sondas SATA da tilapia, que permitiu a realização dos experimentos de FISH]

Melo KM, Oliveira R, Grisolia CK, Domingues I, Pieczarka JC, Souza-Filho J, Nagamachi CY (2015). Short-term exposure to low doses of rotenone induces developmental, biochemical, behavioral, and histological changes in fish. Environ Sci Pollut Res 22: 13926-38.

Em 2013 Karina ingressou no doutorado no PPGBM desenvolvendo sob minha orientação e co-orientação do Cesar Grisolia, o tema: "Análise do perfil

toxicológico e investigação do potencial protetor do óleo e nanoemulsão de andiroba em camundongos da linhagem Swiss". Este trabalho é parte de um projeto maior aprovado pela CAPES, o Pró-Amazônia, na coordenação geral do Julio: "Biodiversidade, Inovação & Aplicabilidade: estudos de variabilidade genética, do perfil metabólico e investigação sistemática de atividades biológicas e sistemas de microemulsão da andiroba (*Carapa* sp.)". Neste projeto, além da Karina estão trabalhando outros alunos: Carlos Eduardo Bastos (aluno de pósdoc CAPES pelo PNPD), Clara Dias e Tassia Ferreira ambas, alunas de Iniciação Científica.

Em 2010, Ana Patricia Barros Cordeiro, que tinha se afastado da pesquisa para ter bebê, me procurou para fazer o Doutorado. Como ela tinha sido orientada pelo Edivaldo no Mestrado, pedi a ela que conversasse primeiro com ele sobre as intenções dela. Após isso, ela solicitou que o doutorado dela fosse na área de Mutagênese porque ela já tinha trabalhado nesta área em Salvador com a Lilia. Como o Julio tinha conseguido uma bolsa de doutorado pelo CNPq, achamos por bem Ana Patricia ficar na orientação do Julio e já ingressar no doutorado com bolsa no tema: "Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico da *Luffa operculata*" (2010 – 2915).

Em 2012, Luana França Calandrini de Azevedo iniciou seu estágio de IC que culminou no seu TCC em 2015, sob orientação do Julio e colaboração da Ana Patricia: Avaliação in vivo e in vitro do Efeito Citotóxicos, Genotóxico e Mutagênico do marupazinho (*Eleutherine plicata*). Iniciou o Mestrado em março de 2015 no PPGBM e está desenvolvendo a dissertação no tema "Avaliação in vitro do potencial Citotóxico, Genotóxico e Antigenotóxico de cinco extratos de Libidibea férrea (Jucá) em linhagem celular Hep G2".

Destaco aqui o empenho da Karina e do Carlos com o projeto de mutagênese, não só fazendo as suas respectivas pesquisas mas também, auxiliando os mais novos, tanto na execução dos experimentos, quanto na análise e discussão dos resultados.

11D) A linha de pesquisa em Citogenética de escorpião

Em 2009 Bruno Rafael Ribeiro de Almeida veio ao laboratório dizendo que queria fazer citogenética de escorpião porque ele estava em um projeto de

pesquisa com o pesquisador Prof. Dr. Pedro Pardal, do Núcleo de Medicina Tropical, da UFPa, onde desenvolve estudos sobre veneno de escorpião e eles estavam encontrando uma espécie de duas localidades do Pará mas que diferiam no veneno. Assim ele queria fazer a parte citogenética para ver se havia diferenças cromossômicas. Bruno ficou na orientação da minha aluna de doutorado, Susana Milhomem que estava finalizando o doutorado e estudando para o concurso para professor que ia ocorrer em 2010. Assim Bruno fez o TCC em 2012: "Análise citogenética em populações do escorpião *Tityus obscurus* Gervais, 1843, do Estado do Pará, Brasil". Em 2013 Susana foi fazer o pósdoutorado em Brasília. Assim, Bruno fez o mestrado (PPGBM) já na orientação do Julio (2013-2015): "Estudos citogenéticos em escorpiões amazônicos da família Buthidae". Bruno acabou de ingressar no doutorado para dar continuidade aos estudos citogenéticos de escorpiões.

12) Projetos de Pesquisas com apoio financeiro

Para manter as pesquisas no laboratório em citogenética clássica da biodiversidade, implementar as novas linhas de pesquisa com Mapeamento genômico comparativo utilizando as sondas que obtivemos, além do laboratório de cultura celular e o banco de células, fomos atrás de elaborar projetos de pesquisa para concorrer aos editais para apoio à pesquisa. Durante esses anos todos tivemos o apoio de diversas Instituições de fomento à pesquisa, através da aprovação dos projetos submetidos, como listado abaixo:

12A) Projetos sob minha coordenação:

- 1) 2006-2008: Universal CNPq. R\$35.000,00 (Faixa A) mais uma bolsa de Iniciação Científica: "Genômica comparativa em roedores da Infra Ordem Caviomorpha (Histricognathi do Novo Mundo) por pintura cromossômica utilizando sondas cromossomos totais das espécies *Dasyprocta leporina* Dasyproctidae e *Octodon degus* Octodontidae".
- **2) 2008-2010:** Universal FAPESPA, R\$ 44.649,00: "Mapeamento Genético e Diversidade Taxonômica de Pequenos Mamíferos Não-voadores da Região Estuarina do Rio Amazonas
- 3) 2010: BIONORTE (CNPq e FAPESPA) projeto em rede ("Estudo da

Cleusa Yoshiko Nagamachi - Memorial Acadêmico 1975-2016

biodiversidade de pequenos mamíferos da Amazônia e seu uso biotecnológico") envolvendo as Instituições: UFPA, UFOPA, UFMT, IEPA e UNITINS. O valor global do projeto foi de R\$ 828.691,07 dos quais, ficou atribuído ao CNPq (2010-2014), R\$ 94.291,58 de Custeio, R\$ 388.020,00 de Capital e Bolsas (1 Doutorado por 4 anos, 1 Mestrado por 2 anos e 1 PDJ por um ano) e à FAPESPA (2011-2015) R\$ 207.172,77 de Custeio.

- **4) 2013-2015:** Edital Universal CNPq, R\$ 45.000,00 de Custeio (Faixa B). "Biogeografia e citogenômica de um grupo de peixes Neotropicais da região Amazônica utilizando mapeamento genômico comparativo por Pintura Cromossômica e DNA Barcoding".
- **5) 2014-2018:** Programa Pro-Amazônia CAPES Edital 047/2012. Valor global do projeto: R\$ 1.482.660,00 por 4 anos para 5 grupos de pesquisa (Belém, INPA, UFOPA, UFAM e UNESP-Botucatu), incluindo bolsas de doutorado, pósdoutorado e iniciação científica. "Estudos citogenéticos e citogenômicos da biodiversidade da Amazônia, com implementação de avanços técnicos".

12B) Projetos sob coordenação do Julio:

- **1) 1998-2002:** PPD-G7 FINEP: "Biodiversidade de Primatas da Amazônia e seu uso em Pesquisas Médico-Biológicas". Euro 204.259,00
- **2) 2004-2006:** Universal CNPq: "Pintura Cromossômica: novas ferramentas para o estudo genômico comparativo de espécies da família Phyllostomidae (Chiroptera)". R\$ 25.000,00.
- **3) 2006-2009:** Edital MCT/CT-INFRA/CT-ENERG/CNPq 07/2006: Cooperação Interinstitucional em Neurociências e Biologia Celular na Região Amazônica. R\$ 255.789,00.
- **4) 2008-2012:** Edital N° 02/2007 FAPESPA Seleção de projetos de pesquisa do programa de apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX): "Definição de organismos aquáticos com potencial para utilização como bioindicadores de qualidade da água". R\$ 440.000,00.
- **5) 2010-2012:** Edital Universal CNPq: "Estudo da biodiversidade de morcegos da família Phyllostomidae através de pintura cromossômica". R\$ 49.000,00.
- **6) 2013-2015:** Edital Universal CNPq: "Banco de fibroblastos e bioprospecção de células-tronco mesenquimais na biodiversidade brasileira". R\$ 22.000,00.

- **7) 2014-2018**: Programa Pro-Amazônia CAPES Edital 047/2012. "Biodiversidade, Inovação & Aplicabilidade: estudos de variabilidade genética, do perfil metabólico e investigação sistemática de atividades biológicas e sistemas de nanoemulsão da andiroba (*Carapa* sp.)". R\$ 343.200,00.
- **8) 2014:2016:** Fundo Amazônia, BNDES: Construção do Centro Avançado de Estudos da Bioidversidade (CEABIO). R\$ 3.400.000.00.

13) Parcerias científicas e projetos em colaboração recentes

NOME	ESPECIALIDADE	INSTITUIÇÃO	PAÍS	TIPO DE COLABORAÇÃO
		,		,
Malcolm Andrew	Citogenética	Universidade	Reino	Treinamento;
Ferguson-Smith	Molecular	de Cambridge	Unido	trabalhos em
D	D 1 ~ 1	**	D :	conjunto
Patricia Caroline	Produção de	Universidade	Reino	Trabalhos em
Mary O'Brien	Sondas por FACS	de Cambridge	Unido	colaboração
Fengtang Yang	Citogenética	Sanger	Reino	Treinamento;
	Molecular	Institute	Unido	trabalhos em
				conjunto
Roberta Sciurano	Citogenética	Universidad de	Argentina	Treinamento;
	Molecular e meiose	Buenos Aires		trabalhos em
				conjunto
William Gareth	Taxonomista e	University of	USA	Trabalhos em
Richard Crampton	Ecologia de peixes	Central Florida		colaboração
	elétricos			
Jonathan Stuart	Ecologia de peixes	UFPA	Brasil	Trabalhos e
Ready				projetos em
				colaboração
Wilsea Maria	Genética molecular	UFPA	Brasil	Trabalhos em
Batista de				colaboração
Figueiredo-Ready				,
Eliana Feldberg	Citogenética de	INPA, Manaus	Brasil	Trabalhos em
J	peixes	- AM		colaboração
Fausto Foresti	Citogenética de	UNESP,	Brasil	Trabalhos em
	peixes	Botucatu - SP		colaboração
Cesar Martins	Citogenética de	UNESP,	Brasil	Trabalhos em
	peixes	Botucatu - SP	210.011	colaboração
Maria Iracilda da	Genética Molecular	UFPA –	Brasil	Trabalhos em
Cunha Sampaio	deficited inforcedial	Campus de	214011	colaboração
Gainia Gainpaio		Bragança		
Horacio Schneider	Genética Molecular		Brasil	Trabalhos em
Tioracio sciinciaei	denetica Moleculai	Campus de	Diasii	colaboração
		Bragança		Colabolação
Luis Reginaldo	Citogenética	UFOPA	Brasil	Trabalhos e
Luis Negilialuo	Gitogenetica	OLOI V	ומאות	11 availius E

D.1 . D. 1 .				
Ribeiro Rodrigues				projetos em
				colaboração
Rogério Vieira	Taxonomista de	Universidade	Brasil	Trabalhos e
Rossi	pequenos	Federal		projetos em
	mamíferos	doMato Grosso		colaboração
Lena Geise	Taxonomia e	Universidade	Brasil	Trabalhos e
	Genética de	do Estado do		projetos em
	pequenos	Rio de Janeiro		colaboração
	mamíferos			
Alberdan Silva	Biotransformações	UFPA	Brasil	Trabalhos e
Santos	e Biodiversidade			projetos em
	Molecular			colaboração
Ana Cristina	Ecologia de	UFPA	Brasil	Trabalhos em
Mendes-Oliveira	mamíferos			colaboração
Cesar Koppe	Genética	Universidade	Brasil	Trabalhos e
Grisolia	Toxicológica	Federal de		projetos em
		Brasília		colaboração

14) Entrada e saída de professores

Em 2010 o Prof. Edivaldo nos comunicou da sua saída do grupo, uma vez que ele estava sendo contratado no IEC para fazer pesquisa lá.

Neste mesmo ano, minha aluna Susana Suely Rodrigues Milhomem concluiu seu doutorado e fez o concurso para professor e foi aprovada e contratada. Assim ela continuou trabalhando com o grupo, o que foi uma excelente aquisição. Em 2012 o marido dela conseguiu um emprego em Brasília e foi assumir o cargo. Em 2013 Susana foi pra Brasília fazer o Pós-doutorado junior (PDJ), na supervisão do Cesar Grisolia. Em 2014 ela engatou outro PDJ e em 2015 ela pediu a exoneração do cargo.

Renata Coelho Rodrigues Noronha fez toda sua formação acadêmica no laboratório. Fez o Mestrado em Ciência Biológicas na supervisão da Dra. Regina Barros (1998-2000: Reconstrução do comportamento meiótico e inferência evolutiva dos cromossomos sexuais na família Phyllostomidae (Chiroptera)) e o Doutorado (2001-2006), com o Julio (Comportamento meiótico e evolução dos cromossomos sexuais na família Phylostomidae (Chiroptera): Análise por hibridização *in situ* com fluorocromos). Em 2006 passou no concurso no Campus de Altamira – Pará e ficou atuando naquele Campus. Em 2010 ela solicitou sua remoção para o Campus de Belém. Como o Edivaldo tinha solicitado sua mudança do ICB para o Centro de Educação, a vaga dele ficou disponível e em

2011, Renata veio transferida para Belém e, desde então tem trabalhado no laboratório de citogenética em colaboração com o grupo.

Em 2012-2013, os Professores Jonathan Stuart Ready e Wilsea Maria Batista de Figueiredo-Ready que atuavam no campus de Bragança, foram transferidos para o Campus de Belém e está trabalhando integrado com o nosso grupo na linha de Peixes.

15) Formação de recursos humanos

15A) Alunos orientados no projeto Primatas:

1. Anderson Nonato do Rosario Marinho

TCC (2000) "Estudos citogenéticos em espécimes do gênero *Aotus* (Cebidae, Primates) do Centro Nacional de Primatas – Ananindeua, PA".

2. Ana Carolina Barata das Neves

Mestrado em Ciências Biológicas (1999-2002) "Mapeamento do genoma humano no cariótipo de *Saguinus fuscicollis weddelli* (Callitrichidae-Primates) por FISH-Multicor

3. Liane Fiuza de Melo Finotelo

TCC (2003) "Caracterização cromossômica da espécie *Pithecia irrorata* (Cebidae-Primaates) por citogenética clássica e molecular".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2004-2006) "Filogenia cromossômica da subfamília Pithecinae (Platyrrhini – Primates) por citogenética clássica e pintura cromossômica".

4. Luis Reginaldo Ribeiro Rodrigues

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (1999-2006) "Estudos citogenéticos por bandeamentos e pintura cromossômica (ZOO-FISH) em Callicebus (Platyrrhini, Primaates)".

15B) Alunos orientados no projeto Quiróptera:

1. Luis Reginaldo Ribeiro Rodrigues:

TCC (1995) "Estudo citogenético em Artibeus Lituratus (Chiroptera – Phyllostomidae).

Mestrado em Ciências Biológicas (1996-1998) "Relações cromossômicas em quarto espécies de morcegos neotropicais da família Phyllostomidae (Chiroptera – Mammalia)".

2. Adailton Moreira da Silva:

TCC (1998) "Estudo citogenético em *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera-Phyllostomidae) em comparação com *A. lituratus* da Amazônia brasileira".

3. Ana Carolina Barata das Neves:

TCC (1999) "Estudos citogenéticos em *Choeroniscus minor* (Glossophaginae, Phyllostomidae, Microchiroptera) da Amazônia Brasileira".

15C) Alunos orientados no projeto Peixes:

1. Aline Lira do Nascimento

TCC (2002) "Estudos citogenéticos em *Pterophyllum* cf. *scalare* (Perciformes, Cichlidae) do estado do Pará".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2002-2005) "Estudos citogenéticos em peixes das subfamílias Astronotinae, Geophaginae e Cichlasomatinae (Perciformes, Cichlidae) do Pará

2. Susana Suely Rodrigues Milhomem

TCC (2004) "Estudos citogenéticos comparativos em peixes do gênero Hassar e Opsodoras (Doradidae, Siluriformes) dos Rios Xingu e Jari".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2005-2007) "Estudos cromossômicos em espécies do gênero Gymnotus (Gymnotidae-Gymnotiformes".

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2007-2010) "Variabilidade cromossômica em espécies do gênero Gymnotus (Gymnotidae-Gymnotiformes): primeira abordagem com pintura cromossômica".

3. Roberta Rezende Castro

TCC (2004) "Estudos citogenéticos em uma população de Hypostomus sp. (Siluriformes, Loricariidae) do Rio Xingu".

4. Raquel Pimentel Carneiro

TCC (2007) "Estudos citogenéticos em Eigenmannia sp. (Sternopygidae, Gymnotiformes) do estado do Pará".

5. Danillo dos Santos Silva

TCC (2007) "Estudos cromossômicos em duas populações de peixes elétricos da espécie Sternopygus macrurus".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2007-2009) "Estudos cromossomos nas espécies *Sternopygus macrurus* e *Eigenmannia virescens* da família Sternopygidae (Gymnotiformes, Pisces)".

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2009-2015) "Evolução cromossômica no gênero *Eigenmannia*: descrição de espécies e evolução dos cromossomos sexuais".

6. Fernando Henrique Ramos Silva

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2009-2012) "Estudos citogenéticos em três espécies da família Apteronotidae (Gymnotiformes)".

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2013 em andamento) "Estudo por pintura cromossômica em espécies do gênero Gymnotus (Gymnotiformes)".

7. Adauto Lima Cardoso

TCC (2010) "Caracterização cromossômica de duas espécies do gênero Steatogenys (Gymnotiformes: Rhamphichthyoidea: Steatogenini) da bacia Amazônica: cromossomos sexuais e correlações com as filogenias dos Gymnotiformes.

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2011-2013) "Diversidade cariotípica em uma assembleia do gênero *Brachyhypopomus* Mago-Lecia 1994 (Gymnotiformes: Hypopomidae) da Amazônia Central".

8. Jéssica Almeida Batista

TCC (2013) "Estudos cromossômicos em *Microsternarchus bilineatus* (Gymnotiformes: Hypopomidae) sugerem a existência de novas espécies".

9. Inaê Cristina Guerreiro Pinto Barroso

TCC (2014) "Elevado número diploide na ordem Gymnotiformes: primeira descrição citogenética do gênero Rhabdolichops (Sternopygidae).

10. Milla de Andrade Machado

TCC (2014) "Análise citogenética de Gymnotus coatesi (La Monte, 1935) (Gymnotiformes).

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2015 – em andamento) "Mapeamento genômico comparativo de Gymnotus coatesi com sondas de Gymnotus carapo (Gymnotidae, Gymnotiformes".

15D) Alunos orientados no projeto Roedor:

1. Nelson Antonio Bailão Ribeiro

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2001-2006) "Análises cromossômicas e filogenéticas em roedores do gênero Proechimys (Echimyidae-Rodentia)".

2. Derik Rodrigo Mesquita de Melo

TCC (2008) "Análises cromossômicas em roedores do gênero *Hylaeamys* (Cricetidae, Sigmodontinae) da região Centro Oeste do Brasil".

3. Celina Coelho da Rosa

TCC (2008) "Estudos citogenéticos em espécies do gênero *Oecomys* (Rodentia: Cricetidae) do Parque Ambiental de Belém".

Mestrado em Neurociências e Biologia Molecular (2009-2011) "Estudos citogenéticos em roedores do gênero *Oecomys* (Rodentia: Cricetidae) da região estuarina do Rio Amazonas".

Doutorado em Neurociências e Biologia Molecular (2011-2015) "Caracterização cromossômica e mapeamento genômico comparativo de *Oecomys paricola* e *Oecomys auyantepui* com sondas de *Hylaeamys megacephalus* (Cricetidae – Sigmodontinae)".

4. Jamilly Amaral Pinto

TCC (2008) "Análise citognética em espécies do gênero Holochilus (Rodentia: Cricetidae) da Fazenda Tanguro – Mato Grosso".

Mestrado em Neurociências e Biologia Molecular (2009-2013) "Análise citogenética de espécies do gênero *Hylaeamys* (Rodentia: Cricetidae) por citogenética clássica e molecular".

Doutorado em Neurociências e Biologia Molecular (2013- em andamento) "Mapeamento genômico comparativo de espécies do gênero *Oligoryzomys* com sondas de *Hylaeamys megacephalus* (Sigmodontinae, Cricetidae)".

5. Adenilson Leão Pereira

TCC (2010) "Análise citogenética em roedores da região Amazônica pertencentes ao gênero *Makalata* (Echimydae, Hystricognathi) por citogenética clássica e molecular".

6. Stella Miranda Malcher

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2011-2013) "Oecomys *catherinae* (Cricetidae, Sigmodontinae): caracterização cromossômica e mapeamento genômico comparativo com sondas de *Hylaeamys megacephalus*".

Doutorado em Neurociência e Biologia Celular (2013- em andamento) "Diversidade cromossômica no gênero *Cerradomys* (Sigmodontinae, Cricetidae) demonstrada por pintura cromossômica".

7. Willam Oliveira da Silva

TCC (2012) "Estudos cromossômicos no gênero *Neacomys* (Rodentia, Sigmodontinae) por citogenética clássica e molecular".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2012-2014) "Evolução cromossômica do gênero *Neacomys* (Cricetidae, Sigmodontinae) da Amazônia Oriental brasileira".

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2014- em andamento) "Evolução cromossômica em roedores da subfamília Sigmodontinae (Rodentia, Cricetidae)".

8. Marlyson Jeremias Rodrigues da Costa

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2012-2014) "Estruturação biogeográfica dos cariótipos de Proechimys goeldii (Rodentia: Echimyidae) na Amazônia Oriental".

Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede Bionorte (2014em andamento) "Distribuição biogeográfica e evolução cariotípica de roedores do gênero Proechimys pertencentes aos grupos goeldii e longicaudatus (Rodentia: Echimyidae)".

9. Vergiana dos Santos Paixão

TCC (2014) "Caracterização cariotípica de Rhipidomys emiliae Alln, 1916 (Rodentia, Sigmodontinae) por citogenética clássica e mapeamento genômico com sondas de Hylaeamys megacephalus".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2014- em andamento) "Mapeamento genômico comparativo entre *Rhipidomys emiliae* e *Rhipidomys mastacalis* (Rodentia, Cricetidae) evidenciada por Zoo-FISH".

15E) Alunos orientados no projeto Mutagênese:

1. Karina Motta Melo

TCC (2010) "Formação espontânea de micronúcleos em peixes elétricos da região Amazônica".

Mestrado em Genética e Biologia Molecular (2011-2013) "Avaliação do efeito tóxico, genotóxico e mutagênico da rotenona usando duas espécies de peixes como organismo teste".

Doutorado em Genética e Biologia Molecular (2013- em andamento) "Análise do perfil toxicológico e investigação do potencial protetor do óleo e nanoemulsão de andiroba em camundongos da linhagem Swiss".

15F) Alunos orientados no projeto Cancer:

1. Carlos Eduardo Matos Carvalho Bastos

Doutorado em Neurociência e Biologia Celular (2008-2013) "Alterações genéticas e epigenéticas em meningiomas na população paraense".

Pos-Doutorado PNPD/CAPES vinculado ao curso de pós-graduação em Neurociência e Biologia Celular (2014- em andamento) com a parte científica sendo desenvolvido no projeto Pró-Amazônia "Biodiversidade, Inovação & Aplicabilidade: estudos de variabilidade genética, do perfil metabólico e investigação sistemática de atividades biológicas e sistemas de nanoemulsão da andiroba (*Carapa* sp.)"

16) Perspectivas futuras

A pintura cromossômica utilizando sondas cromossômicas tem permitido um grande avanço no estudo da evolução cromossômica. O mapeamento genômico comparativo dos cariótipos das diferentes espécies permite localizar os blocos sintênicos conservados e os rearranjos cromossômicos diferenciando os cariótipos das espécies, o que permite uma análise ampla da reorganização genômica. Os resultados desses estudos têm

Cleusa Yoshiko Nagamachi - Memorial Acadêmico 1975-2016

permitido fazer filogenias cromossômicas com mais certeza da identificação das homeologias do que se tem apenas pela análise comparativa dos padrões de bandas.

Com o avanço da genética molecular e o sequenciamento genômico e, atualmente, sendo possível fazer o Sequenciamento de Nova Geração (NGS), acredito que a citogenética caminha para esta intersecção: análise dos genomas sequenciados (NGS) através da bioinformática e a busca de sequencias de interesse, por exemplo, sequencias de elementos transponíveis (transposons e retrotransposons) e sua distribuição nos genomas das espécies. Comparar os resultados desta análise com o dados de pintura cromossômica para verificar se há alguma correlação com os pontos de quebra e reorganização genômica.

Estamos dando os primeiros passos neste sentido, com a aprovação, pela CAPES (Edital 047/2012 Pró-Amazônia: Biodiversidade e Sustentabilidade) do nosso projeto (sob minha coordenação) "Estudos citogenéticos e citogenômicos da biodiversidade da Amazônia, com implementação de avanços técnicos".

Esperamos conseguir avançar, nos próximos anos, nesta nova era da citogenética, a era da Citogenômica, com análise, pela bioinformática, dos genomas sequenciados por NGS e sua aplicabilidade nos estudos dos cromossomos.

AGRADECIMENTOS

Quando a gente tenta se lembrar da vida pregressa, a gente se dá conta de que existem muitas pessoas que fizeram e/ou fazem parte da nossa vida e que foram cruciais para chegarmos onde chegamos. Agradeço a todas as pessoas que, de alguma forma contribuíram para eu chegar até aqui. Vou deixar destacado aqui algumas pessoas que foram mais marcantes para esta caminhada na minha vida profissional e pessoal.

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais (*in memoriam*), Shizue e Massahiro, e meus irmãos Luis, João, Nelson (*in memoriam*), Antonio e Aparecida, por toda afetividade, carinho, brigas e incentivos. Sou muito grata a todos vocês, em especial à minha querida mãezinha que deu a vida pelos filhos, que sempre me incentivou a crescer como pessoa, como profissional, me fez lutar para ser uma pessoa independente.

Ao Julio, meu companheiro de luta, por partilhar uma vida inteira comigo, tanto profissional como pessoal.

À dona Lucila Pieczarka (*in memoriam*) e a tudo que ela representa, por toda amizade, carinho de mãe (minha segunda mãe), conselhos e incentivos.

À minha filhinha Natália, por todo carinho, por me trazer muitas alegrias, me fazer crescer, me tornar uma pessoa melhor e me fazer enxergar o mundo com outros olhos.

À minha amiga Luiza Nakayama, por ter vindo morar em Belém e fazer parte da nossa família, junto com sua filha Moana Luri de Almeida.

À Moana, por ter se tornado a minha filha do coração, pelo carinho, paciência e amor de filha.

Ao Dr. Horácio Schneider (representando os professores do Depto. de Genética na época) pela oportunidade de vir a Belém junto com o Julio, me mantendo com uma bolsa DCR e por conseguir minha contratação na UFPa. Sem esta oportunidade esta história não estaria sendo contada desta maneira. Muito obrigada.

Aos meus orientadores durante minha formação acadêmica, Dr. Lucio Antonio de Oliveira Campus, Dra. Iris Ferrari e Dra. Margarete Sune Mattevi (*in memoriam*) por seus ensinamentos e me conduzirem para o caminho da pesquisa.

Ao Dr. Malcolm Ferguson-Smith por abrir as portas para a concretização do sonho da pesquisa com Pintura Cromossômica da nossa biodiversidade, por sua postura sempre honrosa e ética, pelos ensinamentos e todas as oportunidades de pesquisa em colaboração.

À Patricia O'Brien, maior especialista em produzir sondas por Citometria de Fluxo, pelas sondas da nossa biodiversidade para pesquisas colaborativas.

Ao Dr. Fengtang Yang, maior especialista em Pintura Cromossômica, por sempre estar disposto a tirar nossas dúvidas, repassar o conhecimento, por toda sua amizade e parceria de pesquisa.

Ao casal de professores, Marucia e Claudio Amorim, pelo apoio e incentivo para vir a Belém, oferecendo a casa dos pais do Claudio (Sr. João e Sra. Leonice) para nos receber e hospedar durante o período do concurso e os período inicial da nossa vida aqui em Belém.

Cleusa Yoshiko Nagamachi - Memorial Acadêmico 1975-2016

Ao Sr. João (*in memoriam*) e Sra. Leonice por ter nos recebido na casa de vocês durante o concurso e também, durante o período inicial na nossa vida em Belém.

À Professora Dra. Regina Barros, pela amizade e parceria nas pesquisas, por toda colaboração e ensinamento.

À Professora Fátima Assis, pela amizade e convivência agradável no dia a dia do laboratório, pelas colaborações e pelo treinamento do Jorge na cultura celular.

Ao Mestre Jorge Rissino, por ter assumido o laboratório de cultura e o banco de células; por todo empenho e dedicação à pesquisa do grupo.

À Sra. Maria da Conceição Pinheiro Mandú, por ser a mãe de todos no laboratório, por manter o funcionamento das coisas básicas na bancada.

À Shirley Ferreira do Nascimento por estar nos auxiliando no preparo dos reagentes e organização do Laboratório desde 2009.

A todos os colegas de pesquisa que, em colaboração, temos conseguido produzir bons trabalhos.

A todos os alunos do laboratório de citogenética, antigos e atuais, que fizeram ou fazem parte da minha vida acadêmica, contribuindo para o andamento da pesquisa e para o crescimento do grupo.

Por fim, agradeço a todos os órgãos de fomento à pesquisa por apoiar nossos projetos para que pudéssemos construir nossa história de pesquisa: CNPq, CAPES, FINEP, FAPESPA, BNDES. Em especial, agradeço ao CNPq por sempre me apoiar com a bolsa de Pesquisa durante toda minha carreira científica.