

Estudos Citogenéticos na
Família Fringillidae
(Passeriformes: Aves)

Mônica Waléria Pinto de Carvalho

Porto Alegre

1989

Estudos Citogenéticos na Família
Fringillidae (Passeriformes: Aves)

Mônica Waléria Pinto de Carvalho

Dissertação apresentada ao curso
de Pós-Graduação em Genética da
Universidade Federal do Rio Grande
do Sul, para obtenção do grau de
mestre em Genética.

Orientador: Dr. Bernardo Erdtmann

Porto Alegre
1989

*Dedico aos meus pais e irmãos, e a
memória de Isabel L. Pinto; pela maneira
compreensiva e amorosa com que sempre me
apoiaram.*

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Bernardo Erdtmann, pela participação constante em todas as etapas deste trabalho, pela confiança, pelo incentivo, e por fim, pela orientação e amizade que muito contribuíram para minha formação profissional.

À Dr^a Margarete S. Mattevi, pelo tempo e atenção dispendidos em responder às minhas dúvidas sempre que solicitada, pelos conselhos prestados, e pela maneira compreensiva e carinhosa que sempre me recebeu.

Ao Dr. Edmundo J. de Lucca, pelas sugestões e colaboração indireta. Agradeço também aos seus orientados: Guaracy T. Rocha e Edislane B. Souza, pela concessão dos dados de suas dissertações de mestrado.

Ao Dr. Marcelo dos S. Guerra Filho, pela colaboração, estímulo e apoio, mas, principalmente, pela amizade e preocupação em formar e acompanhar seus orientados.

Ao Professor Walter A. Voss, pelo auxílio na identificação das aves.

À Dr^a Miriam L. Giannoni, pelas informações concedidas.

Ao Professor Thales Renato O. de Freitas, pela amizade, e pelos conselhos durante a parte experimental.

Ao Luciano de S. Silva, pela amizade e boa vontade com que sempre realizou os serviços técnicos laboratoriais, os quais possibilitaram a execução tanto da parte experimental, quanto da reprodução das fotografias.

Ao Elmo J. A. Cardoso, pela versão para o inglês do sumário e conclusões.

À Maria Cristina P. de Araújo, pela amizade profunda, pela colaboração em algumas coletas, pelas inúmeras vezes que leu os manuscritos, pelas críticas e sugestões, e principalmente, pela paciência e compreensão com que me suportou durante o período de dissertação.

Ao Nilson Ivo T. Zanchin, pelo apoio durante o período de adaptação ao laboratório, pelo auxílio em algumas coletas, pela leitura parcial do texto, pelas críticas e sugestões, e sobretudo pela amizade.

À Jane Mary L. Neves pelos vários anos de cooperação, apoio e amizade.

À Laurene Liesenfeld e Leticia L. Erdtmann, pelo auxílio durante as coletas realizadas em Viamão, e pelo agradável convívio no decorrer destes anos. À Leticia, agradeço também a taxidermia de alguns exemplares.

À Denise M. Moreira e Loreta B. Freitas, pela amizade, pelo auxílio na utilização do computador, e pela preocupação em resolver alguns problemas referentes à impressão do texto; pelo que também sou grata ao Sandro L. Bonato e a Dr^a Tânia A. Weimer.

Ao Sr. Ernani Liesenfeld, Sr. Carlitos Schuck e família, aos moradores de três Barras, e ao Sr. Bento Gonçalves e família (especialmente ao Henry Gonçalves); por terem tornado possível e agradável as coletas de Aratiba e Bagé.

Ao Sérgio Mendes, do Museu Mello Leitão (St^a Tereza-ES), pela colaboração na captura dos exemplares de Cachoeiro do Itapemerim-ES.

Finalmente agradeço ainda, pelos mais variados motivos a : Dr. Aldo M. de Araújo, Alexandre U. Christoff, Carla C. de Oliveira, Daniela Calcagnotto, Elisete Pedrollo, Elizabeth de C. Castro, Dr^a Helga Winge, Inês de L. Nascimento, Juliana da Silva, João Luiz X. do Nascimento, Jorge Luiz B. Albuquerque, José F. dos Santos, Luiz Maurício da Silva, Dr^a Maria Helena L. P. Franco, Maria Julia V. Solana, Maria del Rosario B. Gutierrez, Paulo de Tarso Z. Antas, Rejane M. Peixoto, Severino M. de Azevedo Junior, Dr^a Rosilda dos S. Silva, e a Dr^a Vera L. V. Gaiesty.

Este trabalho foi subvencionado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Organização dos Estados Americanos (OEA), tendo o CNPq concedido também bolsa de mestrado.

Í N D I C E

1	- INTRODUÇÃO	1
1.1	- Histórico	1
1.2	- Taxonomia dos Passeriformes	4
1.3	- Citogenética de aves	12
1.3.1	- Polimorfismo cromossômico em aves	21
1.4	- Objetivos	26
2	- MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1	- Procedimento de coleta	27
2.2	- Locais de coleta	27
2.3	- Amostra	30
2.4	- Caracterização das espécies estudadas	32
2.5	- Preparação da medula óssea para obtenção de metáfases	42
2.6	- Coloração	44
2.7	- Região organizadora do nucléolo	44
2.8	- Coloração com fluorocromos CMA (cromomicina A) e DAPI (diaminophenilindol)	45
2.9	- Análise cromossômica	46
2.10	- Fotomicrografias	47
3	- RESULTADOS	48
3.1	- Avaliação geral e comparada	48
3.2	- Avaliação das espécies	53
3.2.1	- Molothrus bonariensis	53
3.2.2	- Basileuterus leucoblepharus	53

3.2.3	- <i>Passerina brissonii</i>	56
3.2.4	- <i>Tangara preciosa</i>	56
3.2.5	- <i>Thraupis bonariensis</i>	59
3.2.6	- <i>Thraupis sayaca</i>	59
3.2.7	- <i>Paroaria coronata</i>	63
3.2.8	- <i>Haplospisa unicolor</i>	63
3.2.9	- <i>Emberizoides herbicola</i>	66
3.2.10	- <i>Sicalis flaveola</i>	68
3.2.11	- <i>Sporophila caerulescens</i>	68
3.2.12	- <i>Zonotrichia capensis</i>	72
3.2.12.1	- Análise dos cariótipos e polimorfismo	72
3.2.12.2	- Região organizadora do nucléolo	88
3.2.12.3	- Coloração com fluorocromos..	88
4	- DISCUSSÃO	92
4.1	- Comparação geral dos cariótipos estudados	92
4.2	- Avaliação cromossômica em <i>Zonotrichia capensis</i> .	100
5	- RESUMO E CONCLUSÕES	112
6	- SUMMARY AND CONCLUSIONS	116
7	- BIBLIOGRAFIA	120

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Histórico

A primeira referência relacionada a estudos cromossômicos em aves foi publicada em 1902 por Guyer, sobre dois Columbiformes (De Boer, 1984). Não obstante, ainda hoje a citogenética de aves pode ser considerada como um campo relativamente novo, pois, desde aquela época até a década de 50, o número de trabalhos desenvolvidos nesta área foi muito reduzido. Segundo De Boer (1984), foram realizados até 1950 cerca de 55 trabalhos descrevendo o cariótipo de 107 espécies de aves. Contudo, as análises cromossômicas eram feitas em células meióticas, provenientes de cortes histológicos de tecido gonadal. Estes dados, apesar de preciosos, deram margem a algumas interpretações errôneas, tanto em relação ao número diplóide, quanto à morfologia cromossômica das espécies analisadas.

A partir do final da década de 50, a fim de se obterem melhores placas metafásicas, começaram a ser desenvolvidas técnicas citogenéticas mais avançadas. Técnicas estas que utilizam células de medula óssea, bulbo de pena, cultura de tecido, cultura de leucócitos e tecido embrionário, tratadas com colchicina e solução hipotônica (Giannoni e cols., 1986).

Mesmo com o advento das técnicas mais modernas para

obtenção de cromossomos metafásicos, ainda é muito pequena a percentagem de aves analisadas citogeneticamente. Do total estimado de 9020 espécies de aves do mundo, foram cariotipadas apenas cerca de 650 (Rocha, 1987). Destas, a maioria foi cariotipada nos últimos 10 anos e, apesar disto, os cariétipos ainda são descritos com base no exame de apenas um ou dois indivíduos por espécie e, algumas vezes, de sexo desconhecido. Esta reduzida percentagem de aves analisadas é, provavelmente, devida tanto às dificuldades na análise cromossômica, decorrentes do alto número diplóide e da presença dos microcromossomos, quanto à dificuldade em se coletar o material, tendo em vista a capacidade de voo. Um outro fator que contribui igualmente com este baixo índice é o reduzido número de pesquisadores que desenvolvem trabalho nesta área.

A caracterização cromossômica das espécies foi durante muito tempo feita com base nos resultados obtidos por coloração convencional (Giemsa e orceína), ou seja, no número cromossômico, tamanho e posição do centrômero. A partir de 1969, o desenvolvimento das técnicas de bandeamento cromossômico abriu novas perspectivas para as pesquisas em citogenética permitindo uma melhor diferenciação dos cromossomos e, conseqüentemente, a detecção das homologias cromossômicas, dos rearranjos e das variações que ocorrem ao nível inter e intra-específico. Estas técnicas, amplamente utilizadas nos vertebrados, particularmente nos mamíferos, têm permitido um estudo mais preciso dos cromossomos, possibilitado a interpretação dos vários tipos de rearranjos

cromossômicos e facilitado a comparação dos cariótipos, ajudando a esclarecer, desta forma, as relações filogenéticas e evolutivas entre espécies afins.

O primeiro trabalho utilizando técnica de bandeamento em aves foi realizado por Stefos e Arrighi (1971), as quais analisaram o padrão de distribuição de heterocromatina em sete espécies de aves domésticas. Todavia, são muito poucos os trabalhos de aves que utilizam padrões de bandas. Pela revisão de De Boer (1984), em apenas 15% das espécies de aves analisadas citogeneticamente foi aplicada esta metodologia. Segundo Carlenius e cols. (1981), mesmo na galinha doméstica, *Gallus domesticus*, a espécie de ave mais comum e mais estudada genética e citogeneticamente, são poucos os trabalhos de bandeamento que têm sido publicados. Isto se deve, provavelmente, ao fato destas técnicas ainda não estarem perfeitamente ajustadas para serem aplicadas aos cromossomos das aves, o que pode ser comprovado pelo percentual de cariótipos que são descritos e comparados apenas com técnicas citogenéticas convencionais e pela qualidade dos resultados obtidos quando se utiliza metodologia de bandeamento.

As dificuldades na utilização das técnicas de bandeamento têm reduzido a possibilidade de uma avaliação mais acurada das alterações estruturais em cromossomos de aves. Além disto, a detecção do número exato de microcromossomos e sua variação intra e inter-específica é, no momento, praticamente inviável. Conseqüentemente, tanto a determinação de possíveis homologias entre cromossomos de

diferentes espécies de aves, quanto à detecção de aneuploidias, ficam restritas, basicamente, aos macrocromossomos.

Na classe Aves, todos estes fatores impedem, ainda, uma avaliação do papel dos polimorfismos cromossômicos para evolução deste grupo. Das aproximadamente 650 espécies de aves estudadas citogeneticamente até o momento, foi descrita variabilidade polimórfica em apenas 22, pertencentes a nove ordens, sendo 14 da Ordem Passeriformes (Giannoni, 1986).

1.2 - Taxonomia dos Passeriformes

A classe Aves apresenta duas subclasses: Archaeornithes, representada pelas aves ancestrais; e Neornithes, pelas aves atuais, sendo que esta apresenta também alguns representantes fósseis do Cretáceo. As aves atuais são comumente divididas em 2 grandes grupos, os **Passeres** (ordem Passeriformes), e os **Non-passeres** (as demais ordens da classe). Os pássaros propriamente ditos são as aves que os ornitólogos classificam dentro da ordem Passeriformes, cuja taxonomia é da maior dificuldade, visto ser a morfologia desses animais pouco diferenciada em comparação com as famílias e ordens dos **Non-passeres**.

Segundo Sick (1985a), cerca de 5.100 das 9.020 espécies de aves existentes no mundo são representantes da ordem Passeriformes, constituindo assim a ordem mais numerosa

dentro da classe. Esta categoria taxonômica apresenta duas subordens, a Suboscines e a Oscines, organizadas sobretudo pela estrutura da siringe. A siringe dos primeiros é mais simples, possuindo de dois a quatro pares de músculos siringeais, enquanto que a do outro grupo é mais complexa, com seis a nove pares de músculos, sendo geralmente observados sete. Entretanto, esta diferença na complexidade da siringe não implica que a vocalização dos Oscines (frequentemente designados como aves canoras), seja superior a dos Suboscines.

Das 5.100 aves pertencentes a ordem Passeriformes, a subordem Oscines abarca com aproximadamente 4.000 espécies, cerca da metade das aves vivas da terra, enquanto a subordem Suboscines é composta apenas por 1.100 espécies. No Brasil, ao contrário, os Suboscines são melhores representados do que os Oscines, com 560 e 320 espécies, respectivamente (Sick, 1985a). O número de famílias registrado para esta ordem é bastante variável, pois, há uma série de dúvidas sobre a delimitação de algumas, cuja posição sistemática é muito próxima.

A taxonomia na classe Aves baseou-se inicialmente na morfologia e anatomia comparada. Atualmente, entretanto, tem sido dada uma atenção maior aos estudos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos. Apartir destes estudos, foram desenvolvidas técnicas para se determinar a filogenia das aves. Estudos filogenéticos bem como evolutivos, utilizando dados de imunologia (Prager e cols., 1974), de citogenética (Lucca, 1980; Barrowclough e Shields, 1984; Christidis,

1986), do conteúdo de DNA (Bachmann e cols., 1972; Venturini e cols., 1986), estudos da variabilidade protéica (Matson, 1984; Mindell e Sites, 1987), hibridação DNA-DNA (Sibley e Ahlquist, 1983 e 1986; Bledsoe, 1987; Houde, 1987; Sibley e cols., 1988), da variabilidade do DNA mitocondrial (Shields e Helm-Bychowski, 1988), de segmentos de DNA hipervariável- "DNA fingerprints" (Metton e cols., 1987; Burke e Bruford, 1987; Hill, 1987), ou mesmo os polimorfismos dos fragmentos de restrição (RFLP) de DNA (Arctander, 1988), têm contribuído para que se estabeleçam melhor as reais inter-relações filogenéticas das aves.

Dentre estas novas técnicas, talvez a do DNA mitocondrial (mtDNA) possa dar uma das melhores contribuições para o esclarecimento da estrutura das populações e da história evolutiva das aves. O mtDNA apresenta algumas características que o torna muito interessante para o estudo de genética de populações, tais como: a) haploidia, portanto não apresenta recombinação; b) herança exclusivamente pelo lado materno; c) as diferenças entre os mtDNAs são devidas exclusivamente a mutações; d) a maioria das mutações são neutras e o fato de que este DNA acumula cinco a dez vezes mais mutações, evolutivamente, que outros DNAs nucleares de cadeia simples (Shields e Helm-Bychowski, 1988). O interesse na análise desta molécula, dentro desta classe, tem aumentado consideravelmente e vários estudos têm sido realizados com o DNA mitocondrial de aves (Kessler e Avise, 1984 e 1985; Watanabe e cols., 1985; Mack e cols., 1986; Shields e Wilson, 1987 a e b; Shields e

Helm-Bychowski, 1988).

Sem os detalhes dos estudos moleculares, as observações ao nível cromossômico tornam-se superficiais. Cariótipos semelhantes podem ser encontrados em espécies que, por outros critérios, são consideradas como pertencentes a distintos gêneros e famílias. Conseqüentemente, o grau de semelhança ou diferença cariotípica pode ou não refletir diretamente a relação filogenética. A diferença entre dois indivíduos em termos de número e forma dos cromossomos não justifica necessariamente a conclusão de que devam ser considerados como espécies separadas ou subespécies. Os dados citogenéticos, no entanto, devem completar, suplementar ou talvez ocasionalmente corrigir as conclusões derivadas dos estudos clássicos de morfologia e anatomia, levando em conta as peculiaridades de cada grupo taxonômico. Estudos como o de Prum (1988), que comparou dados de hibridação DNA-DNA com dados morfológicos entre espécies das famílias Capitonidae e Ramphastidae para propor uma nova classificação, são ainda raros.

É necessário, pois, que se coordenem os estudos de anatomia e morfologia, com os estudos cromossômicos, moleculares e de populações. Lande (1979), por exemplo, aplicando dados de citogenética à genética de populações mostrou, que estimativas do tamanho do deme em aves podem ser obtidas a partir de informações sobre taxas de fixação das mudanças cromossômicas. Entretanto, estudos detalhados de populações são necessários a fim de que se possa avaliar o verdadeiro alcance da variabilidade cromossômica intra e

inter-específica.

Não obstante ao rápido avanço em termos de técnicas úteis à taxonomia e as investigações obtidas já terem adicionado muito ao entendimento das aves, até o momento, não tem sido possível se obter a necessária estabilidade taxonômica nesta classe. Em boa parte, isto se deve ao uso ainda muito restrito destas novas metodologias, o que nos leva a crer que muitas observações importantes estão ainda por serem feitas. A capacidade informativa da citogenética de aves poderá ser melhorada com o aperfeiçoamento das técnicas de bandeamento cromossômico, as quais permitem evidenciar variações de diferentes ordens na estrutura e composição dos cromossomos, técnicas estas já freqüentemente aplicadas à citogenética de mamíferos.

A citogenética de aves apresenta um complicador, os microcromossomos, os quais são pouco informativos quanto à morfologia e ao número. Nem por isso os microcromossomos deixam de ter papel importante, pois, podem comportar até mais de 50% do DNA, geralmente são portadores das regiões organizadoras do nucléolo, e apresentam heterocromatinização em tipo (A-T ou C-G) e em percentagem variada. Uma técnica recentemente desenvolvida e ainda em fase de ajustamentos, a eletroforese de pulso, permite a separação de moléculas de DNA de cromossomos inteiros, fornecendo informações sobre o tamanho e número dos cromossomos, além de fornecer o cromossomo separado para análises posteriores (Smith e Cantor, 1987). Esta técnica já foi aplicada com sucesso em vários organismos, tais como: *Plasmodium falciparum* (Van der

Ploeg e cols., 1985), **Leishmania** (Giannini e cols., 1986) e **Saccharomyces** (Bancroft e Wolk, 1988). Muito embora esta metodologia ainda não tenha sido aplicada a microcromossomos de aves, répteis ou peixes, segundo Cantor (Comunicação Pessoal), provavelmente ela poderá dar enorme contribuição para completar os estudos citogenéticos de espécies que apresentam microcromossomos. De acordo com Birren e cols. (1988) é possível separar moléculas de DNA de 2 a 3 Mb (Mb = Megabases = 1.000.000 pares de bases). Considerando que o genótipo haplóide das aves tem cerca de 1×10^9 pb (pares de base) (Quinn e White, 1987), e metade está contida nos macrocromossomos, é provável que se possa identificar boa parte, senão todos os microcromossomos pelo tamanho de sua molécula.

São vários os grupos de aves polêmicos com relação à taxonomia. Dentre os Passeriformes, destaca-se um grupo da subordem Oscines, frequentemente denominado de **Passeres novempennatae** por apresentar a décima primária (pena mais externa da asa) rudimentar, constituindo-se numa pena pequenina e rígida. Entre os representantes mais citados está a "American nine-primaried assembly", composta por Icterídeos, Parulídeos, Coerebídeos, Thraupídeos, Cardinalíneos e Emberizídeos, alguns dos quais foram cariotipados neste trabalho. Segundo Sick (1985a), trata-se de um complexo composto possível de ser reunido numa só família ou dividido em várias famílias e subfamílias, cuja delimitação exata encontra dificuldades, visto serem observadas convergências e exceções na morfologia. Isto se

torna ainda mais patente pelos vários registros de cruzamentos "interfamiliares" e intergenéricos existentes neste grupo (Dickerman, 1961; Short & Simon, 1965; Sick, 1985a).

Zink (1982), analisando a variação gênica e da morfologia do esqueleto, examinou a relação filogenética de dez espécies de *Passeres novepennatae* pertencentes aos gêneros *Zonotrichia*, *Melospiza*, *Junco* e *Passarella*. Segundo este autor, os grupamentos fenéticos dos taxa não são congruentes nem com a taxonomia tradicional, nem com a análise gênica, mas esta última produz uma melhor estimativa da história filogenética do que a análise da morfologia.

Sibley (1967) mostrou que é virtualmente impossível distinguir eletroforeticamente, através das ovoalbuminas, representantes da "American nine-primaryed assembly" (Parulídeos, Thraupídeos, Icterídeos, Cardinalíneos e Carduelíneos). Uma análise da variação eletroforética em um grande número de enzimas em várias espécies de chopins (Icteridae), Cardinalíneos e Parulídeos, reforçaram esta conclusão (Selander, 1971). Além da falta de elementos conclusivos, a apresentação de um sistema linear torna-se pouco precisa, já que os laços de parentescos são tridimensionais.

Através dos anos, várias classificações têm sido publicadas, mas muitas destas consistem de pouco mais do que uma lista linear de taxa ao nível de família, e como tais, relações filogenéticas não são expressas. Na Tabela 1.1, encontram-se algumas classificações parciais, adotadas e

TABELA 1.1 - Classificações parciais propostas e adotadas por diferentes autores para alguns taxa da Ordem Passeriformes (Classe Aves)

AUTORES	SUBORDEM	SUPERFAMILIA	FAMILIA	SUBFAMILIA	TRIBO
STORER (1971)			Emberizidae** Parulidae Icteridae		
RUSCHI (1979) e FRISCH (1981)			Fringillidae* Thraupidae Parulidae Icteridae		
CRACRAFT (1981)	Passeres	Emberizoidea	Emberizidae Thraupidae Parulidae	Emberizinae Cardinalinae	Emberizini Icterini
SCHAUENSEE (1982) e SICK (1985b)			Fringillidae Thraupidae Parulidae Icteridae	Emberizinae Cardinalinae	
ROBBINS e cols. (1983)			Emberizidae	Emberizinae Cardinalinae Thraupinae Parulinae Icterinae	
De BOER (1984) e VOSS (1987)			Emberizidae Parulidae Icteridae	Emberizinae Cardinalinae Thraupinae	
SIBLEY e cols. (1986)	Passeri	Passeroidea	Fringillidae	Emberizinae	Emberizini Cardinalini Thraupini Parulini Icterini

* = Inclui os Emberizídeos e Cardinalíneos, ** = Inclui os Thraupíneos e Cardinalíneos

propostas por diferentes autores com relação ao grupo dos "American nine primaried", e como pode ser visto, as relações filogenéticas são pobremente entendidas. Contudo, as classificações propostas por Cracraft (1981) e Sibley e cols. (1988), expostas na Tabela 1.1, são os resultados de tentativas de uma classificação filogenética, onde foram introduzidos níveis de categorias adicionais (divisões) que não são encontradas nas demais classificações. Isto se deve provavelmente ao fato das classificações filogenéticas incorporarem uma maior quantidade de informações e, conseqüentemente, serem mais complexas do que as classificações tradicionais. No presente trabalho, adotamos a classificação proposta por Sibley e cols (1988).

1.3 - Citogenética de aves

Nas aves, a heterogametia da fêmea é regra geral, havendo cromossomos sexuais bem diferenciados, cujo sistema de determinação sexual é do tipo ZZ:ZW. Os machos apresentam além dos autossomos, dois cromossomos Z e as fêmeas um cromossomo Z e um W. Geralmente, o cromossomo sexual Z corresponde em tamanho ao 49 ou 59 par cromossômico e o W, via de regra, é um dos menores macrocromossomos ou mesmo um microcromossomo, o que torna difícil sua identificação apenas por coloração convencional. Em alguns estudos o sexo do indivíduo cariotipado é desconhecido, e a simples presença de um macrocromossomo ímpar é usada para supostamente

identificar o indivíduo como sendo do sexo feminino (Shields, 1987).

As Ratitas, grupo de aves que abrange as emas e avestruzes e que conta atualmente com apenas cinco espécies distribuídas em três continentes (América do Sul, África e Oceania) pareciam ser, até o momento, o único grupo de aves sem cromossomos sexuais claramente distintos. Porém, uma leve, mas consistente, diferença já havia sido observada no comprimento dos cromossomos homólogos do par 4 de fêmeas destas espécies, enquanto que nos machos, os homólogos deste mesmo par pareciam ser idênticos (Takagi e cols., 1972; Takagi e Sasaki, 1974; de Boer, 1980). De acordo com Shields (1987) é possível que o cromossomo Z e W das Ratitas tenham permanecido num estágio inicial de diferenciação morfológica. Isto praticamente foi confirmado por Ansari e cols. (1989), que analisaram três espécies de Ratitas: **Dromaius novaehollandiae**, **Rhea americana** e **Pterocnemia pennata** e em todas foi possível uma diferenciação entre os cromossomos sexuais. Estes autores observaram que o cromossomo W destas espécies correspondia, aparentemente, a maior parte do braço longo do cromossomo Z, o que foi corroborado por uma forte homologia dos padrões de bandas G e Q. Além disto, foi observado, através de banda C, que o cromossomo W não é heterocromático como se esperava, ao invés disto, ele é totalmente eucromático à semelhança do Z. Conseqüentemente, a única diferença entre os dois cromossomos, até agora relatada, é uma variação no tamanho, a qual levou os autores a concluir que a

heterocromatinização não foi o passo inicial de diferenciação morfológica dos cromossomos sexuais nas Ratitas, mas sim, que a mudança estrutural no W (provavelmente a perda de material genético) seja o primeiro passo neste processo.

O número cromossômico diplóide das aves está, geralmente, ao redor de 80 cromossomos, os quais apresentam uma grande variação de tamanho e são arbitrariamente classificados em macro e microcromossomos. É comum definir os microcromossomos como aqueles cromossomos que não apresentam morfologia claramente reconhecível e medem menos de 1 μ (Shields, 1982). Em alguns grupos, como na família Falconidae, há uma redução do número cromossômico, provavelmente por fusão e/ou translocação dos microcromossomos, onde é possível a identificação inequívoca do número total de cromossomos (Lucca, 1983).

Muito embora outras classes de vertebrados apresentem microcromossomos, a classe Aves é a única em que todas as espécies até agora investigadas apresentam microcromossomos (Shields, 1983). De acordo com este autor, as evidências obtidas, até o momento, sugerem que os microcromossomos das aves são estáveis (tipo A) e não devem ser confundidos com os cromossomos do tipo B, que também podem ser pequenos, instáveis e variáveis, e ocorrem numa variedade de outros organismos. Não obstante, provavelmente, devido às dificuldades na contagem e identificação dos menores microcromossomos, nenhum estudo tem sido direcionado para determinar se existe ou não cromossomos B nas aves.

Shoffner (1974) sugere que a retenção de tantos microcromossomos nos pássaros seja ineficiente porque uma maior quantidade de centrômeros e fibras do fuso acromático são requeridas, o que seria evitado se os cromossomos fossem maiores e em menor número. Entretanto, o autor acredita na possibilidade de que os microcromossomos sejam mantidos porque preservam seletivamente grupos de ligação favoráveis, cuja função pode ser perdida pela união dos microcromossomos.

Tegelström e Rytman (1981) propuseram um cariótipo com 8 pares de macro e 32 pares de microcromossomos como sendo o cariótipo padrão das aves, baseados no fato de que 75% dos 234 cariótipos investigados até então, apresentavam esta distribuição. Segundo estes autores, numa mesma ordem, existe uma correlação negativa entre os dois tipos de cromossomos. Quando o número de macrocromossomos aumenta, o número de microcromossomos diminui e a delimitação entre eles torna-se mais nítida. Esta observação tem servido de suporte para a idéia de que os menores macrocromossomos são originados por translocações Robertsonianas entre os maiores microcromossomos. Outro fato que também corrobora esta idéia é que, geralmente, as espécies de aves que possuem muitos microcromossomos têm maior quantidade de cromossomos telocêntricos do que as que possuem poucos microcromossomos. Entretanto, algumas espécies possuem poucos microcromossomos e a redução no número de microcromossomos parece não ser acompanhada pelo aumento no número e tamanho dos macrocromossomos. Este é o caso de *Burhinus oedicnemus*, por exemplo, que possui o menor número cromossômico diplóide

($2n=40$) dentre as aves analisadas citogeneticamente e, seus macrocromossomos parecem idênticos em morfologia e número ao de outras espécies que possuem grande número de microcromossomos (Bulatova e cols., 1971). Por outro lado, há espécies com alto número diplóide que apresentam muitos microcromossomos e poucos macrocromossomos, o que é o caso de *Upupa epops*, que possui 60 pares de microcromossomos e apenas três pares de macrocromossomos (Misra e Srivastava, 1975). Infelizmente estudos comparativos utilizando técnicas de bandeamento em espécies proximalmente relacionadas, os quais podem revelar a extensão pela qual os cromossomos são fusionados ou fragmentados, são ainda escassos.

A determinação exata do número cromossômico diplóide nas aves depende grandemente da qualidade das placas metafásicas obtidas e do grau de condensação dos cromossomos, pois, a presença dos microcromossomos dificulta muito esta tarefa. Constantemente são observadas diferenças no número total de cromossomos relatado por diferentes autores. Contudo, nem sempre o método de contagem é referido, podendo este variar desde o maior valor contado, até o número modal ou a média de todas as células examinadas. As dificuldades em se contar os menores microcromossomos são tantas, que torna-se difícil determinar se estas diferenças são reais ou são artefatos de preparações e análises. Comparações dos cariótipos das aves são também difíceis de serem realizadas, pois, além de dependerem das ilustrações apresentadas, não existem normas nem padrões para apresentação dos cariótipos, o que não se verifica em outros grupos de animais mais bem

estudados sob o ponto de vista citogenético.

A mais completa revisão existente em citogenética de aves é a de De Boer (1984). Nesta, o autor incluiu 256 referências pertinentes a 587 espécies de aves, sendo 385 **Non-passerines** e 202 **Passerines**, das quais 37 e 29, respectivamente, foram estudadas no período de 1902 ao início da década de 50. Segundo a classificação adotada pelo autor, a de Morony e cols. (1975), as espécies estudadas pertencem a 25 das 26 ordens e a 96 das 160 famílias por eles consideradas. Permanecendo, obviamente, 64 famílias sem qualquer estudo citogenético.

Dentre as aves analisadas citogeneticamente até o momento, a ordem Passeriformes é a que possui o maior número de espécies cariotipadas (cerca de 220).

Das 680 espécies de passeriformes que ocorrem no Brasil (Sick, 1985a), 52 foram estudadas citogeneticamente e, como pode ser visto na Tabela 1.2, a família Fringillidae é a que apresenta o maior número de gêneros e espécies cariotipicamente investigadas. Além disto, nesta mesma Tabela, pode-se verificar que as técnicas de bandeamento cromossômico (C, G ou NOR) só foram aplicadas em apenas 8 espécies, o que em percentagem não difere do observado nas aves de um modo geral.

Embora reduzida a percentagem de aves analisadas com técnicas de bandeamento (aproximadamente 15% das espécies estudadas citogeneticamente), resultados importantes têm sido obtidos.

Com a técnica de bandeamento C, por exemplo, Stefos

Tabela 1.2 - Lista dos Passeriformes Brasileiros que já foram cariotipadas, segundo classificação proposta por Sibley e cols., 1988.

Espécies por família	Referência
TYRANNIDAE	
<i>Knipolegus cyanostris</i>	Lucca e Chama (1977)
<i>Pachyrhamphus castaneos</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Rocha (1987) NOR
<i>Pyrocephalus rubinus</i>	Carvalho e Erdmann (dados não publicados)
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Carvalho e Erdmann (dados não publicados)
<i>Xolmis cinerea</i>	Rocha (1987)
FURNARIIDAE	
<i>Furnarius rufus</i>	Rocha (1987)
<i>Loxia nematura</i>	Rocha (1987)
FORMICARIIDAE	
<i>Myiotherula huxwelli</i>	Lucca (1974a)
<i>Thaenophilus dolius</i>	Lucca e Chama (1977)
VIREONIDAE	
<i>Cyclaris gujanensis</i>	Carvalho e Erdmann (dados não publicados)
MUSCICAPIDAE	
<i>Turdus albicollis</i>	Giannoni (1986) bandas G e C
<i>Turdus amaurochalinus</i>	Lucca (1974a), Giannoni (1986) bandas G e C
<i>Turdus leucocelas</i>	Lucca (1974b), Giannoni (1986) bandas G e C
<i>Turdus rufiventris</i>	Lucca (1974b), Giannoni (1986) bandas G e C
STURNIDAE	
<i>Ninus saturninus</i>	Lucca (1974a), Rocha (1987) NOR
CERTTIDAE	
<i>Troglodytes aedon</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Thryothorus leucotis</i>	Lucca e Chama (1977)
HIRUNGINIDAE	
<i>Notiochelidon cyanoleuca</i>	Lucca (1977)
<i>Progne chalybea</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
PASSERIDAE	
<i>Passer domesticus</i>	Lucca (1977)

Continua...

Tabela 1.2 - Continuação.

Espécies por família	Referência
FRINGILLIDAE	
<i>Ammodramus aurifrons</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Ammodramus humeralis</i>	Lucca (1974b) (<i>Myiophiza humeralis</i>)
<i>Coryphospingus cucullatus</i>	Lucca (1974b)
<i>Coryphospingus pileatus</i>	Lucca (1974b)
<i>Emberizoides herbicola*</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Haplospiza unicolor*</i>	
<i>Paroaria coronata*</i>	
<i>Sicalis flaveola*</i>	Lucca (1974b)
<i>Sporophila americana</i>	Lucca e Chamma (1977), Lucca (1977)
<i>Sporophila lineola</i>	Lucca (1974a)
<i>Sporophila caeruleascens*</i>	Lucca (1974b)
<i>Sporophila nigricollis</i>	Lucca e Chamma (1977)
<i>Sporophila sp</i>	Lucca e Chamma (1977)
<i>Volatinia jacarina</i>	Aguilar (1968), Lucca (1974b)
<i>Zonotrichia capensis*</i>	Lucca (1974b), Lucca e Rocha (1985), Rocha (1987) NOR, Rocha e cols. (1988)
<i>Passerina brissonii*</i>	
<i>Saltator maximus</i>	Lucca (1974b)
<i>Neothraupis fasciata</i>	Lucca (1977)
<i>Ramphocelus carbo</i>	Lucca (1974a)
<i>Schistochlamys melanopsis</i>	Lucca e Waldrigues (1985)
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Lucca (1974b), Lucca e Chamma (1977)
<i>Stephanophorus diadematus</i>	Lucca (1974b)
<i>Thraupis palmarum</i>	Lucca (1974a)
<i>Thraupis sayaca*</i>	Lucca e Chamma (1977)
<i>Thraupis bonariensis*</i>	
<i>Tangara preciosa*</i>	
<i>Molothrus bonariensis*</i>	Lucca (1977), Rocha (1987) NOR
<i>Sturnella militaris</i>	Lucca e Waldrigues (1985) (<i>Leistes militares</i>)
<i>Basileuterus leucoblepharus*</i>	
<i>Coereba flaveola</i>	Lucca e Chamma (1977)

* = Estudo cronossômico apresentado neste trabalho.

e Arrighi (1971) mostram que o cromossomo sexual W e muitos microcromossomos são heterocromáticos, e doravante apenas nas Ratitas (anteriormente abordadas) foi observado o contrário.

Em relação ao bandeamento G, alguns estudos têm revelado que o padrão de bandeamento dos três ou quatro maiores pares do complemento cromossômico é muito similar entre espécies (Shoffner e cols., 1979), entre gêneros (Stock e Bunch, 1982) e até mesmo entre ordens (Takagi e Sasaki, 1974). Entretanto, o grau de similaridade é ainda bastante polêmico, provavelmente, devido à qualidade dos resultados obtidos.

Quanto à utilização da técnica de bandeamento NOR, pode-se verificar que geralmente um ou dois pares de microcromossomos são os responsáveis pela organização do nucléolo, e nas espécies onde se observam satélites a organização do nucléolo corre por conta de tais cromossomos sem que seja observada NOR em microcromossomos (Lucca, 1985a). Segundo este autor, a ocorrência de NOR em macrocromossomos põe por terra a idéia até então predominante de que o nucléolo seria organizado apenas por microcromossomos. Lucca (1985b) sugere que a existência de NOR em macrocromossomos seja devida a translocações ou fusões entre microcromossomos. O emprego desta metodologia tem possibilitado a verificação de que nas aves também ocorre variação intraindividual no número de cromossomos que são marcados pela prata. Como exemplo podemos citar *Speotyto cunicularia*, onde Rocha (1987) observou que de um a vários microcromossomos são responsáveis pela organização do nucléolo. Este autor também observou que

em *Pitangus sulphuratus* ocorre uma assimetria evidente no tamanho das marcações NORs entre cromátides irmãs, e que em *Mimus saturninus* macro e microcromossomos estão envolvidos com a organização nucleolar.

1.3.1 - Polimorfismo cromossômico em aves

Muito embora a detecção de alterações cromossômicas nas aves seja restrita aos macrocromossomos, vários casos de polimorfismos cromossômicos têm sido descritos. Thorneycroft (1966 e 1975) foi capaz de associar um polimorfismo morfológico e de comportamento, com um polimorfismo cromossômico em uma população natural de *Zonotrichia albicollis* (White throated sparrow), demonstração esta pioneira e que até hoje permanece única nos pássaros. Segundo o autor, os cromossomos dos pares 2 e 3, ambos submetacêntricos, teriam originado por inversão pericêntrica os cromossomos 2^m (metacêntrico) e 3^a (acrocêntrico), respectivamente.

Shields (1973) detectou inversões pericêntricas nos pares cromossômicos 2 e/ou 5 de várias espécies de *Junco* (*Junco hyemalis*, *J. oreganus*, *J. aikenii*, *J. caniceps* e *J. phaeonotus*) e sugeriu que estas inversões tenham ocorrido em uma única população, a qual se dispersou geograficamente.

Lucca e Rocha (1985) descreveram um polimorfismo cromossômico em *Zonotrichia capensis* (Tico-tico) muito

semelhante ao que ocorre nos **Juncos**. Estes autores descreveram duas prováveis inversões pericêntricas nos pares 3 e 5 em exemplares desta espécie (Tico-tico) coletados no Estado de São Paulo, onde o cromossomo 3 aparece sob as formas subtelocêntrica (3^{st}) e submetacêntrica (3^{sm}) e o cromossomo 5 sob as formas subtelocêntrica (5^{st}) e metacêntrica (5^m). Estas mesmas variantes cromossômicas foram observadas em diferentes frequências nos estados do Rio Grande do Sul, Espírito Santo (Carvalho e Erdtmann, 1987) e do Paraná (Souza e Lucca, 1988).

Inversão pericêntrica envolvendo o 5º par do complemento foi também descrita em **Cardinalis cardinalis** (Fringillidae) por Bass (1979), onde este par apresenta as formas submetacêntrica e subtelocêntrica. Em **Chloris chloris**, uma espécie desta mesma família (Fringillidae), também foi descrito um caso de polimorfismo cromossômico por inversão pericêntrica, sendo que no par 1, o qual pode ser subtelocêntrico ou submetacêntrico (Hammar e Herlin, 1975).

Polimorfismo por inversão pericêntrica no par 1 foi também descrito em **Vanellus vanellus** (Charadriiformes) por Hammar, 1970; em **Accipiter gentilis** (Falconiformes) por De Boer, 1976; e em **Treron phoenicoptera** (Columbiformes) por Ansari e Kaul, 1979a.

Além destas, outras inversões cromossômicas têm sido descritas em **Lonchura striata** e **L. malabarica** (Passeriformes) por Ray-chaudhuri, 1976; em **Megalaima zeylanica** (Piciformes) por Bhunya e Sultana, 1979; e em **Asio otus** (Strigiformes) por Sasaki e cols., 1983. Em

Porzana albicollis (Gruiformes), um provável caso de inversão cromossômica vem sendo analisado por Giannoni (comunicação pessoal).

Alguns casos de translocações também foram descritos em **Bulbucus ibis** (Ciconiiformes) por Misra e Srivastava, 1976; em **Lonchura punctulata** (Passeriformes) por Ansari e Kaul, 1978; em **Oriolus Xanthornus** (Passeriformes) por Ansari e Kaul, 1979b; e em **Forpus Xantopterygis** (Psittaciformes) por Lucca e Marco, 1983.

Segundo Lucca e Rocha (1985), apenas um caso de perda do material cromossômico em um dos homólogos do par foi descrito na classe Aves por Mandolache (1974).

Shoffner (1977) menciona que um provável caso de fusão cêntrica foi encontrado numa espécie de ave do Sul-meridional dos Estados Unidos, e salienta que se este caso for confirmado, será o primeiro caso de polimorfismo cromossômico do tipo Robertsoniano a ser descrito nas aves.

Como visto, dentre as variações cromossômicas existentes, as inversões pericêntricas são as mais freqüentemente observadas na classe Aves. Em alguns outros organismos, as inversões pericêntricas são também as mais freqüentes. Em Ortópteros, primatas, roedores e vários outros organismos bem estudados, esse tipo de alteração tem sido apontado como um dos principais implicados na evolução do grupo (Guerra, 1988).

Indivíduos heterozigotos para inversões pericêntricas são, pelo menos, potencialmente capazes de formar alça de inversão em seus cromossomos na meiose, como

um resultado da sinapse entre as regiões homólogas. Se isto ocorre, cromátides possuindo duplicações e deficiências são produzidas. De acordo com White (1978) mesmo quando um cromossomo estruturalmente alterado é viável a nível celular, ele pode diminuir a viabilidade do indivíduo quando presente no estado heterozigoto ou homozigoto, e mesmo que o rearranjo não diminua a viabilidade do indivíduo, ele pode não ser capaz de passar através da meiose sem dar origem a gametas deficientes.

Em vista dos obstáculos que um organismo tem que superar, não é surpreendente que a grande maioria dos rearranjos cromossômicos possua pouca ou nenhuma chance de sobreviver e seja rapidamente eliminada por seleção natural. De acordo com White (1978) os poucos rearranjos que sobrevivem parecem ser de dois tipos. O tipo que aumenta a adaptação do heterozigoto e, geralmente, torna-se estabelecido na população na condição polimórfica (heterose), onde um equilíbrio genético é estabelecido e as variantes "velha" e "nova" persistem na população indefinidamente. A seleção dependente de frequência, seria uma forma de seleção a favor do heterozigoto, sendo que a adaptação de cada genótipo homozigoto aumenta quando ele é raro e diminui quando é comum. O outro tipo de rearranjo cromossômico, é o que leva à diminuição na adaptação do heterozigoto (usualmente porque causa a produção de gametas aneuploides) mas produz um alto grau de adaptação no estado homozigoto. Teoricamente, estes rearranjos podem ser eliminados por seleção natural, uma vez que o heterozigoto está sendo

selecionado contra, e para que o homozigoto se torne fixado, é necessário que o rearranjo tenha alcançado uma frequência relativamente alta. Entretanto, inúmeros exemplos de diferenças cromossômicas entre espécies relacionadas implicam que rearranjos cromossômicos podem sofrer fixação no estado homozigoto em associação com eventos de especiação (White, 1978).

De acordo com Shields (1987), a presença de variantes fixadas (sem heterozigoto) é de interesse para o citogeneticista, uma vez que evidencia uma mutação viável que ocorreu na filogenia do grupo em estudo, e os polimorfismos flutuantes (com os três tipos variantes, sendo os dois homozigotos mais o heterozigoto) são de igual interesse porque indicam que heterozigotos são pelo menos bem sucedidos, além de fornecerem indivíduos nos quais os efeitos da meiose híbrida podem ser estudados.

Shields (1982) comparando dados citogenéticos pertinentes a 300 espécies de aves e, tomando como base os modelos evolutivos existentes para vertebrados, concluiu que as mudanças cromossômicas em aves, provavelmente, não desempenham papel importante no processo de especiação. Ao contrário disso, a variabilidade intra-específica existente deve estar associada a mecanismos que promovem polimorfismo balanceado, pois, a existência de polimorfismos cromossômicos múltiplos como os que ocorrem por exemplo nos **Juncos** e **Zonotrichia** e o fato de nenhum polimorfismo cromossômico ter sido encontrado na forma fixada em nenhuma das populações de aves analisadas, não dão evidências de que a variabilidade

cromossômica intra-específica nas aves leve ao isolamento reprodutivo e subsequente especiação. Ainda de acordo com este autor, as diferenças cariotípicas entre espécies do mesmo gênero não parecem estar amplamente difundidas nos pássaros, e um grande número de espécies cogenéricas freqüentemente têm cariótipos idênticos. Além disto, não é sabido se a variabilidade cariotípica entre espécie foi um fator integral que promoveu o isolamento reprodutivo que precede à especiação, ou se foi desenvolvida após o evento de especiação.

1.4 - Objetivos

Considerando a ocorrência de polimorfismo cromossômico em *Z. capensis* (Tico-tico) em São Paulo, além do número reduzido de aves cariotipicamente avaliadas, optou-se por fazer um estudo citogenético no grupo dos fringilídeos no Rio Grande do Sul, com os seguintes objetivos: a) descrever e comparar os cariótipos das espécies coletadas;

- b) avaliar a ocorrência e freqüência de variantes cromossômicas em exemplares de *Z. capensis* coletados em diferentes localidades do Rio Grande do Sul.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Procedimento de coleta

Os espécimes foram coletados na natureza com auxílio de redes de nylon (redes de neblina ou "mist nets") para captura de pássaros.

As redes foram armadas próximo a plantações de arroz, sementes de grama ou qualquer outro tipo de alimento que sabidamente fizesse parte do hábito alimentar dos fringilídeos. Essas redes eram visitadas periodicamente, a intervalos de 20 a 40 minutos, a fim de retirar as aves e transportá-las para o laboratório (geralmente improvisado no próprio local de coleta) onde eram processadas.

2.2 - Locais de coleta

A situação geográfica dos locais de coleta está mostrada na Figura 2.1. Nesta Figura, pode-se verificar que os animais provieram de quatro diferentes localidades do Estado do Rio Grande do Sul e de apenas uma do Espírito Santo. Na Tabela 2.1 encontra-se a discriminação de cada um destes locais, e em seguida são apresentadas algumas informações adicionais sobre as respectivas localidades.

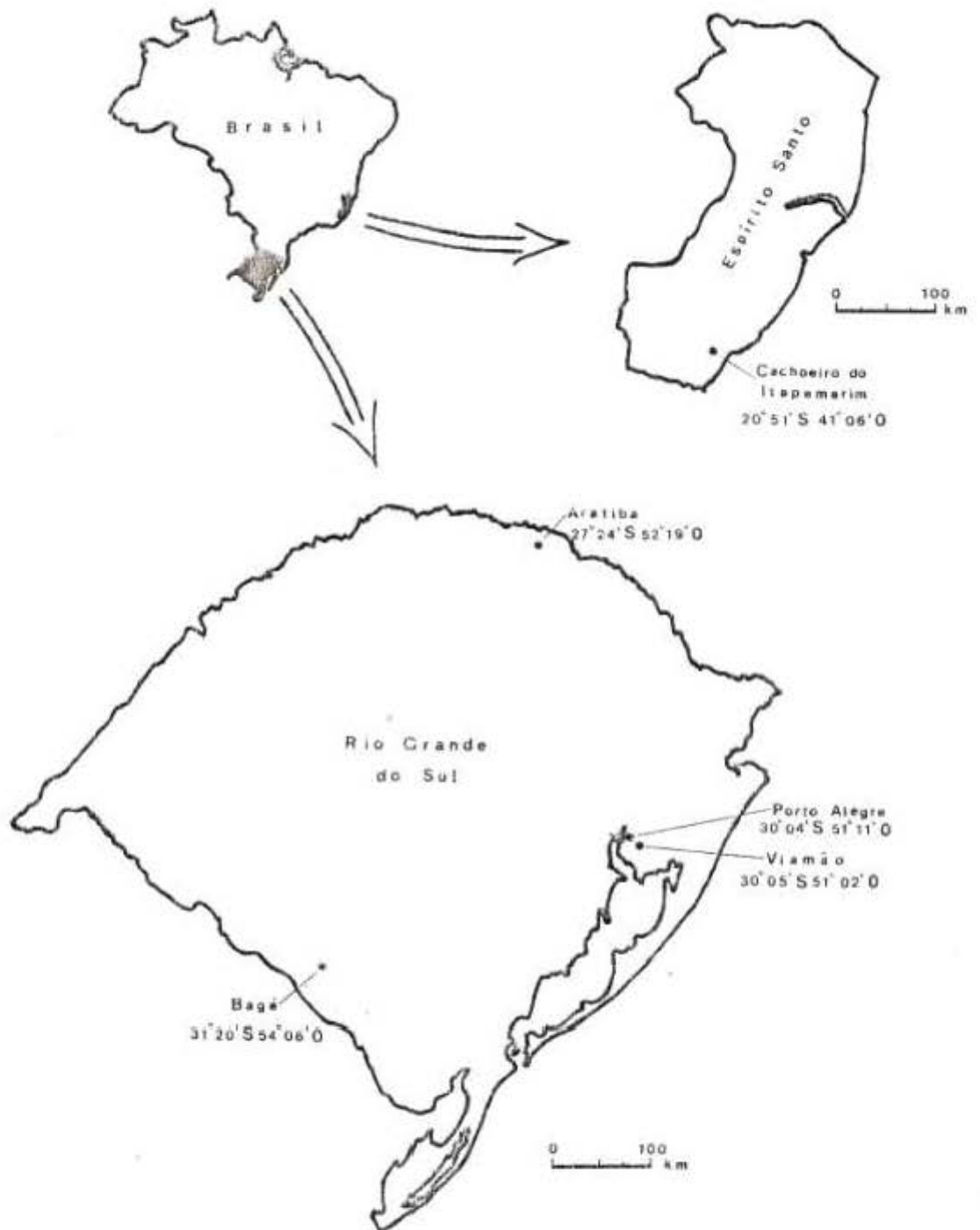


Figura 2.1.- Situação geográfica dos locais de roleta

TABELA 2.1 - Discriminação dos locais de coleta

ESTADO	LOCALIDADE	MUNICÍPIO	REGIÃO
Rio Grande do Sul	Três Barras (RS-1)	Aratiba	Alto Uruguai
	Sítio Terrinha (RS-2)	Viamão	Depressão Central
	Granja Kaiser (RS-3)	P.Alegre	Depressão Central
	Fazenda São Bento (RS-4)	Bagé	Campanha
Espírito Santo	Fazenda Monte Verde (ES)	Cachoeiro do Itapemerim	Mata Atlântica

RS-1 (Três Barras)

Local recentemente desmatado, atualmente com 90% da área coberta por plantações variadas, tais como arroz, trigo, milho e mandioca. Os animais coletados nesta região foram capturados à margem esquerda do rio Uruguai, num percurso de aproximadamente 2 Km.

RS-2 e 3 (Sítio Terrinha e Granja Kaiser)

Estas localidades são relativamente próximas, distando cerca de 8 Km, em linha reta; sendo que RS-3 é mais próxima a vilas populares e ao centro de Porto Alegre-RS. Ambas apresentam vegetação arbustiva, com poucas e pequenas zonas de plantações, também variadas. As aves aí coletadas foram capturadas em vários pontos destas propriedades.

RS-4 (Fazenda São Bento)

Região típica de campanha, com algumas manchas de plantações, principalmente de arroz. Os animais procedentes desta localidade foram capturados no pomar da casa principal.

ES (Fazenda Monte Verde)

Região de mata nativa e secundária, com vários pontos de desmatamento. O exemplar de *Haplospiza unicolor* coletado nesta região foi capturado na beira da mata, e os exemplares de *Zonotrichia capensis* foram capturados numa região desmatada, em frente ao mini-zoológico do Hotel Fazenda Monte Verde.

Obs: Esta localidade não havia sido previamente escolhida como ponto de captura. Contudo, por ocasião de uma coleta de roedores, tivemos a oportunidade de capturar alguns espécimes de fringilídeos, os quais optamos por incluir neste trabalho.

2.3 - Amostra

Foram estudados 87 indivíduos pertencentes a 12 espécies da ordem Passeriformes. Embora a posição sistemática das espécies em questão seja ainda um tanto controversa, adotamos a classificação proposta por Sibley e cols. (1988). Nesta classificação, as espécies analisadas pertencem todas a subfamília Emberizinae da família Fringillidae, como pode ser visto na Tabela 2.2.

TABELA 2.2 - Posição sistemática das espécies estudadas, conforme a classificação de Sibley e cols. (1988).

CLASSE	ORDEN	FAMÍLIA	SUBFAMÍLIA	TRIBO	ESPÉCIE
Aves	Passeriformes	Fringillidae	Eberizinae	Icterini	<i>Molothrus bonariensis</i>
				Parulini	<i>Basileuterus leucoblepharus</i>
				Cardinalini	<i>Passerina brissonii</i>
				Thraupini	<i>Tangara preciosa</i> <i>Thraupis bonariensis</i> <i>Thraupis sayaca</i>
				Eberizini	<i>Paroaria coronata</i> <i>Haplospiza unicolor</i> <i>Eberizoides herbicola</i> <i>Sicalis flaveola</i> <i>Sporophila caeruleascens</i> <i>Zonotrichia capensis</i>

Na Tabela 2.3 encontra-se a relação do número de indivíduos coletados por espécie, local de coleta e sexo. Como pode ser visto nesta Tabela, das 12 espécies estudadas, em apenas cinco foi analisado mais que um indivíduo, sendo que em duas destas, foram analisados apenas dois e três indivíduos. Este fato impossibilitou a avaliação da proporção entre os sexos nas diferentes espécies. Contudo, em *Zonotrichia capensis* (61 indivíduos analisados) e no total geral, esta mostrou ser de 1:1.

Todos os animais foram taxidermizados e as peles se encontram no Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A identificação dos espécimes foi feita, com a ave ainda viva, utilizando guias de identificação de aves tais como os de Schauensee e Phelps

(1978), Frisch (1981), Belton (1982) e Narosky e Yzurieta (1987), e posteriormente confirmada pelo taxonomista Walter Voss do Parque Zoológico da cidade de Sapucaia-RS.

TABELA 2.3 - Número de indivíduos coletados em cada espécie por local de coleta e sexo.

Espécie	LOCALS DE COLETA					Número de indivíduos		
	RS-1	RS-2	RS-3	RS-4	ES	Machos	Fêmeas	Total
	M/F	M/F	M/F	M/F	M/F			
<i>Molothrus bonariensis</i>	--/--	--/--	--/--	--/01	--/--	--	01	01
<i>basileuterus leucoblepharus</i>	--/--	01/--	--/--	--/--	--/--	01	--	01
<i>Passerina brissonii</i>	03/--	--/--	--/--	--/--	--/--	03	--	03
<i>Tangara preciosa</i>	--/--	--/--	--/--	--/01	--/--	--	01	01
<i>Thraupis bonariensis</i>	--/--	--/--	--/--	01/--	--/--	01	--	01
<i>Thraupis sayaca</i>	--/02	01/--	--/--	01/01	--/--	02	03	05
<i>Paroaria coronata</i>	--/--	--/--	--/--	--/01	--/--	--	01	01
<i>Haplospiza unicolor</i>	--/--	--/--	--/--	--/--	--/01	--	01	01
<i>Emberizoides herbicola</i>	--/--	01/--	--/--	--/--	--/--	01	--	01
<i>Sicalis flaveola</i>	03/02	--/--	--/--	03/01	--/--	06	03	09
<i>Sporophila caeruleascens</i>	02/--	--/--	--/--	--/--	--/--	02	--	02
<i>Zonotrichia capensis</i>	08/12	09/08	02/07	08/02	03/02	30	31	61
Total	16/16	12/08	02/07	13/07	03/03	46	41	87

RS-1 = Aratiba-RS; RS-2 = Viçosa-RS; RS-3 = Porto Alegre-RS; RS-4 = Sagé-RS; ES = Cachoeiro do Itapemirim-ES e M/F = Machos/Fêmeas.

2.4 - Caracterização das espécies estudadas

Representantes da família Fringillidae habitam

praticamente todas as regiões zoogeográficas do globo. Entretanto, a nível de espécie existe uma certa limitação em sua distribuição associada aos hábitos particulares de cada uma. Baseado na classificação de Sibley e cols. (1988), será mencionado a seguir o hábito alimentar de cada grupo (tribo), bem como a distribuição geográfica, nomes populares, nome em inglês e algumas peculiaridades de cada espécie analisada. Para os nomes populares, selecionamos de Andrade (1985), os vocábulos mais comumente utilizados. A distribuição geográfica, bem como os nomes em inglês foram retirados de Ruschi (1979). O hábito alimentar e as informações adicionais estão contidas em Sick (1985 a e b) e Antas e Cavalcanti (1988).

Nas Figuras 2.2 e 2.3 é mostrada a fotografia de um exemplar taxidermizado de cada espécie analisada. Foram fotografados macho e fêmea, apenas nos casos onde a espécie possui dimorfismo sexual, e ambos os sexos foram analisados.

SUBFAMÍLIA Emberizinae

TRIBO Icterini: Alimentam-se de frutas e insetos.

ESPÉCIE ESTUDADA:

- **Molothrus bonariensis** (Gmelin, 1788)

Nomes vulgares: Chopim, Pássaro preto, Graúna, Gaudério, Vira bosta e Maria preta.

Nome em inglês: Shiny cowbird

Características: Pássaro bem conhecido em todo o Brasil. Macho azul-violeta fortemente brilhante, asas esverdeadas reluzentes; fêmea menor, marrom-fuligem, de dorso negro. Há muita variação em tamanho (também nos machos) e colorido, ocorrem fêmeas totalmente negras



Figura 2.2 - Fotografia dos exemplares taxidermizados de: A - fêmea de *Molothrus bonariensis*, B - macho de *Basileuterus leucoblepharus*, C - macho jovem de *Passerina brissonii*, D - fêmea de *Tangara preciosa*, E - macho de *Thraupis bonariensis*, F - macho de *Thraupis sayaca*.



Figura 2.3 - Fotografia dos exemplares taxidermizados de: A - fêmea de *Paroaria coronata*, B - fêmea de *Haplospiza unicolor*, C - macho de *Emberizoides herbicola*, D - macho de *Sicalis flaveola*, E - macho de *Sporophila caerulea*, F - fêmea de *Sicalis flaveola*, G - macho de *Zonotrichia capensis*.

porém menos reluzentes do que os machos adultos. Os imaturos são de lado superior negro sem brilho (macho) ou pardacento manchado (fêmea), lado inferior em ambos mais ou menos rajado de esbranquiçado e negro. O sexo é reconhecível já na plumagem juvenil: macho anegrado e fêmea marrom fuligem.

Distribuição: Bolívia, Paraguai, Uruguai, Argentina e no Brasil, em todos os Estados e territórios, excluídos Amapá, região de Belém e ilhas.

TRIBO Parulini: Alimentam-se basicamente de pequenos artrópodes e lagartas. Pegam também insetos em voo.

ESPÉCIE ESTUDADA:

- **Basileuterus leucoblepharus** (Vieillot, 1817)

Esta espécie também é conhecida por **Phaeothlypis leucoblepharus**.

Nomes vulgares: Mariquita de sobrançelha branca e Pula pula de asas brancas.

Nome em inglês: White browed warbler

Características: Espécie relativamente grande, de cauda longa e larga, lado superior verde escuro, meio do píleo cinzento, círculo em torno do olho e uma sobrançelha estreita brancas, também parte inferior, cujos lados são acinzentados; coberteiras inferiores da cauda amarelada.

Distribuição: Paraguai, Uruguai, Argentina e no Brasil, do Sudeste do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul.

TRIBO Cardinalini: Alimentam-se basicamente de sementes.

ESPÉCIE ESTUDADA:

- **Passerina brissonii** Lichtenstein, 1823

Esta espécie é também conhecida por **Cyanocompsa cyanea** e **Cyanocompsa brissonii**.

Nomes vulgares: Azulão, Azulão verdadeiro, Azulão do Sul e Bicudo da terra.

Nome em inglês: Ultramarine grosbeak

Características: Espécie de bico avantajado e negro; macho totalmente azul-escuro com a fronte, sobrançelas, máculas do loro e partes das coberteiras superiores da asa azuis brilhantes. A fêmea e o imaturo são pardos uniformes, um pouco mais claros nas partes inferiores.

Distribuição: Argentina, Paraguai e Brasil Este-meridional, do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul e em Minas Gerais e Goiás.

TRIBO Thraupini: Alimentam-se basicamente de substâncias vegetais: frutinhas (frequentemente duras) das árvores e arbustos ou de epífitas que neles vegetam; frutinhas de cipós e pedaços de frutas maiores sem suco, folhas e néctar.

ESPÉCIES ESTUDADAS: *Tangara preciosa*, *Thraupis bonariensis* e *Thraupis sayaca*.

- *Tangara preciosa* (Cabanis, 1851)

Esta espécie é também conhecida por *Tangara peruviana* e *Tangara castanonota*.

Nomes vulgares: Saira dorso castanho, Saira preciosa, Saira sapucaia, Cara suja e Saíguaçu.

Nome em inglês: Chestnut backed tanager

Características: Espécie meridional peculiar, de vértice e lados da cabeça castanhos com um brilho acobreado, coloração esta que pode estender-se até o pescoço posterior e dorso; coberteiras superiores das asas e uropígio amarelo-prateados; lado inferior verde-azulado reluzente. Fêmea verde-acinzentada reconhecível pelo marrom do pileo e do crisso. Apresenta polimorfismo de plumagem, sendo que o macho das populações setentrionais costuma ter o dorso negro. Esta espécie foi chamada de *Tangara peruviana* devido a erro de procedência, pois, jamais ocorreu no Peru.

Distribuição: Argentina, Uruguai e Brasil Sudeste, desde o Sul de São Paulo ao Rio Grande do Sul.

- *Thraupis bonariensis* (Gmelin, 1789)

Nomes vulgares: Sanhaço azul e amarelo, Papa ameixa e papa queijo.

Nome em inglês: Blue and yellow tanager

Características: Representante meridional de colorido berrante; cabeça e asas azuis, dorso negro, uropígio e peito laranja e abdômen amarelo mais claro. Fêmea bem diferente, verde-pardacenta de lado inferior mais claro; sem distintivos especiais, é difícil a sua identificação na ausência do macho. Macho imaturo de píleo azulado e uropígeo e lados inferiores amarelados.

Distribuição: Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil extremo Sul, no Rio Grande do Sul.

- *Thraupis sayaca* (Linnaeus, 1766)

Nomes vulgares: Sanhaço do mamoeiro, Sanhaço da laranjeira e Sanhaço palmeira.

Nome em inglês: Sayaca tanager

Características: Um dos pássaros mais abundantes do Brasil Oriental. Cinzento ligeiramente azulado com as partes inferiores um pouco mais claras; dragonas, bordas das rémiges e retrizes azuis-esverdeadas pouco destacadas.

Distribuição: Argentina, Uruguai, Paraná e Brasil Oriental e Central: Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, até o Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Norte e do Sul.

TRIBO Emberizini: São basicamente granívoros, alimentando-se algumas vezes de brotos e frutas.

ESPÉCIES ESTUDADAS: *Paroaria coronata*, *Haplospiza unicolor*, *Emberizoides herbicola*, *Sicalis flaveola*, *Sporophila caerulescens* e *Zonotrichia capensis*.

- **Paroaria coronata** (Müller, 1776)

Esta espécie é também conhecida por **Paroaria cucullata** ou **Paroaria cristata**.

Nomes vulgares: Cardeal, Cardeal do Sul e Cardeal de topete vermelho.

Nome em inglês: Red crested cardinal

Características: Espécie meridional bastante semelhante à **Paroaria dominicana**, porém, sendo inconfundível por seu grande topete vermelho (vivo no macho e pálido na fêmea) que é sempre mantido ereto. Partes superiores cinza-claras uniformes, bico esbranquiçado; imaturo pardacento e já topetudo. Substitui geograficamente **Paroaria dominicana** (do Nordeste do Brasil), com a qual cruza em cativeiro produzindo prole fértil.

Distribuição: Argentina, Uruguai, Bolívia e Brasil extremo Sul e Sudeste: Rio Grande do Sul e Sudeste do Mato Grosso do Sul.

- **Haplospiza unicolor** Cabanis, 1851

Nomes vulgares: Catatau, Pichocho, Pichocho do arroz, Pichocho-bambu e Cigarra coqueiro.

Nome em inglês: Uniform finch

Características: Restrito ao Sudeste, lembra, na plumagem **Tiaris fuliginosa**, tendo porém bico cônico extremamente pontudo; plumagem cinzento-azulada uniforme, incluindo o lado inferior das asas, bico negro, pernas pardo-rosadas claras; fêmea de partes superiores oliváceas sendo esbranquiçada nas partes inferiores com os flancos e peito esverdeados, a garganta e papo estriados de anegrado, mandíbula amarelada.

Distribuição: Argentina, Paraguai e Brasil Sudeste, do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul e Leste de Minas Gerais.

- **Emberizoides herbicola** (Vieillot, 1817)

Nomes vulgares: Tibirro, Canário do campo e Canário do brejo.

Nome em inglês: Wedge tailed grass finch

Características: Espécie campestre comum de vasta distribuição, a cauda larga graduada toma mais que a metade do total; lado superior de estrias negras contrastantes, encontro (geralmente escondido) amarelo; bico forte e um pouco curvo, amarelo de cumeeira negra; pernas amarelas ou rosadas. Imaturo (jovem) de sobranceiras e lado inferior amarelo-enxofre em vez de branco-pardacento, lados do peito estriados, mandíbula esbranquiçada.

Distribuição: Argentina, Paraguai, Bolívia e Brasil Este-meridional e Centro-ocidental: Pernambuco até o Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Norte.

- **Sicalis flaveola** (Linnaeus, 1766)

Nomes vulgares: Canário da terra, Canário da terra verdadeiro e Canário da horta.

Nome em inglês: Saffron finch

Características: Os machos das populações Este-meridional assemelham-se aos de **Sicalis citrina**, sendo menores e possuindo estriação anegrada do dorso e flancos mais abundantes. Fêmea e jovem de ambas as formas com as partes superiores pardo-oliváceas com densa estriação parda e por baixo esbranquiçadas com estriação pardacenta; as fêmeas assemelham-se às vezes aos machos.

Distribuição: Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil Meridional e Ocidental: Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Norte e do Sul.

- **Sporophila caerulescens** (Vieillot, 1817)

Nomes vulgares: Coleirinho, Coleiro virado, Papa capim e Papa arroz.

Nome em inglês: Double colored seedeater

Características: A espécie mais abundante e conhecida do gênero no Sudeste do Brasil. Macho com as partes superiores cinza-escuras, as vezes com um tom esverdeado; face, garganta anterior e faixa sobre o papo (colar) negras; estria malar, nódoa branca ou amarelada; espéculo tanto pode estar presente como pode faltar; bico de colorido variado: cinzento, amarelo, esverdeado ou anegrado, o que corresponde a várias denominações (Coleira bico laranja, Coleira bico de chumbo, etc.). A fêmea é parda, com o dorso mais escuro, de diferenciação difícil para fêmeas de outras espécies de coleiro. O macho é da cor da fêmea ao sair do ninho, virando na primeira muda.

Distribuição: Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil Centro-ocidental e Meridional, nos Estados do Pará, Mato Grosso do Norte e do Sul, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

- **Zonotrichia capensis** (Müller, 1776)

Esta espécie apresenta, Segundo Chapman (1940), 22 subespécies. O Autor utiliza como caracteres variáveis, o tamanho geral, tamanho dos pés, do bico, da crista e da cauda, o tamanho e forma das asas, coloração geral e das marcas da cabeça, pescoço e asas, bem como a distribuição geográfica.

Nomes vulgares: Tico-tico, Tico-tico comum e Maria é dia.

Nome em inglês: Rufous colored sparrow

Características: É um dos pássaros mais populares e estimados no Brasil Este-meridional. O pequeno topete, o desenho estriado da cabeça e o colar ferrugíneo-alaranjado são características da espécie, sendo, geralmente, menos pronunciadas no sexo feminino. Jovem sem as faixas na cabeça, sem a nódoa preta ao lado do pescoço e sem o colar alaranjado, possuindo manchinhas negras no peito. Distribui-se do México e da América Central através da maior parte da América do Sul,

até a Terra-do-Fogo com muitas lacunas que geralmente correspondem a regiões de clima tropical, que não agradam ao Tico-tico. Nos Andes chegam a habitar regiões de até 5.000 metros de altura.

Distribuição: Uruguai, Paraguai, Argentina e Brasil Este-meridional, do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul. Minas Gerais e Mato Grosso do Norte.

2.5 - Preparação da medula óssea para obtenção de metáfases

Os cariótipos de todos os indivíduos analisados provieram de células da medula óssea. As preparações citológicas até a fase de fixação das células foram realizadas ou no próprio local de coleta (utilizando centrífuga manual), ou no Laboratório de Genética da UFRGS. As preparações foram feitas segundo a técnica de Ford e Hamerton (1956) modificada, cujo procedimento é o seguinte:

- 1- Injeta-se intra-peritonealmente uma solução de colchicina a 0,05% na proporção de 1 ml por 100 g de peso do animal;
- 2- Após duas horas de injetada a colchicina, sacrifica-se o animal;
- 3- Retiram-se os fêmures, cortando-se as epífises;
- 4- Remove-se a medula com 5 ml de solução hipotônica a $\pm 38^{\circ}\text{C}$ (cloreto de potássio a 0,075 M) para um tubo de centrífuga, utilizando-se uma seringa;
- 5- Com uma pipeta de Pasteur, divulsiona-se bem o material, e mantém-se em estufa ou banho maria a $\pm 38^{\circ}\text{C}$;
- 6- Após dez minutos, centrifuga-se a 200 rpm durante cinco

- minutos e em seguida retira-se o sobrenadante;
- 7- Fixa-se com 5 ml de fixador Carnoy (metanol : ácido acético 3:1) e ressuspende-se o material com pipeta de Pasteur;
 - 8- Centrifuga-se novamente por cinco minutos, retirando-se o sobrenadante. Acrescenta-se novo fixador e ressuspende-se o material;
 - 9- O item oito é repetido por mais duas vezes, sendo que na última, a quantidade de fixador é reduzida para 2,5 a 3,5 ml dependendo da quantidade de material que houver no tubo;
 - 10- Após isso, o material está pronto para o preparo das lâminas.

Tendo em vista o baixo índice mitótico e, conseqüentemente, a redução da qualidade das células metafásicas presentes nas preparações, utilizamos em alguns espécimes a técnica de Lee e Elder (1980) que tem por finalidade aumentar o índice mitótico através de injeção de fermento biológico. Após 24 horas de injetada a solução de fermento (descrita abaixo) na proporção de 1 ml por cada 100 g de peso do animal, realizava-se a técnica descrita anteriormente.

Solução de fermento: 6 g de glicose
 3 g de fermento biológico Fleischmann
 25 ml de água de torneira morna (40°C)
 Incubar a esta mesma temperatura por 30 minutos

2.6 - Coloração

Todas as preparações foram coradas com uma solução de Giemsa a 2%, tamponado com tampão fosfato pH 6,8 (fosfato monossódio 0,2 M + fosfato bissódio 0,2 M) durante seis a oito minutos a temperatura ambiente.

2.7 - Região organizadora do nucléolo

Para análise das regiões organizadoras do nucléolo (banda NOR) foi utilizada a técnica de Howell e Black (1980), modificada, cujo procedimento é o seguinte:

- 1- Mantêm-se as lâminas em estufa a 60°C por um período de 24 horas;
- 2- Prepara-se uma solução de nitrato de prata a 50% e uma solução coloidal (2,5 g de gelatina em folha, marca OTKER, dissolvidas em 50 ml de água destilada e 1 ml de ácido fórmico p.a.);
- 3- Pinga-se sobre a lâmina duas gotas da solução de gelatina e sobre esta quatro gotas da solução de nitrato de prata;
- 4- Cobre-se a lâmina com uma lamínula de tamanho 24 X 60 mm, e coloca-se em câmara úmida em estufa a 60°C;
- 5- Quando a solução assume uma coloração marrom-dourada, remove-se a lamínula em água corrente e deixa-se lavar bem;

6- Seca-se a lâmina em estufa ou ao ar e observa-se ao microscópio.

Observação: Para remover o nitrato de prata, coloca-se a lâmina numa solução de 0,5 g de ferricianeto de potássio + 0,5 g de hiposulfito de sódio, dissolvidas em 50 ml de água destilada. Deixar nesta solução durante 5 minutos a temperatura ambiente, lavando após em 3 passagens de água destilada. A seguir cora-se com Giemsa, conforme descrito no item anterior.

2.8 - Coloração com fluorocromos CMA (cromomicina A) e DAPI (diaminophenilindol)

Algumas lâminas, preparadas conforme o item 2.5, foram enviadas para o Dr. Marcelo dos Santos Guerra Filho, da Universidade Federal de Pernambuco, que estava na época na Universidade de Viena trabalhando com fluorocromos, tendo nos devolvido material em negativos de fotomicrografias de células. O material foi corado simultaneamente com dois fluorocromos, a saber, cromomicina A (CMA) e diaminophenilindol (DAPI). CMA tem afinidade preferencial por regiões ricas em G-C e DAPI por regiões ricas em A-T. Para observar e fotografar, usam-se apenas filtros adequados, pois o comprimento de luz de excitação e emissão de fluorescência são diversos para cada corante. A técnica de coloração foi baseada em Schweizer (1980), e consiste basicamente no seguinte:

- 1- Usar lâminas secas de dois a 30 dias;
- 2- Corar uma hora com CHA no escuro;
- 3- Lavar e corar com DAPI por 30 minutos no escuro;
- 4- Lavar, secar e montar com glicerol tamponado pH 7,0;
- 5- Deixar estabilizar por três dias no escuro.

Soluções dos corantes: 0,5 mg/ml de tampão McIlvaine's (ácido cítrico 0,1 M + fosfato bissódio 0,2 M), a pH 7,0. Para CHA usa-se este tampão com 2,5 mM de MgCl.

2.9 - Análise cromossômica

Para determinar o número cromossômico diplóide ($2n$) de cada indivíduo foram contadas, sempre que possível, cerca de 20 células em coloração convencional com Giemsa, e o número modal foi o escolhido. Foram fotografadas aproximadamente dez metáfases, e destas, as três melhores foram escolhidas e montados os kariótipos. Na montagem dos kariótipos, os 24 maiores cromossomos foram pareados em ordem decrescente de tamanho. Os demais cromossomos foram assumidos como microcromossomos e considerados apenas na contagem do número cromossômico diplóide. A classificação dos cromossomos de acordo com a posição do centrômero foi baseada na nomenclatura de Levan e cols. (1964).

2.10 - Fotomicrografias

As fotomicrografias do material corado com Giemsa e prata foram obtidas em um fotomicroscópio III da Carl Zeiss. As metáfases foram fotografadas em objetiva de 100X. Os negativos foram obtidos em filme Panatômico-X (Kodak). As cópias dos negativos foram feitas com papel Kodabromide F.4 (Kodak).

No caso do material corado com CMA e DAPI, as fotomicrografias foram obtidas usando-se filtros excitadores BG 12 (440-480 nm) para CMA e UG 1 (360-400 nm) para DAPI; como filtros de barreira usou-se 430 + 495 para CMA e 400 para DAPI. O filme utilizado foi Kodak TX 5063, e as cópias dos negativos foram feitas com papel Kodabromide F.2 (Kodak).

3 - RESULTADOS

3.1 - Avaliação geral e comparada

No total foram analisados 87 indivíduos pertencentes a 12 espécies da família Fringillidae (Tabelas 2.2 e 2.3). Dentre estas, são estudados pela primeira vez os cariótipos de *Tangara preciosa*, *Thraupis bonariensis*, *Passerina brissonii*, *Haplospiza unicolor*, *Paroaria coronata* e *Basileuterus leucoblepharus*. Os cariótipos das outras seis espécies já foram anteriormente estudados: *Sicalis flaveola*, *Sporophila caerulescens*, *Zonotrichia capensis* (Lucca, 1974b); *Molothrus bonariensis* (Lucca, 1977); *Thraupis sayaca* (Lucca e Enama, 1977) e *Emberizoides herbicola* (Lucca e Waldrigues, 1985).

A análise do cariótipo de todas as espécies investigadas foi feita com a utilização da técnica convencional de coloração por Giemsa. Com exceção do polimorfismo cromossômico de *Z. capensis* e uma provável variação no cromossomo sexual W de *M. bonariensis*, nenhuma outra variação intraespecífica foi observada.

Dentre as técnicas de bandeamento aplicadas, a única em que se obteve resultados satisfatórios foi na marcação das regiões organizadoras do nucléolo (banda NOR) em *Z. capensis*. Entretanto, alguns resultados preliminares obtidos com as técnicas de bandeamentos DMA (cromomicina A)

e DAPI (diaminophenilindol), nesta espécie, também são apresentados.

O número cromossômico diplóide observado variou de 76 em *B. leucoblepharus* e *P. brissonii* a 82 em *E. herbicola*, como pode ser visto na Tabela 3.1.

TABELA 3.1 - Número cromossômico observado em cada espécie analisada.

Espécie	2n= ±
<i>Molothrus bonariensis</i>	80
<i>Basileuterus leucoblepharus</i>	76
<i>Passerina brissonii</i>	76
<i>Tangara preciosa</i>	78
<i>Thraupis bonariensis</i>	78
<i>Thraupis sayaca</i>	78
<i>Paroaria coronata</i>	78
<i>Haplospiza unicolor</i>	78
<i>Emberizoides herbicola</i>	82
<i>Sicalis flaveola</i>	80
<i>Sporophila caerulescens</i>	80
<i>Zonotrichia capensis</i>	80

As doze espécies analisadas apresentaram um padrão cariotípico muito similar, sendo o mais diferenciado o de *Z. capensis*. Na Figura 3.1 são apresentados os oito primeiros pares cromossômicos mais o par sexual de cada uma das

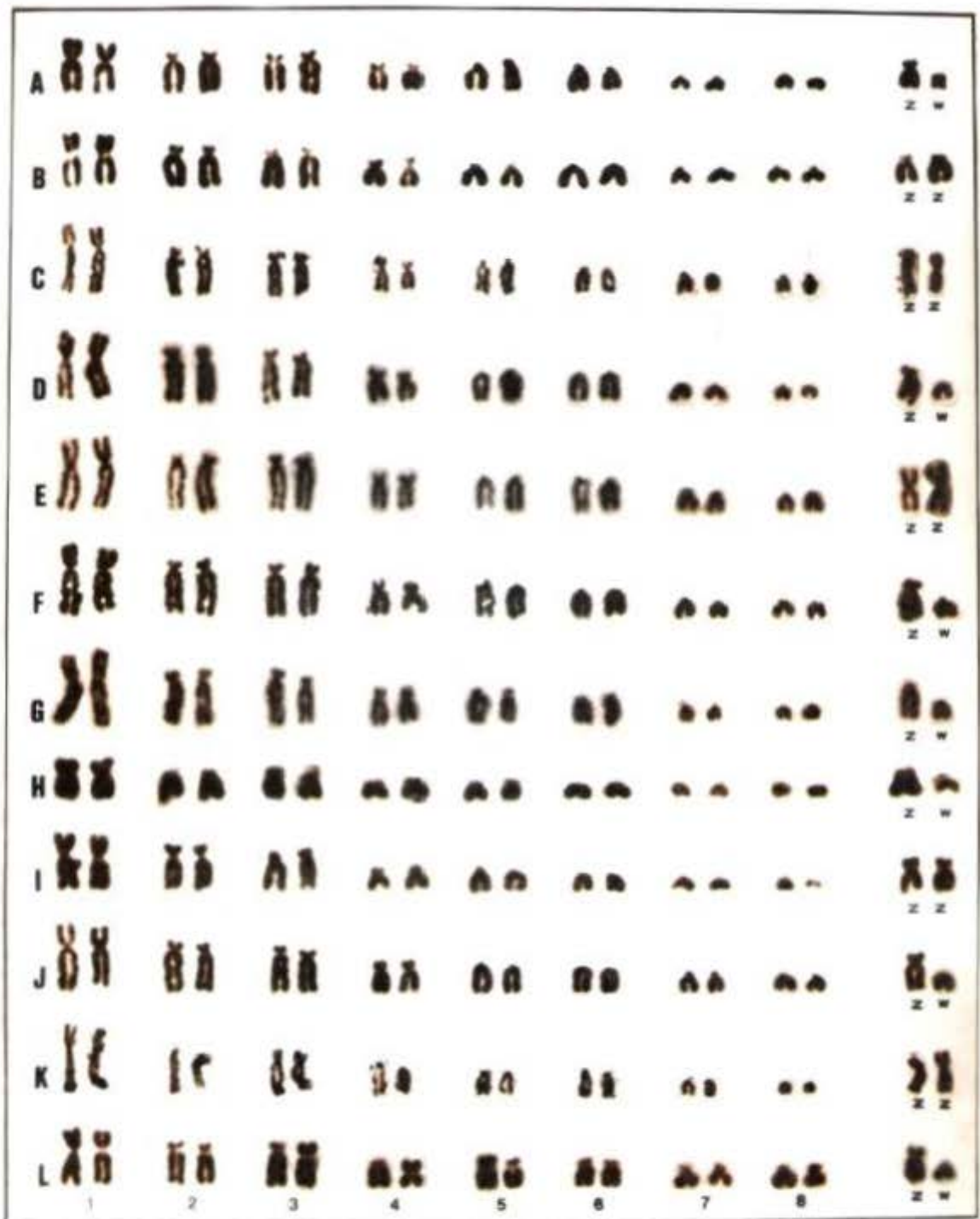


Figura 3.1 - Cariótipos parciais das espécies: A - *Molothrus bonariensis*; B - *Basileuterus leucoblepharus*; C - *Passerina brissonii*; D - *Tangara preciosa*; E - *Thraupis bonariensis*; F - *Thraupis sayaca*; G - *Paroaria coronata*; H - *Haplospiza unicolor*; I - *Emberizoides herbicola*; J - *Sicalis flaveola*; K - *Sporophila caerulescens*; L - *Zonotrichia capensis*, indivíduo duplo-heterozigoto para as inversões nos pares 3 e 4.

espécies estudadas.

O par 1, por definição o maior do cariótipo, apresenta morfologia similar em todas as espécies analisadas, com posição do centrômero submetacêntrica.

Os pares 2 e 3 são geralmente subteloicêntricos de tamanho e morfologia similares, sendo difícil a distinção entre os dois pares. O comprimento dos braços curtos destes cromossomos, em metáfases de boa qualidade, eventualmente, pode ser diferenciado, sendo que em **E. herbicola** (Fig. 3.1-I), com apenas um indivíduo analisado, esta diferença é mais notória, once um dos pares se apresenta como submetacêntrico. Salienta-se também que **Z. capensis** (Fig. 3.1-L) apresentou polimorfismo em um destes pares (par 3), com morfologias de submetacêntrico e subteloicêntrico, o qual será posteriormente melhor analisado.

Os pares 4, 5 e 6 são menores que o cromossomo sexual Z. Em **Z. capensis** (Fig. 3.1-L) estes três pares são subteloicêntricos e apresentam braços curtos distintos, além de um polimorfismo cromossômico meta / subteloicêntrico no par 4 que será discutido mais adiante. Nas demais espécies analisadas, estes pares nem sempre são diferenciáveis pelo tamanho, contudo, o par que foi determinado como sendo o 4 é subteloicêntrico, enquanto que os pares 5 e 6 são acrocêntricos. A única exceção foi encontrada em **S. caerulescens** (Fig. 3.1-K), onde todos os três pares em questão são acrocêntricos. Em relação aos pares 5 e 6 (ambos acrocêntricos), eventualmente, pode ser feita uma distinção entre eles, ou pela visualização dos braços

curtos no par cromossômico considerado como sendo o 5, ou por uma leve diferença no tamanho geral destes cromossomos.

A partir do 79 par, os cromossomos são menores e acrocêntricos com exceção de **Z. capensis**, onde todos estes pares são subtelocêntricos, com algumas restrições, que serão abordadas no item 3.2.12. Em todas as espécies, estes pares decrescem continuamente em tamanho até os microcromossomos, os quais são impossíveis de serem analisados morfológicamente devido ao seu reduzido tamanho.

Nas espécies em que foram analisadas fêmeas, o cromossomo sexual Z é intermediário em tamanho aos pares 3 e 4. Nas demais espécies onde só machos foram analisados, consideramos este mesmo par (o 42 maior par de cromossomos do complemento) como sendo o sexual Z. Assim sendo, a morfologia deste cromossomo variou de acrocêntrica em **P. coronata** (Fig. 3.1-G) a metacêntrica em **P. brissonii** e **T. bonariensis** (Fig. 3.1-C e E, respectivamente) com uma variação contínua no tamanho do braço curto, como pode ser observado na Figura 3.1. Nesta mesma Figura, pode-se verificar que o cromossomo W é, geralmente, de tamanho muito similar aos autossomos do par 7, e apresenta morfologia acrocêntrica, com exceção de **M. bonariensis** (Fig. 3.1-A) cujo cromossomo identificado como W é metacêntrico.

3.2 - Avaliação das espécies

3.2.1 - Molothrus bonariensis

O único exemplar analisado foi do sexo feminino procedente de Bagé-RS, o qual apresentou $2n = \pm 80$.

Como pode ser visto na Figura 3.2, é possível a identificação morfológica de pelo menos 13 pares de cromossomos. Dentre estes, foram observados dois cromossomos ímpares, um dos quais é submetacêntrico de tamanho intermediário aos pares 3 e 4, e o outro é metacêntrico de tamanho semelhante aos autossomos do par 7. Estes cromossomos estiveram presentes em todas as metáfases analisadas. Uma vez que o indivíduo analisado é do sexo feminino e estes cromossomos são, em tamanho relativo, similares aos cromossomos Z e W de outras espécies bem conhecidas, eles foram considerados como sendo o par sexual.

3.2.2 - Basileuterus leucoblepharus

Apenas um macho coletado em Viçosa foi analisado, o que impossibilitou a identificação dos cromossomos sexuais Z e W. Todavia, um cromossomo subteliocêntrico, de tamanho intermediário aos pares 3 e 4, foi considerado como sendo o cromossomo Z (Fig.3.3). Nesta espécie também foi identificada a morfologia de pelo menos 12 pares de autossomos, e o número cromossômico determinado foi $2n = \pm 76$.

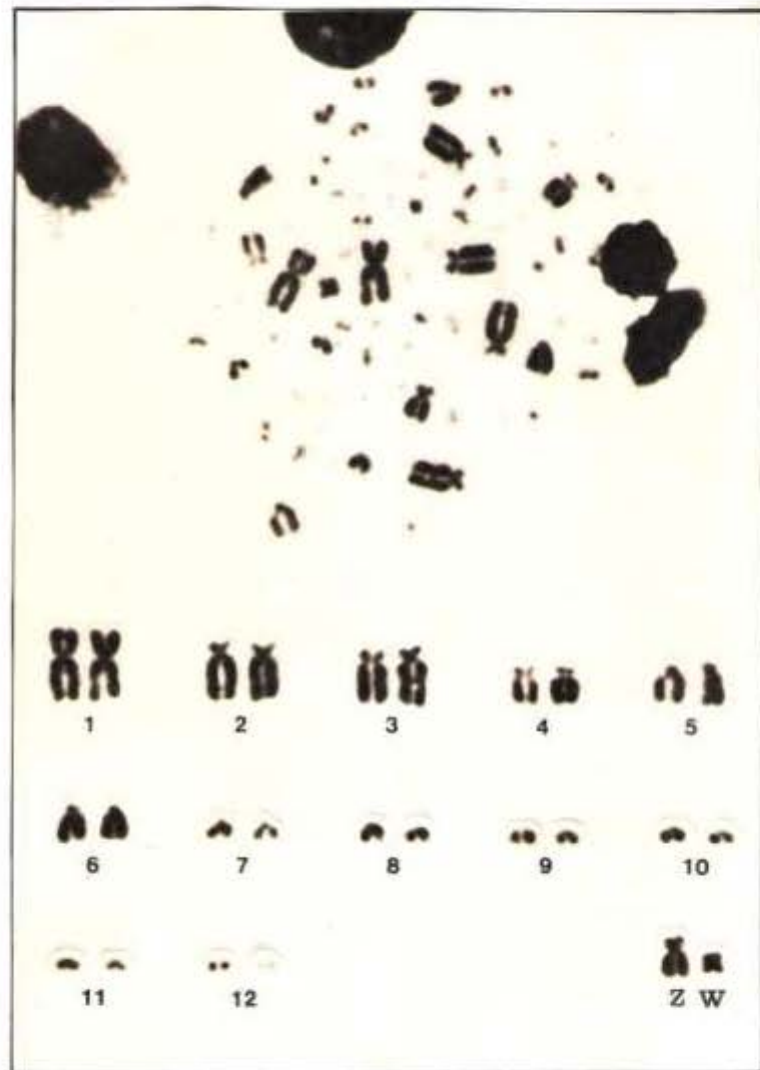


Figura 3.2 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Molothrus bonariensis*.



Figura 3.3 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Basileuterus leucoblepharus*.

3.2.3 - Passerina brissonii

Esta espécie apresenta dimorfismo sexual bastante acentuado: os machos possuem coloração azul e as fêmeas marrom. Nos três indivíduos coletados em Aratiba-RS, embora apresentem coloração de fêmea (Fig. 2.2 C), suas gônadas não foram localizadas durante a taxidermia. Não obstante, o complemento cromossômico destes espécimes não apresenta nenhum par cromossômico heteromórfico (Fig. 3.4). Por este motivo, e por ser comum os machos jovens apresentarem coloração de fêmea (o que é o caso da espécie em questão) os exemplares analisados foram considerados como sendo do sexo masculino. Assim sendo, procedemos como nas demais espécies em que só machos foram analisados, e consideramos os homólogos do 4º maior par de cromossomos, de morfologia metacêntrica, como sendo o sexual.

Como pode ser visto na Figura 3.4 as metáfases obtidas não foram de boa qualidade, mas a identificação da morfologia dos cromossomos não foi prejudicada. O número cromossômico diplóide observado nestes indivíduos foi de $2n = \pm 76$.

3.2.4 - Tangara preciosa

O único exemplar coletado foi uma fêmea procedente de Bagé-RS. O número cromossômico diplóide que este indivíduo apresentou foi cerca de 78.

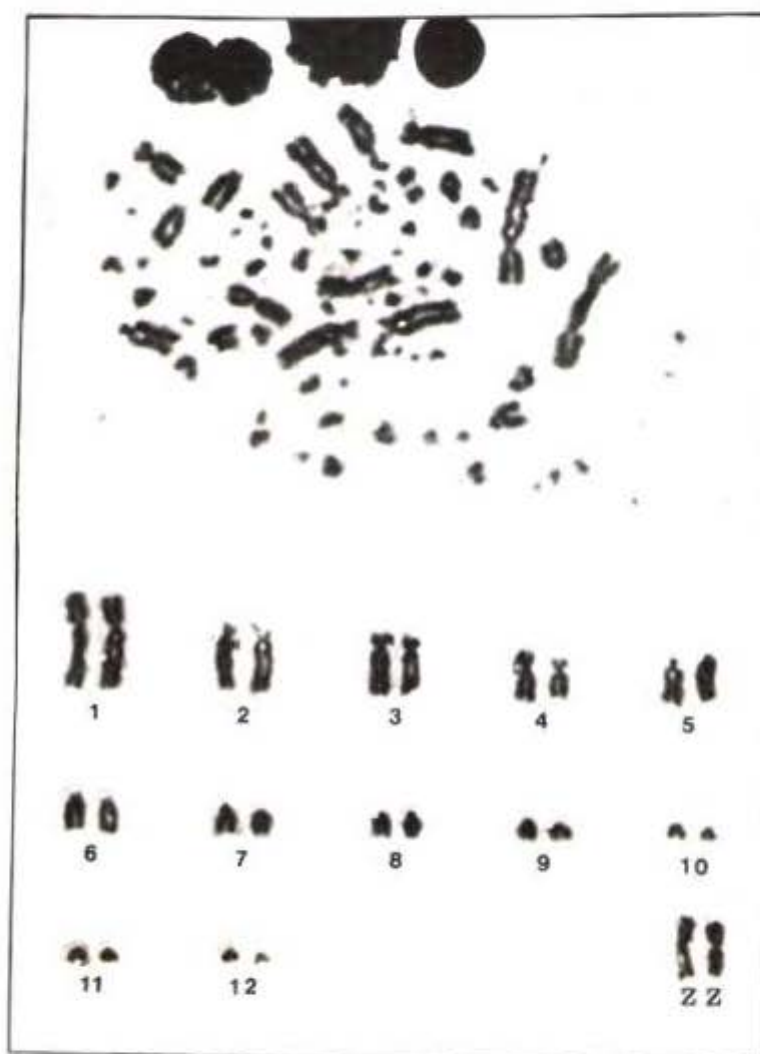


Figura 3.4 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Passerina brissonii*.

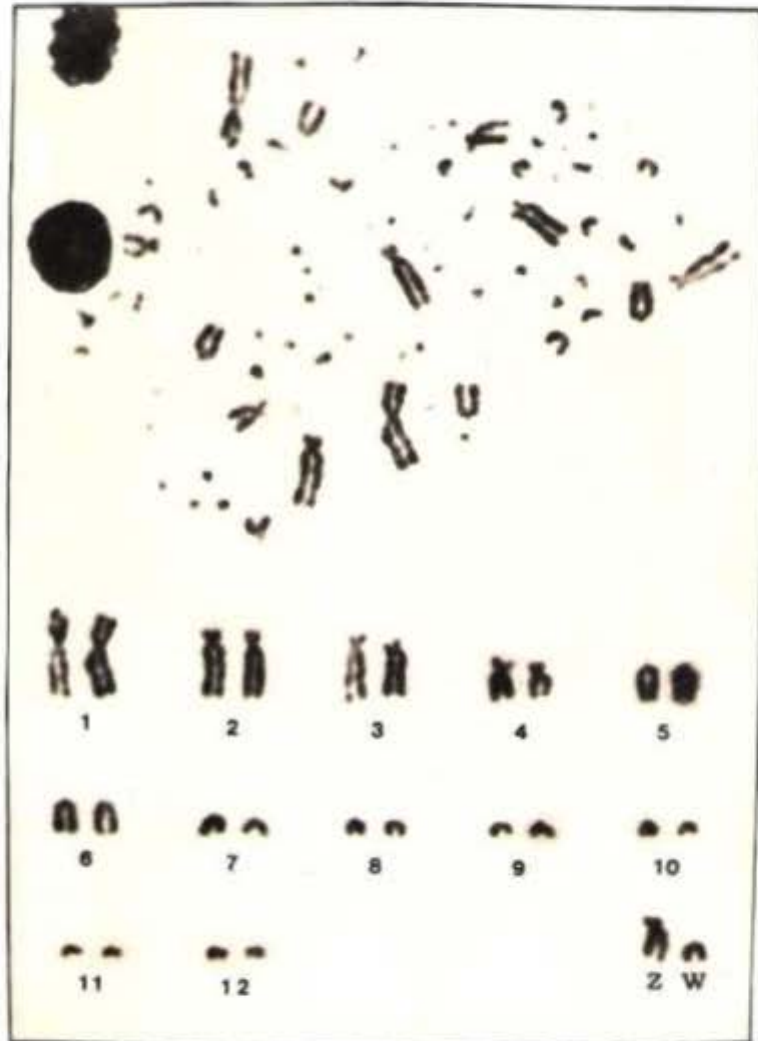


Figura 3.5 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Tangara preciosa*.

Na Figura 3.5 encontra-se a fotografia do complemento cromossômico e o cariótipo desta espécie, e como pode ser visto, é possível identificar a morfologia de pelo menos 12 pares de cromossomos, incluindo os sexuais Z e W, de morfologias subtelocêntrica e acrocêntrica, respectivamente, os quais foram determinados como sendo os sexuais (Z e W) por serem ímpares em todas as células analisadas.

III.2.5 - *Thraupis bonariensis*

Desta espécie também foi analisado apenas um macho procedente de Bagé-RS, o qual apresentou $2n = \pm 78$.

Na Figura 3.6, é possível se verificar claramente a morfologia de pelo menos 13 pares de cromossomos. Nesta mesma Figura, pode ser visto que um par de cromossomos de morfologia metacêntrica foi considerado o sexual Z por apresentar tamanho intermediário aos pares 3 e 4.

3.2.6 - *Thraupis sauaca*

Foram cariotipados cinco indivíduos procedentes de três diferentes localidades do Rio Grande do Sul. Destes, uma fêmea e um macho foram coletados em Bagé, duas fêmeas em Aratiba e um macho em Viçosa (Tab. 2.3). Nenhuma diferença cariotípica entre os espécimes foi observada.

Nas Figuras 3.7 e 3.8 são mostrados os cariótipos

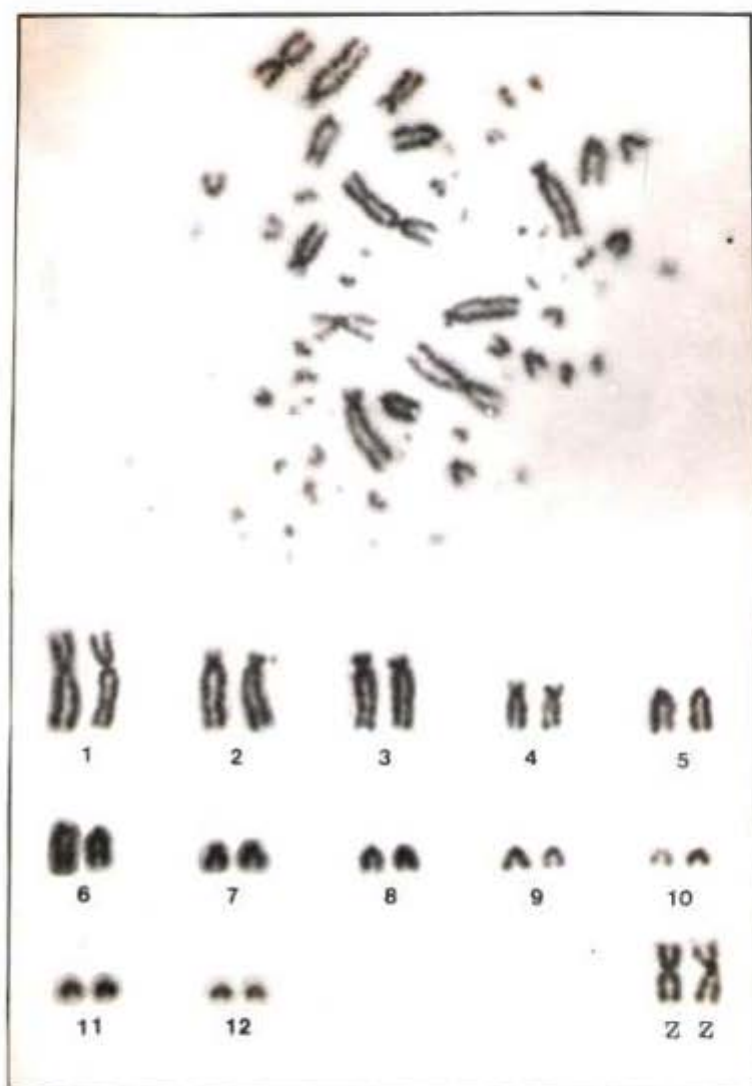


Figura 3.6 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Thraupis bonariensis*.

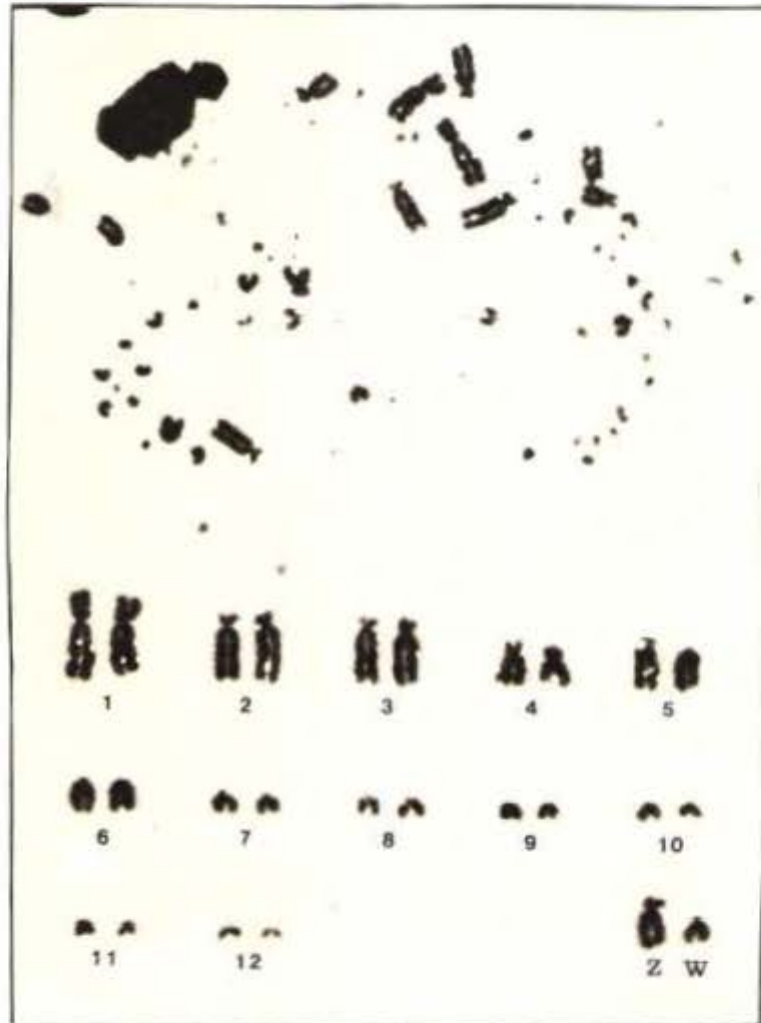


Figura 3.7 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Thraupis sayaca*.



Figura 3.8 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Thraupis sayaca*.

e as fotografias dos complementos cromossômicos de uma fêmea e um macho, respectivamente, onde se pode verificar a morfologia dos 12 maiores pares de autossomos, e dos sexuais Z e W, os quais apresentam morfologias subtelocêntrica e acrocêntrica, respectivamente.

O número cromossômico diplóide desta espécie foi determinado em $2n = \pm 78$.

3.2.7 - *Paroaria coronata*

Desta espécie, foi coletada e analisada apenas uma fêmea procedente de Aratiba-RS, a qual apresentou $2n = \pm 78$.

Como pode ser visto na Figura 3.9, o cromossomo sexual Z é intermediário em tamanho aos pares 3 e 4, e apresenta morfologia acrocêntrica. Nesta mesma Figura, pode-se verificar que o W é um cromossomo acrocêntrico algo maior que os autossomos do par 7, o que facilita sua identificação.

3.2.8 - *Haplospiza unicolor*

Foi analisada uma única fêmea coletada em Cachoeiro do Itapemirim-ES.

Como pode ser visto na Figura 3.10, as metáfases obtidas não foram de boa qualidade, contudo, foi possível a identificação dos cromossomos sexuais Z e W, e a constatação

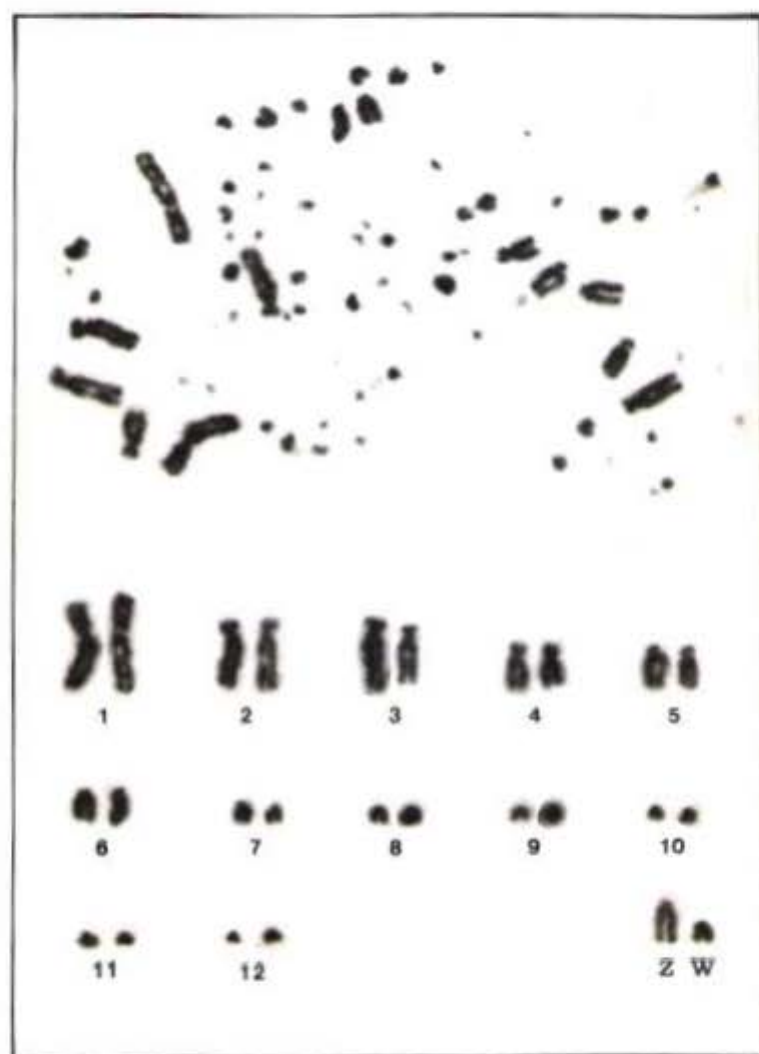


Figura 3.9 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Paroaria coronata*.

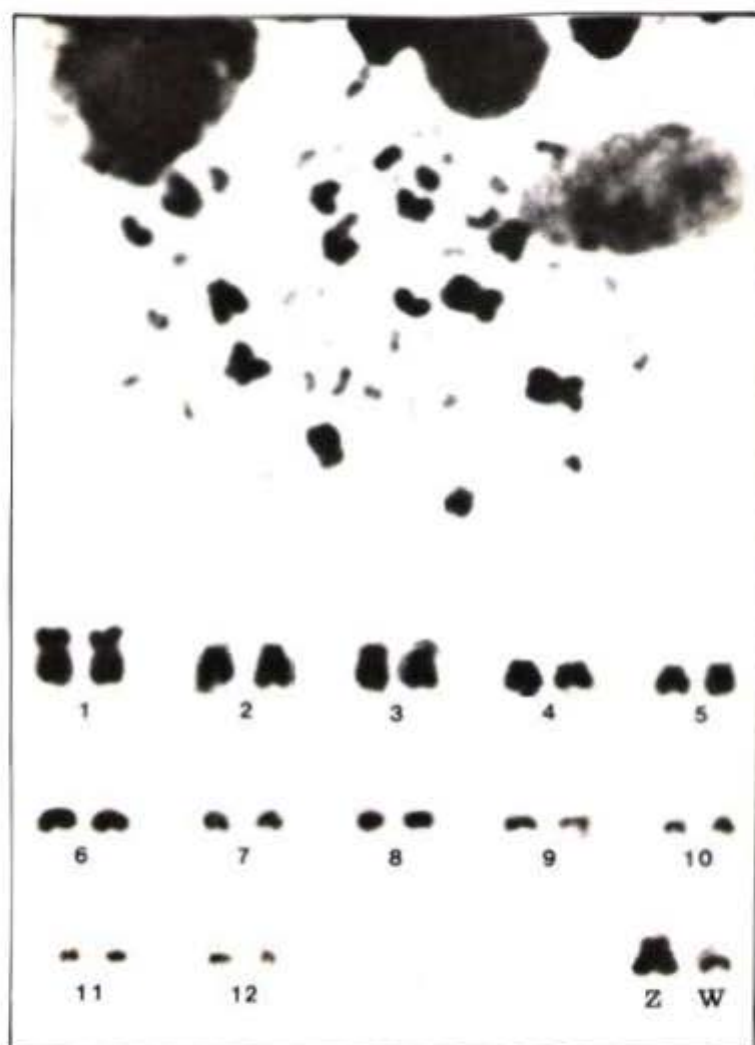


Figura 3.10 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Haplospiza unicolor*.

de que seu cariótipo também é muito semelhante ao das demais espécies analisadas, pelo menos em relação aos cinco primeiros pares e ao cromossomo 2, cuja morfologia é subtelocêntrica. Em relação ao cromossomo sexual W, embora pareça ser acrocêntrico e estar bem identificado, não foi possível uma determinação inequívoca da sua morfologia devido ao grau de condensação em que os cromossomos se encontravam. Pelo mesmo motivo, a determinação do número cromossômico desta espécie em $2n = \pm 78$ deve, provavelmente, ser uma subestimativa do valor real.

3.2.9 - Emperizoides herbicola

Foi analisado apenas um indivíduo do sexo masculino procedente de Viçosa-RS. O número cromossômico diplóide observado foi de pelo menos 82, entretanto, algumas metáfases com $2n = \pm 84$ foram observadas.

Dentre as espécies analisadas, esta foi a única que, em todas as células observadas, foi possível uma diferenciação entre os homólogos dos pares 2 e 3. Nestes cromossomos, embora apresentem o mesmo tamanho, o braço curto do par considerado como o 2 do complemento é maior que o do par 3 (Fig. 3.11). Nesta espécie, a semelhança das demais espécies em que só machos foram analisados, o 4º maior par do complemento foi considerado o Z, cuja morfologia é submetacêntrica.

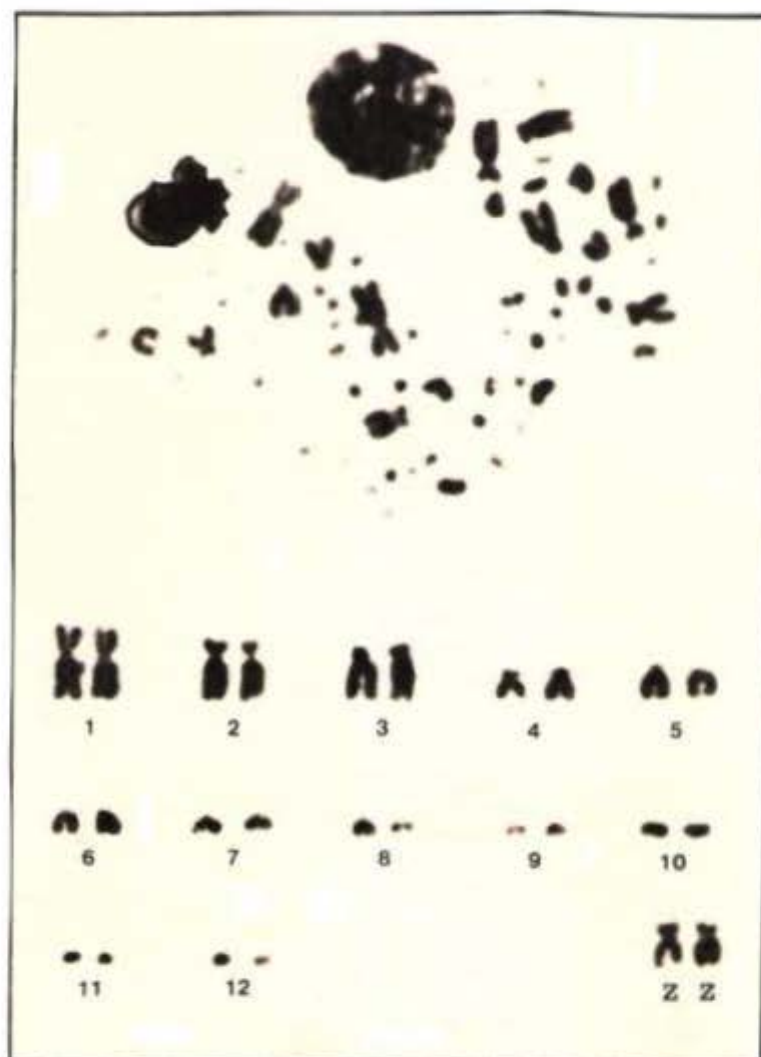


Figura 3.11 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Emberizoides herbicola*.

3.2.10 - Sicalis flavola

Foram analisados seis machos e três fêmeas coletados em duas localidades do Rio Grande do Sul, e nenhuma diferença cariotípica foi observada entre eles.

Dos nove indivíduos analisados, três machos e duas fêmeas foram capturados em Aratiba e três machos e uma fêmea em Bagé (Tab. 2.3).

Nas Figuras 3.12 e 3.13 são mostradas as fotografias dos complementos cromossômicos e os cariótipos de uma fêmea e um macho desta espécie, respectivamente. Como pode ser visto, as metáfases obtidas foram de boa qualidade, permitindo desta forma a identificação morfológica de pelo menos 13 pares de cromossomos. Destes, o cromossomo sexual Z apresenta morfologia subtelocêntrica e o W, acrocêntrica. O número cromossômico contado foi de $2n = \pm 80$.

3.2.11 - Sporophila caerulea

Foram analisados dois indivíduos do sexo masculino procedentes de Aratiba-RS.

Muito embora a qualidade das metáfases não tenha sido boa, foi possível a identificação morfológica de pelo menos 13 pares de cromossomos, e a determinação do número cromossômico em $2n = \pm 80$. Na Figura 3.14 encontra-se o complemento cromossômico e o cariótipo desta espécie, no qual o 4º maior par de cromossomos (submetacêntrico) também foi

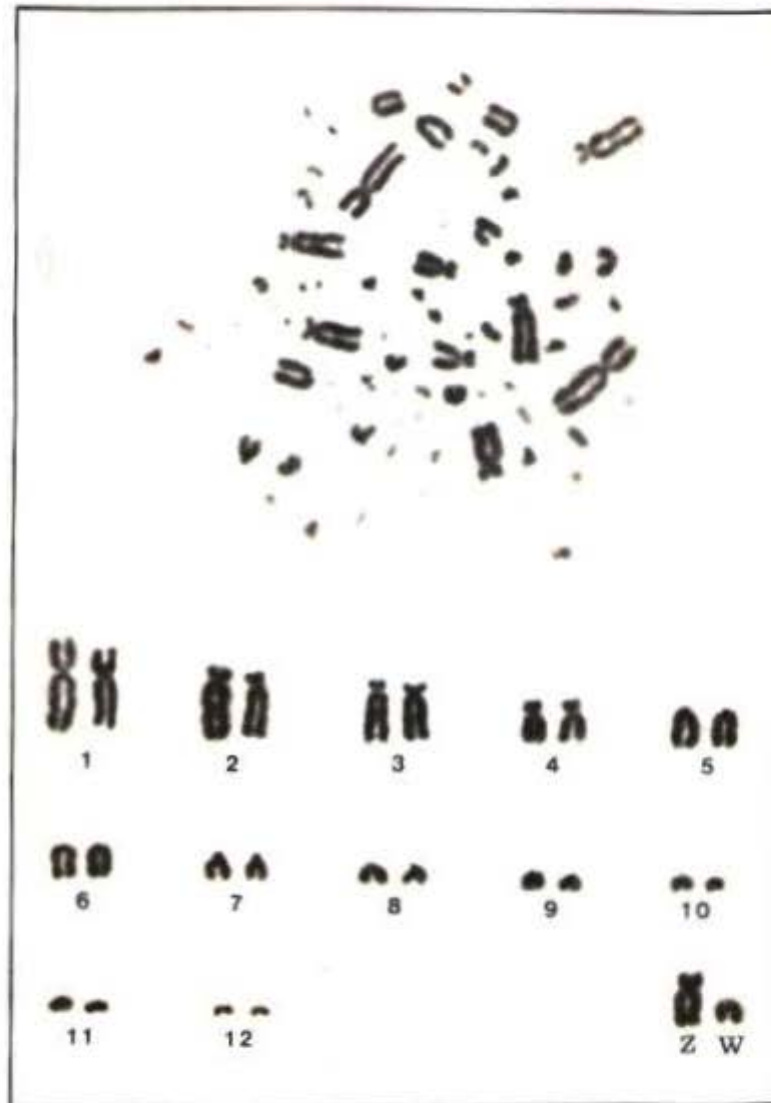


Figura 3.12 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Sicalis flaveola*.



Figura 3.13 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um macho de *Sicalis flaveola*.

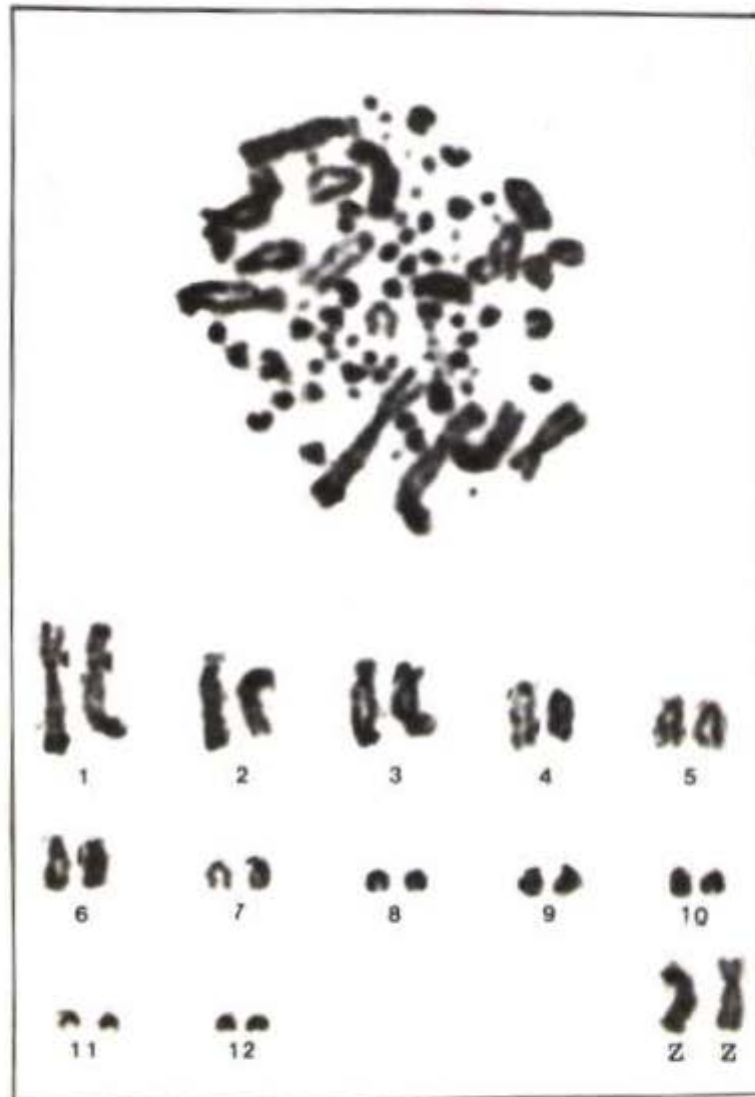


Figura 3.14 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um saccho de *Sporophila caerulescens*.

aceito como sendo o sexual. Nesta mesma Figura, pode-se verificar que os pares 4, 5 e 6 são aproximadamente do mesmo tamanho, e apresentam a mesma morfologia (acrocêntrica) o que não ocorre nas demais espécies analisadas.

3.2.12 - *Zonotrichia capensis*

3.2.12.1 - Análise dos cariótipos e polimorfismo

Foram analisados 61 indivíduos, dos quais cinco são procedentes do Estado do Espírito Santo e 56 de quatro localidades do Rio Grande do Sul (Tab. 2.3).

O cariótipo desta espécie já foi anteriormente descrito por Lucca (1974b), e um polimorfismo cromossômico envolvendo dois pares do complemento foi descrito e analisado por Lucca e Rocha (1985), Rocha (1987) e Rocha e cols. (1988). Na Figura 3.1-L foi mostrado um cariótipo parcial de um indivíduo duplo-heterozigoto desta espécie (*Z. capensis*). Entretanto, uma descrição dos cromossomos será apresentada aqui para melhor esclarecimento.

Em todos os espécimes estudados o primeiro par de cromossomos é submetacêntrico e homomórfico. Os próximos 4 elementos do complemento (pares 2 e 3) são de tamanhos semelhantes, podendo todos apresentarem a forma subteloicêntrica ou no máximo dois cromossomos apresentarem a forma submetacêntrica. Uma vez que estes elementos compreendem um total de 4 cromossomos e não mais do que

dois cromossomos submetacêntricos são observados, esta variação foi interpretada como um polimorfismo no par 2 ou 3, mas não em ambos.

O cromossomo sexual Z tem um centrômero subterminal e é intermediário em comprimento aos pares 3 e 4. Nas fêmeas, um dos cromossomos Z é substituído por um pequeno acrocêntrico (cromossomo W) algo maior do que os autossomos do par 8.

Os três próximos pares de cromossomos são aproximadamente iguais em tamanho e morfologia (subtelocêntrica), porém, com uma ligeira diferenciação no tamanho dos braços curtos, além de um polimorfismo no par considerado como 4, o qual também pode ser encontrado na forma metacêntrica além da subtelocêntrica.

O restante dos cromossomos (pares 7 em diante) decresce em tamanho e, parece ser comum a todos os exemplares examinados e, até onde se pode visualizar a morfologia dos cromossomos, geralmente até o par 12, são todos subtelocêntricos, com exceção do par 9 que é acrocêntrico (Figs. 3.15 a 3.20). Entretanto, em raras metáfases, como por exemplo a da Figura 3.17, pode-se verificar que pelo menos o 132 e 142 pares de autossomos são também acrocêntricos.

Na Figura 3.21 foram reunidos os sete maiores pares de autossomos, mais o sexual de cada um dos arranjos cromossômicos (citótipos) observados. A ocorrência destas quatro formas cromossômicas, ou seja, a presença destes dois pares polimórficos, possibilita a combinação de nove citótipos mas, como visto na Figura 3.21, apenas seis deles



Figura 3.15 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea da espécie *Zonotrichia capensis*, dupla-heterozigota para os pares 3 e 4.

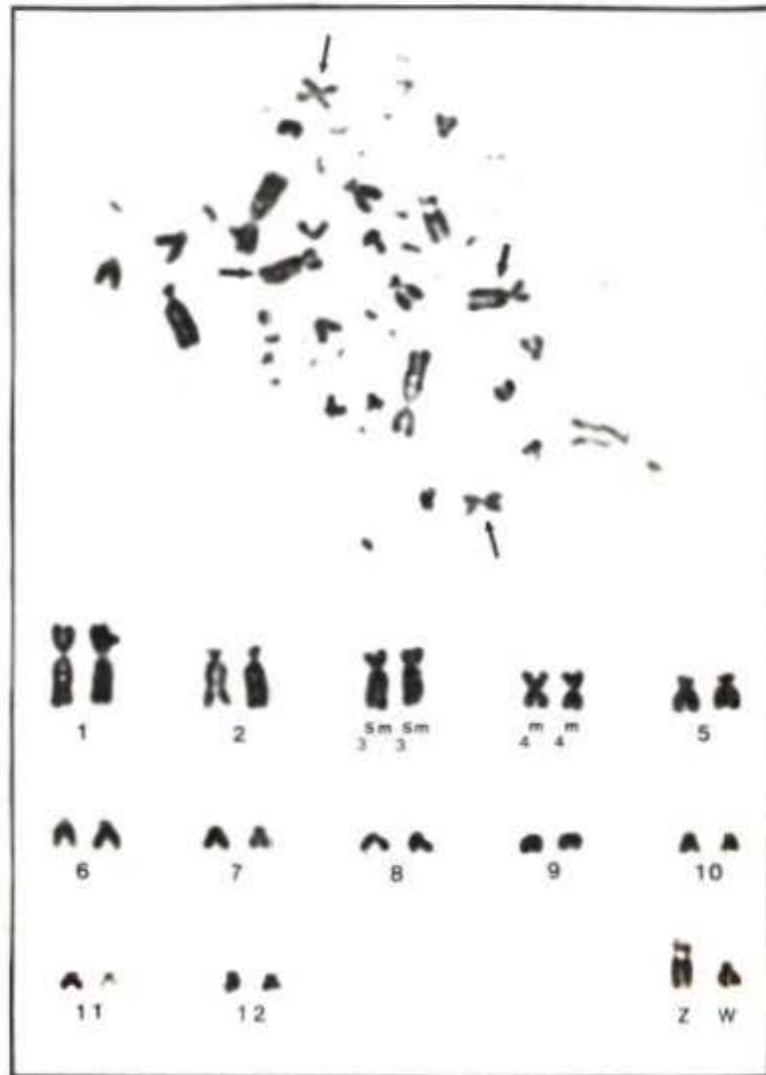


Figura 3.16 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Zonotrichia capensis*, dupla-homozigota para as formas submetacêntrica no par 3 e metacêntrica no par 4.

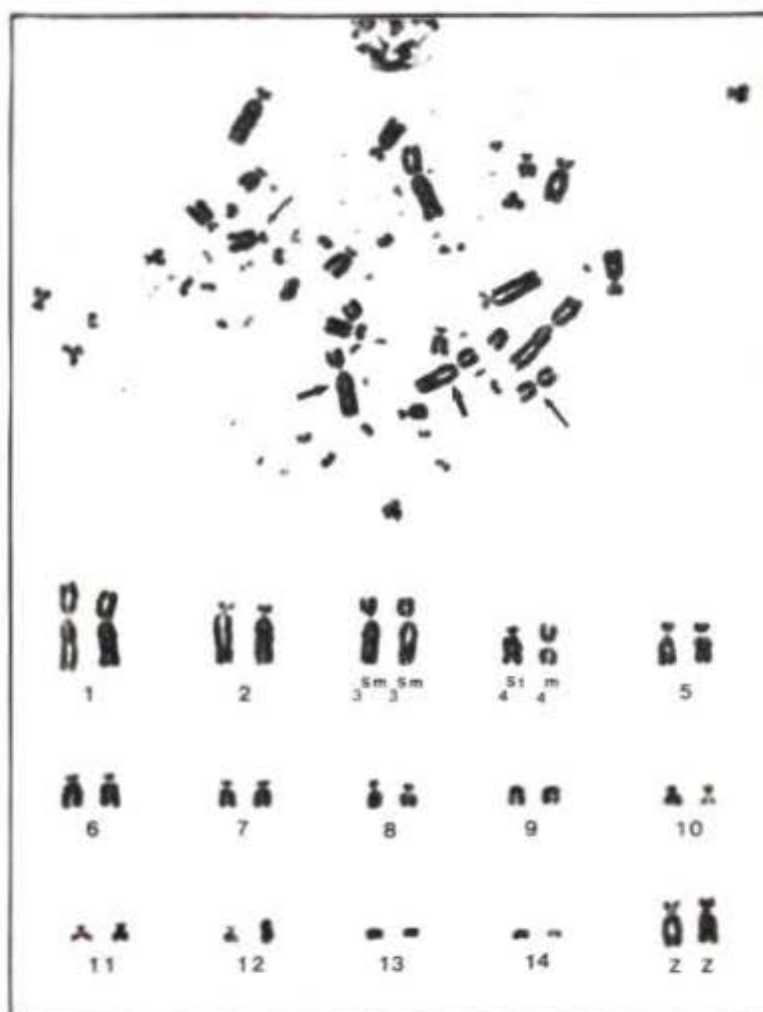


Figura 3.17 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de um saco de *Zonotrichia capensis*, homozigoto para a forma subacetáncrica no par 3 e heterozigoto para o par 4.

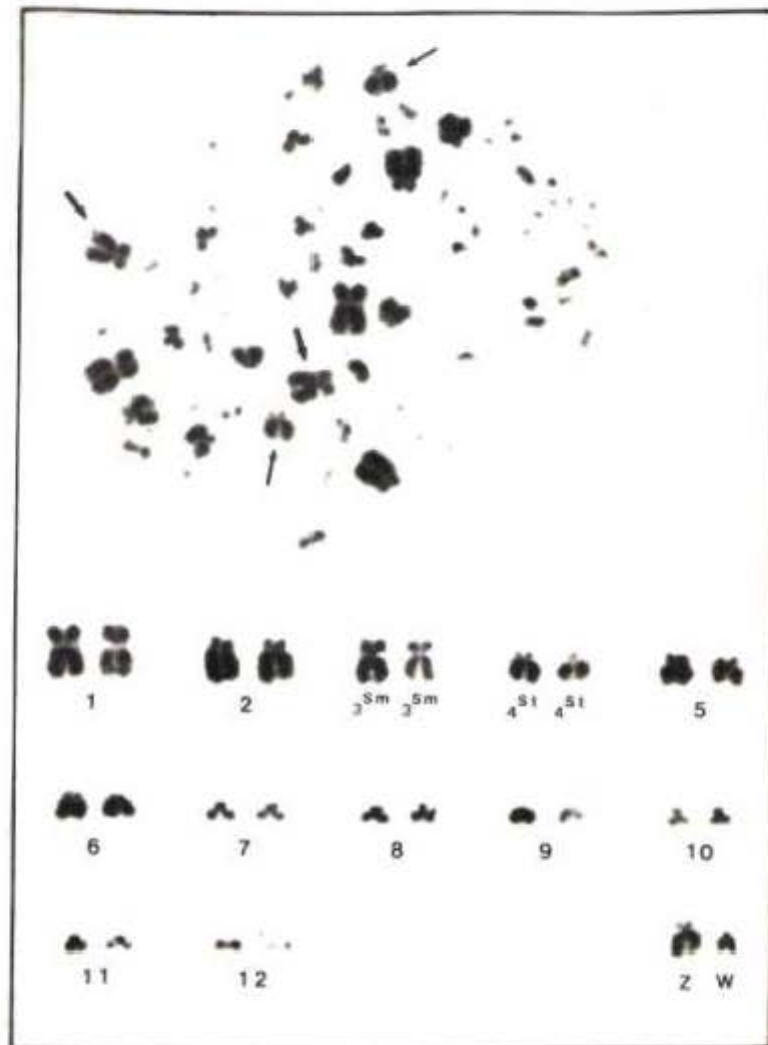


Figura 3.18 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Zonotrichia capensis*, dupla-homozigota para as formas submetacêntrica no par 3 e subteloicêntrica no par 4.



Figura 3.19 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Zonotrichia capensis*, heterozigota para o par 3 e homozigota para forma metacêntrica no par 4.

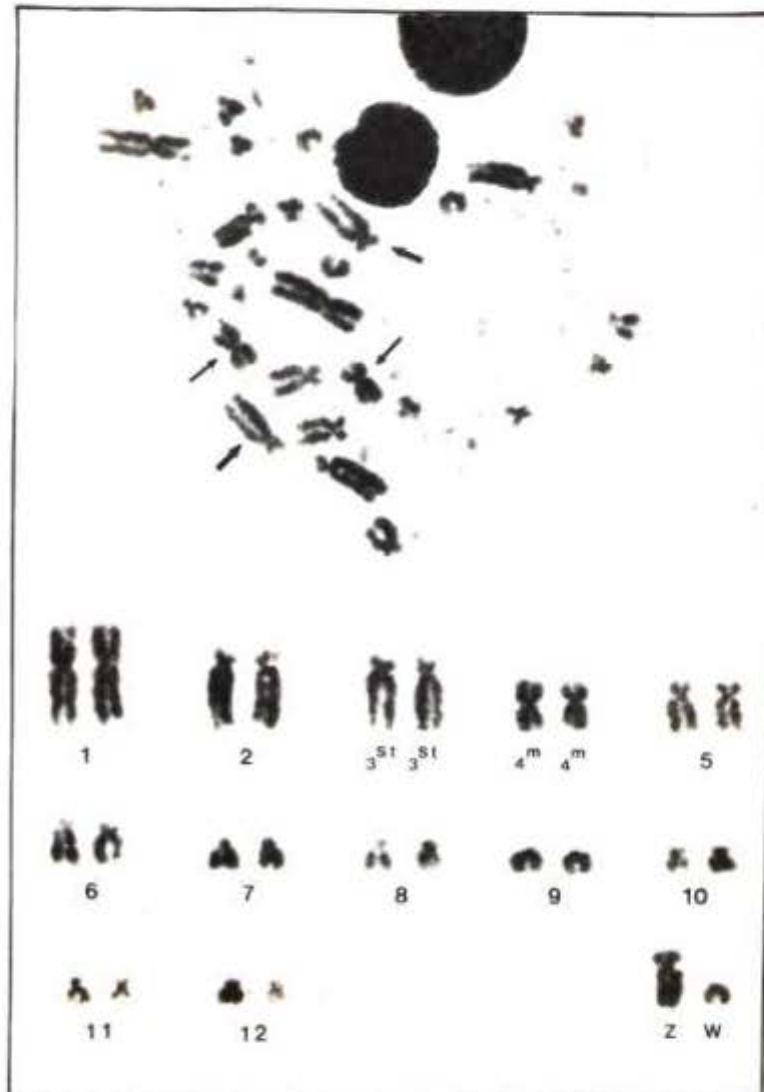


Figura 3.20 - Metáfase mitótica e cariótipo parcial de uma fêmea de *Zonotrichia capensis*, dupla-homozigota para as formas subteloicêntrica no par 3 e metacêntrica no par 4.

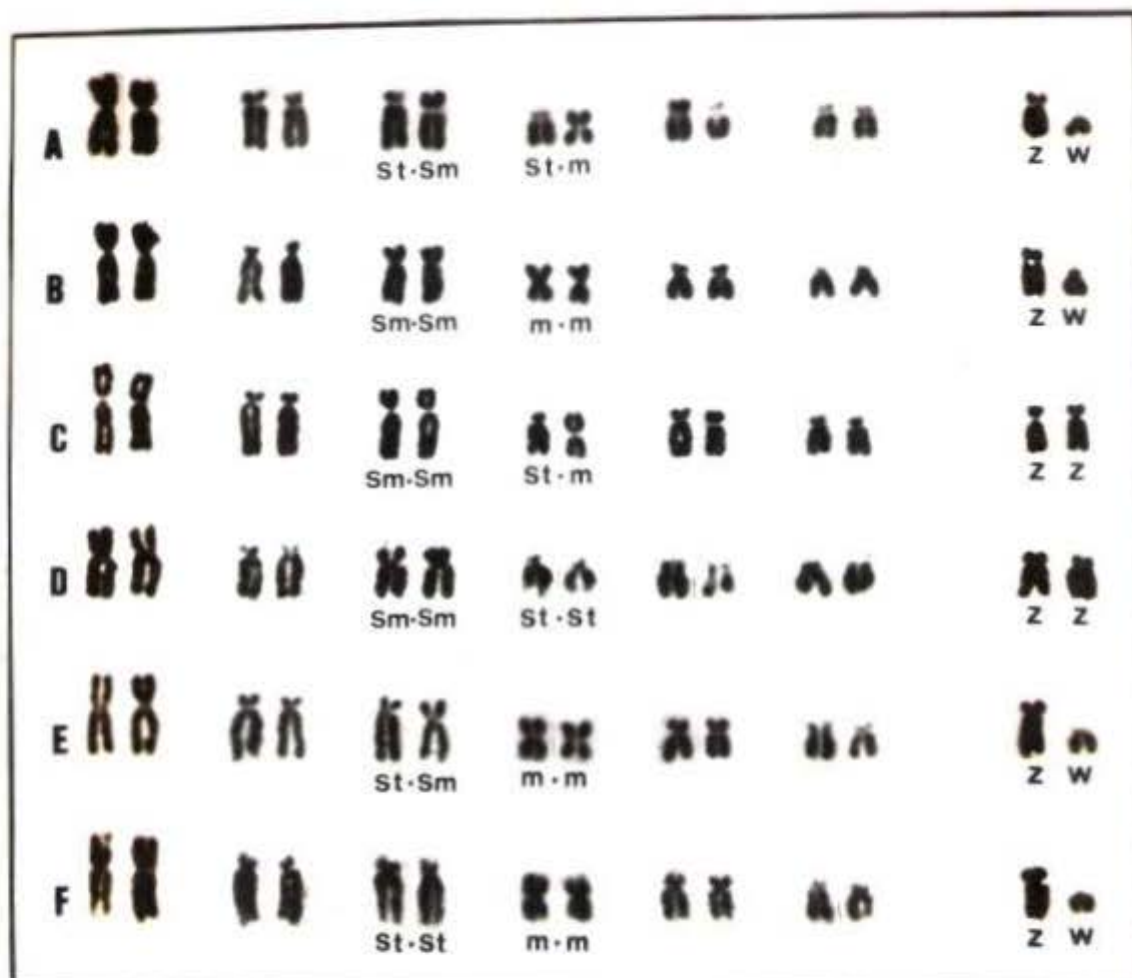


Figura 3.21 - diferentes citótipos observados em espécimes de *Zonotrichia capensis*: A - duplo heterozigoto, B - duplo homozigoto para as formas submetacêntrica no par 3 e metacêntrica no par 4, C - homozigoto para a forma submetacêntrica no par 3 e heterozigoto para o par 4, D - duplo homozigoto para as formas submetacêntrica no par 3 e subteloicêntrica no par 4, E - heterozigoto para o par 3 e homozigoto para a forma metacêntrica no par 4, F - duplo homozigoto para as formas subteloicêntrica no par 3 e metacêntrica no par 4.

foram observados nos 61 indivíduos analisados. Contudo, as quatro diferentes formas cromossômicas observadas nos pares 3 e 4 foram encontradas em todos os locais de coleta, mesmo no Espírito Santo, no qual foram coletados apenas 5 exemplares.

Nas Tabelas 3.2 e 3.4, os indivíduos coletados em Viamão e Porto Alegre foram considerados como uma única amostra, devido a proximidade dos locais de coleta (cerca de 8 Km em linha reta), e ao fato destas populações não apresentarem diferença significativa na frequência das diferentes formas cromossômicas ($P > 0,05$ nos pares 3 e 4).

A percentagem de cada citótipo em cada local de coleta e sexo é dada na Tabela 3.2. Os arranjos $3^{st} 3^{st} 4^{st} 4^{st}$, $3^{st} 3^{st} 4^{st} 4^{m}$ e $3^{st} 3^{sm} 4^{st} 4^{st}$ não foram encontrados em nenhum dos indivíduos coletados. Embora o número de indivíduos analisados por local de coleta seja muito reduzido para permitir uma análise estatística acurada, uma avaliação da distribuição dos citótipos nas localidades não apresenta diferença significativa em relação ao esperado pelo teste de χ^2 ($P > 0,05$). Salientamos, entretanto, que para se aplicar este teste foram somadas, em cada localidade, todas as classes onde os valores esperados foram inferiores a cinco.

Na Tabela 3.2 é dada a frequência de cada uma das combinações possíveis para cada par polimórfico, por local de coleta e sexo. Os valores observados, mostrados nesta Tabela, também não diferem significativamente do esperado ($P > 0,05$).

Na Tabela 3.4-A é dada a frequência de cada uma das

TABELA 3.2. Frequência dos diferentes citótipos observados em cada local de coleta e sexo na espécie *Zonotrichia capensis*.

CITÓTIPOS	F R E Q U Ê N C I A						
	RS-1 N=20	RS-2 e 3 N=26	RS-4 N=10	ES N=5	Machos N=30	Fêmeas N=31	Total N=61
3 st 3 st 4 st 4 st	---	---	---	---	---	---	---
3 st 3 st 4 st 4 ^M	---	---	---	---	---	---	---
3 st 3 st 4 ^M 4 ^M	---	2 (7.7%)	---	---	1 (3.3%)	1 (3.2%)	2 (3.3%)
3 st 3 SM 4 st 4 st	---	---	---	---	---	---	---
3 st 3 SM 4 st 4 ^M	2 (10.0%)	2 (7.7%)	---	1 (20.0%)	2 (6.7%)	3 (9.7%)	5 (8.2%)
3 st 3 SM 4 ^M 4 ^M	1 (5.0%)	7 (26.9%)	1 (10.0%)	---	5 (16.7%)	4 (12.9%)	9 (14.7%)
3 SM 3 SM 4 st 4 st	3 (15.0%)	---	---	4 (80.0%)	4 (13.3%)	3 (9.7%)	7 (11.5%)
3 SM 3 SM 4 st 4 ^M	12 (60.0%)	5 (19.2%)	4 (40.0%)	---	9 (30.0%)	12 (38.7%)	21 (34.4%)
3 SM 3 SM 4 ^M 4 ^M	2 (10.0%)	10 (38.5%)	5 (50.0%)	---	9 (30.0%)	8 (25.8%)	17 (27.9%)

RS-1 = Aratiba-RS; RS-2 e 3 = Viçosa e Porto Alegre-RS; RS-4 = Bagé-RS; ES = Cachoeiro do Itapemirim-ES; N = Tamanho da amostra.

obs: Os valores acima não diferem significativamente do esperado (P > 0,05).

TABELA 3.3. Frequência dos diferentes arranjos cromossômicos observados nos pares 3 e 4 de *Zonotrichia capensis* em cada local de coleta e sexo.

ARRANJOS CROMOSSÔMICOS	F R E Q U Ê N C I A						
	RS-1 N=20	RS-2 e 3 N=26	RS-4 N=10	ES N=5	Machos N=30	Fêmeas N=31	Total N=61
3 st 3 st	---	2 (8%)	---	---	1 (3%)	1 (3%)	2 (3%)
3 st 3 sm	3 (15%)	9 (35%)	1 (10%)	1 (20%)	7 (23%)	7 (23%)	14 (23%)
3 sm 3 sm	17 (85%)	15 (58%)	9 (90%)	4 (80%)	22 (73%)	23 (74%)	45 (74%)
4 st 4 st	3 (15%)	---	---	4 (80%)	4 (13%)	3 (10%)	7 (11%)
4 st 4 sm	14 (70%)	7 (27%)	4 (40%)	1 (20%)	11 (38%)	15 (48%)	26 (43%)
4 sm 4 sm	3 (15%)	19 (73%)	6 (60%)	---	15 (50%)	13 (42%)	28 (46%)

RS-1 = Aratiba-RS; RS-2 e 3 = Viação e Porto Alegre-RS; RS-4 = Bagé-RS; ES = Cachoeiro do Itapemirim-ES; N = Tamanho da amostra.

obs: Os valores acima não diferem significativamente do esperado (P > 0,05).

TABELA 3.4. A - Frequência das diferentes formas cromossômicas observadas nos pares 3 e 4 de *Zonotrichia capensis* em cada local de coleta e sexo. B - Análise estatística da comparação dos dados contidos em A, entre as populações; estando no triângulo superior (à direita) os resultados referentes ao par cromossômico 3 e no triângulo inferior (à esquerda) os referentes ao par 4. Os dados relativos à população de Botucatu-SP (SP) foram retirados de Rocha e cols.(1988), e os relativos à população do Paraná (PR) foram cedidos por Souza e Lucca (comunicação pessoal).

A

FORMAS CROMOSSÔMICAS	F R E Q U Ê N C I A						
	RS-1 N=20	RS-2 e 3 N=26	RS-4 N=10	ES N=5	Machos N=30	Fêmeas N=31	Total N=61
3 st	3 (7.5%)	13 (25.0%)	1 (5.0%)	1 (10.0%)	9 (15.0%)	9 (14.5%)	18 (14.8%)
3 ^{sa}	37 (92.5%)	39 (75.0%)	19 (95.0%)	9 (90.0%)	51 (85.0%)	53 (85.5%)	104 (85.2%)
4 st	20 (50.0%)	7 (13.5%)	4 (20.0%)	9 (90.0%)	19 (31.7%)	21 (33.9%)	40 (32.8%)
4 ^a	20 (50.0%)	45 (86.5%)	16 (80.0%)	1 (10.0%)	41 (68.3%)	41 (66.1%)	82 (67.2%)

B

	RS-1	RS-2 e 3	RS-4	ES	SP	PR
RS-1	----- -----	4,819 *	6,704 **	0,068 NS	15,809 ***	31,435 ***
RS-2 e 3	14,557 ***	----- -----	3,689 NS	1,079 NS	4,346 *	15,391 ***
RS-4	9,667 **	0,477 NS	----- -----	0,267 NS	9,964 **	18,073 ***
ES	5,255 *	25,656 ***	13,305 ***	----- -----	3,876 *	7,585 **
SP	18,999 ***	77,619 ***	37,644 ***	0,242 NS	----- -----	5,572 *
PR	46,855 ***	170,313 ***	79,028 ***	0,010 NS	2,326 NS	----- -----

RS-1 = Aratiba-RS ; RS-2 e 3 = Viamão e Porto Alegre-RS ; RS-4 = Bagé-RS ; ES = Cachoeiro do Itapemirim-ES ; SP = Botucatu-SP ; PR = Paraná ; N = Tamanho da amostra ; NS = Não significante ; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

formas cromossômicas dos pares 3 e 4 em cada local de coleta e sexo. Como pode ser visto, nesta Tabela, a frequência das diferentes formas cromossômicas é típica para cada localidade. Na Tabela 3.4-B são mostrados os resultados obtidos no teste de χ^2 , quando comparados os valores observados para as diferentes formas cromossômicas dos pares 3 e 4 entre as populações analisadas aqui, e também entre as populações de Botucatu-SP (SP) e Paraná (PR). Os resultados relativos à população SP, mostrados nesta tabela, foram obtidos a partir dos dados contidos no trabalho de Rocha e cols.(1988), e os relativos à população PR foram obtidos a partir dos dados gentilmente cedidos por Souza e Lucca (comunicação pessoal).

Uma vez que os indivíduos coletados em Cachoeiro do Itapemirim-ES constituem uma amostra bastante distinta e reduzida, nas Tabelas 3.5 e 3.6 esta população foi excluída, e os indivíduos coletados no Estado do Rio grande do Sul foram considerados como um única amostra. Na Tabela 3.5 é dada a frequência de cada uma das diferentes formas cromossômicas observadas nos machos, nas fêmeas e em ambos os sexos dos indivíduos pertencentes à espécie **Z. capensis** que foram coletados no Estado do Rio Grande do Sul, e nenhuma diferença significativa entre machos e fêmeas foi observada ($P > 0,05$). Na Tabela 3.6-A e B encontram-se as frequências observadas e esperadas de cada uma das possíveis combinações dos pares 3 e 4, e nenhuma diferença significativa foi também observada ($P > 0,05$ nos pares cromossômicos 3 e 4).

TABELA 3.5 Freqüência das diferentes formas cromossômicas observadas nos pares 3 e 4 de machos e fêmeas de *Zonotrichia capensis* coletados no Estado do Rio Grande do Sul.

FORMA CROMOSSÔMICA	MACHOS N=27	FÊMEAS N=29	MACHOS E FÊMEAS N=56
3 st	0.148	0.155	0.152
3 sm	0.852	0.845	0.848
4 st	0.259	0.293	0.277
4 ^m	0.741	0.707	0.723

N= Tamanho da amostra.

obs. As diferenças observadas entre machos e fêmeas não são significativas ($P > 0,05$).

TABELA 3.6 Frequência observada e esperada para os três arranjos do 3º e 4º pares cromossômicos (A e B, respectivamente) dos espécimes de *Zonotrichia capensis* coletados no Rio Grande do Sul.

A - Par 3

ARRANJO CROMOSSÔMICO	FREQUÊNCIA		χ^2
	OBSERVADA	ESPERADA	
3 st 3 st	2	1.294	0.385
3 st 3 sm	13	14.436	0.143
3 sm 3 sm	41	40.270	0.013
TOTAL	56	56.000	0.541 ^{NS}

B - Par 4

ARRANJO CROMOSSÔMICO	FREQUÊNCIA		χ^2
	OBSERVADA	ESPERADA	
4 st 4 st	3	4.297	0.392
4 st 4 ^m	25	22.430	0.295
4 ^m 4 ^m	28	29.273	0.055
TOTAL	56	56.000	0.742 ^{NS}

NS = Não significativo

3.2.12.2 - Região organizadora do nucléolo

Foi analisada a região organizadora do nucléolo (banda NOR) em 8 exemplares de *Z. capensis* e, em todos, foi observado que apenas dois microcromossomos são marcados pela prata, os quais algumas vezes encontram-se associados (Fig. 3.22-A e B). Nestas Figuras pode ser verificado que os microcromossomos responsáveis pela organização do nucléolo são de proporções reduzidas, e a marcação NOR é maior que os mesmos. Por este motivo, para identificar a presença de cromossomo, as lâminas tiveram que ser descoradas da prata, e recoradas com Giemsa.

3.2.12.3 - Coloração com fluorocromos

Esta metodologia foi aplicada em apenas um macho de *Z. capensis*, cujo citótipo é $3^{st} 3^{sm} 4^m 4^n$.

Como pode ser visto na Figura 3.23-A e B, a intensidade das bandas obtidas com CMA (cromomicina A) e DAPI (diaminophenilindol) não foi suficiente para permitir uma diferenciação longitudinal dos cromossomos, o que torna os dados não muito esclarecedores sob o ponto de vista do polimorfismo. Porém, alguns resultados interessantes podem ser observados nesta Figura.

Os seis maiores pares de cromossomos mais o sexual Z são CMA positivo nas regiões teloméricas, sendo que DAPI é

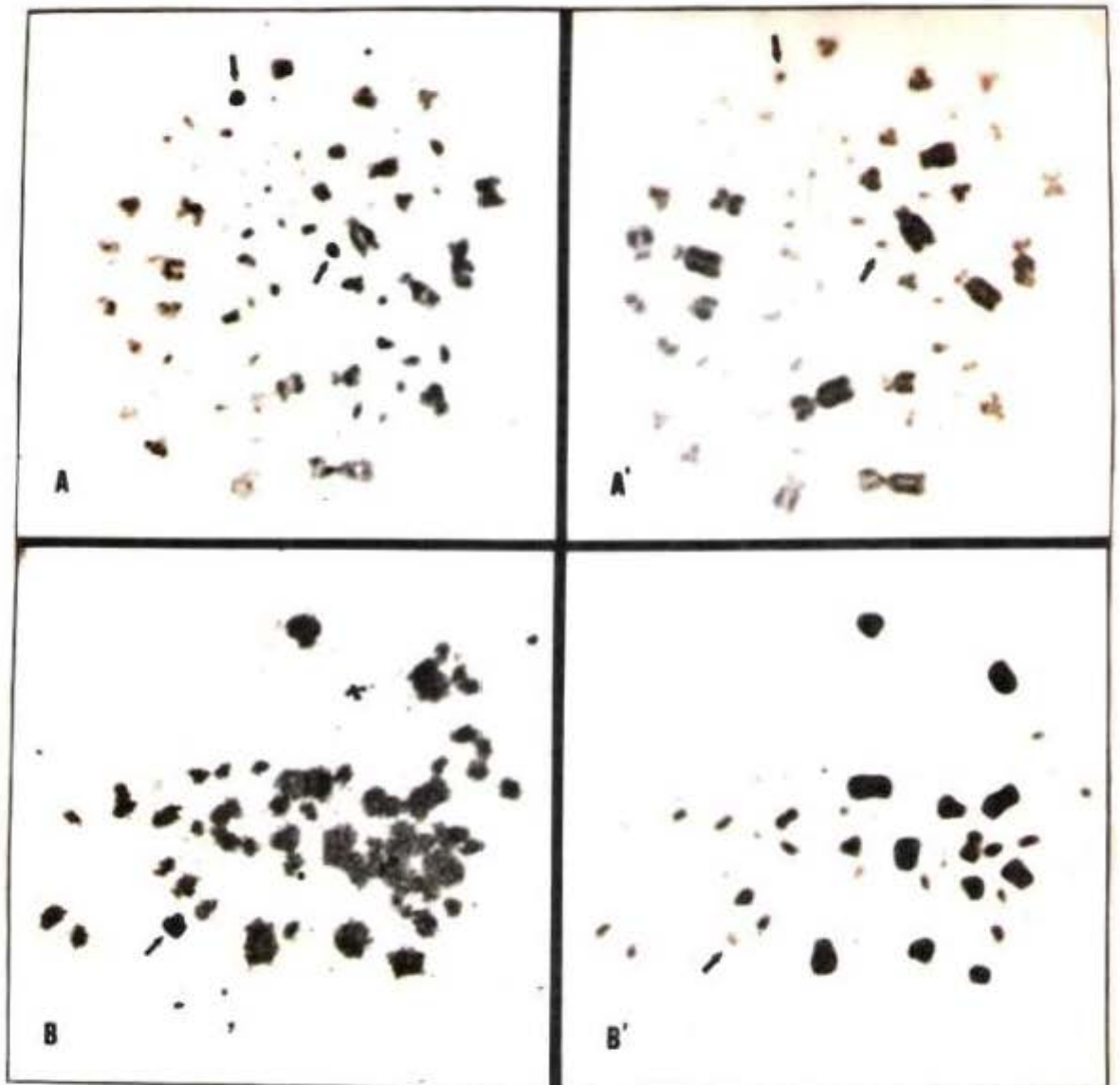


Figura 3.22 - Região organizadora do nucléolo em *Zonotrichia capensis*. Em A e B as setas indicam os cromossomos marcados pela prata, sendo que em B estes cromossomos encontram-se associados. Em A' e B' são mostradas as mesmas metáfases que em A e B, respectivamente, coradas apenas com Giemsa.

incorporada mais ao longo do cromossomo, apresentando bandas discretas.

Os seis próximos pares de cromossomos (assinalados na Figura com um ponto de exclamação) apresentam com nitidez a região pericentromérica e todo o braço curto marcado positivamente com CMA. Mesmo o cromossomo 9, que não possui braço curto identificável, marca positivamente a região proximal do braço longo com CMA. O corante DAPI, cora mais intensamente a região do braço longo, porém não se consegue detectar bandas, talvez pelo tamanho reduzido destes cromossomos.

Pelo menos três pares de cromossomos, menores que os anteriores, são CMA e DAPI negativos na região centromérica (assinalados na Figura com um asterisco).

Um par de cromossomos, provavelmente o 139 ou 149 (indicado na Figura por uma seta grande), marca positivamente todo o braço longo com CMA.

Além destas, pode-se observar também que os microcromossomos, de um modo geral, coram mais intensamente com CMA do que com DAPI, e que nos macrocromossomos ocorre o inverso.

4 - D I S C U S S Ã O

4.1 - Comparação geral dos cariótipos estudados

A similaridade cromossômica das aves vem sendo objeto de estudo desde a década de 60. Ohno e cols. (1964), por exemplo, realizaram um estudo citogenético em espécies pertencentes a cinco ordens da subclasse Carinatae, e propuseram uma similaridade cariotípica para o grupo. Takagi e Sasaki (1974), mostraram que os padrões de bandeamento G, em nove ordens, são praticamente idênticos, pelo menos em relação aos três maiores pares de cromossomos; os quais seriam similares aos de alguns répteis. Baseando-se nesta similaridade, estes autores propuseram um cariótipo ancestral a estes dois grupos. Stock e Mengden (1975) concordaram com a existência de um conservadorismo cariotípico, mas discordaram de Takagi e Sasaki (1974) em relação à similaridade entre as ordens, e refutaram por completo a idéia de um cariótipo ancestral comum às aves e répteis. Tegelström e Rytman (1981) analisaram dados pertinentes a 234 espécies de aves existentes na literatura, e concluíram em favor de um cariótipo padrão, o qual seria composto por 8 pares de macro e 32 pares de microcromossomos.

Os resultados obtidos aqui colaboram com a idéia de um conservadorismo, pelo menos dentro da família Fringillidae, uma vez que nenhuma diferença cariotípica

visível foi encontrada, que não pudesse ser explicada por inversões cromossômicas. *E. herbicola* (Fig. 3.1-I), por exemplo, difere das demais espécies analisadas por apresentar o 2º par cromossômico submetacêntrico ao invés de subteloentrico, e *S. caeruleus* (Fig. 3.1-K) difere por apresentar os pares 4, 5 e 6 todos acrocêntricos, enquanto no restante das espécies apenas dois destes pares são acrocêntricos e um é subteloentrico. Interessantemente estas variações ocorrem nos pares 2 ou 3; 4, 5 ou 6; os quais apresentam formas cromossômicas polimórficas em várias espécies dos gêneros *Junco*, *Zonotrichia* e *Cardinalis* (família Fringillidae).

Como já mencionado, *Z. capensis* foi a espécie cariotipicamente mais distinta, por apresentar um número relativamente maior de cromossomos subteloentricos, o que pode ser melhor visualizado na Figura 3.17. Esta diferença poderia ser explicada por translocações entre macro e microcromossomos. Entretanto, o número de macro e microcromossomos se manteve constante entre as espécies analisadas e as descritas na literatura.

Como pode ser visto na Tabela 3.1, o número cromossômico variou de 76 em *B. leucoblepharus* e *P. brissonii* a 82 em *E. herbicola*. Na literatura, uma variação de amplitude similar foi observada dentro desta família. Considerando-se as dificuldades existentes em se contar os menores microcromossomos, esta variação no número cromossômico poderia ser desconsiderada. Além disto, nestas espécies não há uma delimitação clara entre macro e

microcromossomos.

Como pode ser visto na Figura 3.23, as bandas obtidas com CMA e DAPI são bandas discretas, e não permitem uma análise longitudinal acurada dos cromossomos. Contudo, é possível se verificar que os cromossomos assinalados com um ponto de exclamação (os quais diferem das demais espécies por possuírem dois braços cromossômicos), apresentam todo o braço curto heterocromático (CMA positivo). Em outros organismos, como por exemplo no homem, são observadas variações grandes nas regiões heterocromáticas, sem que ocorram rearranjos entre cromossomos. Inversões nestas regiões de banda C ocorrem sem que alterações fenotípicas sejam observadas (Erdtmann, 1982). A variação observada no número cromossômico das espécies de fringilídeos analisadas citogeneticamente, até o momento, não é suficiente para justificar a existência de um maior número de cromossomos com dois braços em **Z. capensis**. Uma razoável explicação para este fato, ponderando-se as afirmativas acima expostas, seria um aumento de heterocromatina nestes cromossomos ou então, inversões nas regiões heterocromáticas e não devido a translocações ou fusões entre microcromossomos.

A utilidade de uma classificação depende, pelo menos em parte, da sua estabilidade e do seu conteúdo de informação. Na Tabela 1.1 podem ser vistas algumas das classificações existentes para alguns **taxa** da ordem Passeriformes, os quais englobam as espécies aqui analisadas. Dentre estas adotamos a de Sibley e cols. (1988), que baseados nos dados de hibridação DNA-DNA, reduziram o

número de famílias em relação às demais classificações. Nossos resultados concordam com esta redução. Como exemplo podemos citar as espécies **M. bonariensis** e **B. leucoblepharus**, as quais são classificadas como pertencentes à famílias diferentes (Icteridae e Parulidae, respectivamente) pela maioria dos autores, e apenas em tribos diversas por Sibley e cols. (1988). Na Figura 3.1 pode ser comparada a semelhança cariotípica destas duas espécies, e na Figura 2.2 A e B podem ser vistos estes animais taxidermizados. É certo que se tratam de espécies morfologicamente distintas, e que a análise citogenética é um tanto quanto superficial, mas serão estas espécie tão distintas a nível de Família?

Esta questão pode ser estendida à ordem Passeriformes. Uma série de dúvidas existem quanto à proximidade ou não de seus representantes. Análises citogenéticas podem auxiliar na elucidação deste problema, mas, os dados obtidos são ainda preliminares. Isto se observa não só pela falta de estudos utilizando técnicas de bandeamento, mas também pela reduzida quantidade de informações que podem ser obtidas através da análise padrão, por causa da presença dos microcromossomos. É possível que a utilização de novas técnicas, como a eletroforese de pulso em cromossomos de aves possa auxiliar nesta questão.

Ao contrário do observado nos autossomos, o cromossomo Z, nas 12 espécies analisadas aqui, apresentou uma variação morfológica de acrocêntrica em **P. coronata** a metacêntrica em **P. brissonii** e **T. bonariensis** (Fig. 3.1-6, C e E, respectivamente). Esta observação está de acordo com a

literatura. Shields (1987) menciona que quanto mais espécies de aves são analisadas, menos conservativa parece ser a morfologia não só do Z, mas também do W.

Observando-se a Figura 3.1, é possível se verificar que as variações na morfologia do cromossomo Z ocorrem não só a nível de subfamília, mas também dentro das tribos, e até mesmo intragenericamente. Este é o caso do gênero *Thraupis*, onde o cromossomo Z de *T. sayaca* é subtelocêntrico e o de *T. bonariensis* é metacêntrico (Fig. 3.1-E e F, respectivamente).

Esta mesma observação pode ser feita na literatura, não a nível de gênero, mas a nível de tribo. *Sturnella militares* e *Ramphocelus carbo*, que pertencem a tribo Thraupini (*Leistes militares*; Lucca e Waldrigues, 1985) apresentam um Z metacêntrico. As demais espécies desta Tribo possuem o cromossomo Z, 'ou provável Z (nos casos em que só machos foram analisados) subtelocêntrico (Lucca, 1974 a e b; Lucca e Chamma, 1977).

Na tribo Cardinalini, muito embora apenas três espécies tenham sido cariotipadas, observa-se a mesma variação que na tribo Thraupini. Em *P. brissonii* (Fig. 3.1-C) o Z é metacêntrico, em *Saltator maximus* é subtelocêntrico (Lucca, 1974b) e em *Cardinalis cardinalis* é submetacêntrico (Baas, 1979).

Em relação as tribos Icterini e Emberizini, este cromossomo (Z), vai de subtelocêntrico a submetacêntrico, com uma variação contínua no tamanho dos braços curtos. (Shields, 1973; Hammar e Herlin, 1975; Thorneycroft, 1975; Lucca, 1977; Lucca e Chamma 1977; Misra e Srivastava, 1978; Hobart, 1982;

Lucca e Waldrigues 1985; Christidis, 1986). Entretanto, em **P. coronata** (Fig. 3.1-G), o cromossomo Z é acrocêntrico, o que não foi observado nas demais espécies da tribo Emberizini.

Na tribo Parulini, apenas duas espécies foram citogeneticamente analisadas: **B. leucoblepharus** (Fig. 3.3) e **Coereba flaveola** (Lucca e Chamma, 1977). Na primeira, o cromossomo sexual Z é subtelocêntrico, e na outra não foi possível a identificação deste cromossomo, uma vez que o indivíduo analisado foi um macho. Entretanto, com exceção do par 1, os maiores pares de cromossomos (pelo menos até o par 6) são subtelocêntricos em **C. flaveola**.

É provável que esta variação morfológica do Z, observada nos representantes da Família Fringillidae, não seja devida à adição nem diminuição na quantidade de heterocromatina, mas sim a inversões cromossômicas que tenham ocorrido durante o processo evolutivo, pois, o Z destas espécies não apresenta variação significativa de tamanho. Além disto, o cromossomo Z nas aves, assim como o cromossomo X dos mamíferos, é em sua quase totalidade eucromático.

Quanto ao cromossomo W, foi observado que este geralmente corresponde em tamanho aos autossomos do par 7, sendo porém, na maioria das vezes, ligeiramente maior. Salientamos, entretanto, que a identificação deste cromossomo não é tão simples quanto a do Z, devido não só ao seu reduzido tamanho, mas também ao fato dos autossomos do par 7 em diante apresentarem uma diminuição gradativa, além de possuírem tamanhos relativamente semelhantes. Por este mesmo motivo, variações neste cromossomo são também difíceis

de serem detectadas. Nas espécies aqui analisadas, os cromossomos identificados como W apresentam morfologia entre acro e subtlocêntrica. A única exceção foi observada em *M. bonariensis*, onde um cromossomo ímpar e metacêntrico foi identificado como W (Figura 3.2).

Como dito anteriormente, das espécies analisadas, seis já foram descritas na literatura. Duas destas apresentam cariótipos que diferem dos observados na literatura, que são: *M. bonariensis* e *T. sayaca*.

O cariótipo de *M. bonariensis* descrito por Lucca (1977) é extremamente semelhante ao observado aqui. A única diferença entre estes, é a existência de um cromossomo metacêntrico observado no espécime coletado em Bagé-RS, equivalente em tamanho ao 7º par cromossômico. Este cromossomo foi determinado como sendo o sexual W, mesmo se sabendo que Lucca (1977) já havia determinado o W desta espécie como sendo um acrocêntrico de tamanho também equivalente ao 7º par cromossômico. Isto se deve ao fato de acreditarmos ser mais provável a existência de uma variação na morfologia deste cromossomo (sexual), do que a de um polimorfismo nos autosomos do par 7. Contudo, esta última hipótese não pode ser descartada, principalmente em vista do reduzido número de indivíduos analisados (uma fêmea e um macho por Lucca, 1977; e uma fêmea neste trabalho). Mas, a primeira hipótese parece ser a mais plausível, pois, variações no cromossomo W devem ser mais prováveis de acontecerem já que este cromossomo, nas aves, parece ser uniformemente heterocromático na maioria das espécies

analisadas (Stefos e Arrigi, 1971; Lucca e Marco, 1983; Lucca 1974 a e b), com exceção das espécies de Ratitas, onde o W é totalmente eucromático à semelhança do Z (Ansari e cols. 1988). Além disto, em outras espécies de animais, como por exemplo os roedores, variações morfológicas do cromossomo Y são observadas com bastante frequência. Infelizmente a aplicação das técnicas de bandeamento C e G não resultou satisfatória, no entanto, uma análise mais extensiva esclarecerá sem dúvida esta questão.

O cariótipo de *T. sayca* descrito por Lucca e Chamma (1977) também diferiu do observado nos cinco exemplares coletados no Rio Grande do Sul (Fig. 2.3). No cariótipo descrito por estes autores, o 19 e 20 pares são os maiores cromossomos do complemento, com comprimento relativo (CR) de 11,0 e 10,0; respectivamente. O cromossomo 1 é submetacêntrico e o 2 é subteloacêntrico. Os cinco próximos pares de cromossomos diminuem gradativamente (com CR= 8,0; 7,0; 6,0; 5,0 e 4,0; respectivamente). Dentre estes, os dois maiores pares são subteloacêntricos e os demais são acrocêntricos. o único exemplar desta espécie analisado por estes autores foi um macho e, conseqüentemente, os cromossomos sexuais não foram identificados.

Como pode ser visto na Figura 3.7 e 3.8, os pares 2 e 3 de *T. sayca*, à semelhança das demais espécies analisadas, apresentam tamanho e morfologia muito semelhantes. No cariótipo descrito por Lucca e Chamma (1977) parece faltar um destes cromossomos (par 2 ou 3). Esta ausência é interessante, pois, se imaginarmos o par 2 (do

cariótipo descrito por estes autores) em duplicata, este cariótipo poderia ser considerado igual ao nosso a nível de de coloração convencional.

Uma espécie muito semelhante a esta, *T. palmarum*, foi também descrita por Lucca (1974a), e o cariótipo descrito parece ser idêntico ao que nós observamos em *T. sayaca*. Esta mesma semelhança é observada quando se comparam os cariótipos de *T. preciosa* e *T. bonariensis* (Fig. 3.5 e 3.6 respectivamente), que pertencem a mesma tribo de *T. sayaca*. A única diferença entre estes, é a morfologia do cromossomo identificado como Z em *T. preciosa* que é metacêntrico, enquanto nas demais é subteloicêntrico.

A explicação mais viável para esta diferença, parece ser a proposta por Lucca (Comunicação Pessoal), que sugeriu uma possível má identificação do exemplar que eles analisaram como sendo *T. sayaca*. Entretanto, isto não diminui o interesse em se estudar esta diferença, uma vez que este indivíduo, deve pertencer, pelo menos, à mesma família.

4.2 - Avaliação cromossômica em *Zonotrichia capensis*

O polimorfismo cromossômico existente em *Z. capensis*, foi descrito por Lucca e Rocha (1985) e, posteriormente analisado por Rocha e cols (1988). Segundo estes autores, tratam-se de duas inversões pericêntricas envolvendo os homólogos subteloicêntricos dos pares 3st e 5st originando os cromossomos 3sm (submetecêntrico) e 5^m

(metacêntrico), respectivamente. Estas observações foram realizadas em exemplares coletados em Botucatu-SP. A presença destas mesmas formas cromossômicas foi constatada em espécimes coletados no Estado do Paraná (Souza e Lucca, 1988).

Neste trabalho, este mesmo polimorfismo cromossômico foi encontrado em espécimes de *Z. capensis* coletados nos Estados do Rio Grande do Sul e Espírito Santo (Tab.2.3). Salientamos, entretanto, que os mesmos cromossomos considerados pelos autores acima citados como sendo os do par 5, são referidos aqui como par 4, uma vez que optamos por excluir o par sexual da numeração dos autossomos.

Muito embora diferentes populações de *Z. capensis* já tenham sido analisadas citogeneticamente, ainda não foi possível se obter bons resultados com as técnicas de bandeamento cromossômico, com exceção da banda NOR. Esta última técnica foi aplicada a oito exemplares de *Z. capensis*, e foi observado que todas as metáfases apresentavam dois microcromossomos intensamente marcados pela prata, os quais algumas vezes se encontravam em associação (Fig. 3.22-A e B). Estes resultados concordam com os obtidos por Rocha (1987).

Além da carência de bons resultados com as técnicas de bandeamento, as análises dos cromossomos meióticos também não são satisfatórias. Estes fatos têm impossibilitado uma determinação exata do tipo de rearranjo cromossômico responsável pelo polimorfismo nos pares 3 e 4 desta espécie. Uma razoável explicação é que este polimorfismo tenha

realmente sido originado por inversões pericêntricas, como proposto por Lucca e Rocha (1985). A observação de que o tamanho das diferentes formas cromossômicas em cada um dos pares (3 e 4) é igual, e a presença de uma forma cromossômica implicar na ausência da outra, tem servido de suporte para esta hipótese.

Poucas populações naturais de pássaros têm sido analisadas o suficiente para se entender o papel que os polimorfismos cromossômicos desempenham na evolução deste grupo. O polimorfismo cromossômico mais amplamente estudado na classe Aves foi analisado por Thorneycroft (1975), onde o autor encontrou uma correlação entre forma cromossômica, fenótipo e comportamento de acasalamento em **Z. albicollis** (tribo Emberizini). O polimorfismo encontrado nesta espécie é devido à inversão pericêntrica envolvendo os pares cromossômicos 2 (subtelocêntrico e/ou metacêntrico) e 3 (subtelocêntrico e/ou acrocêntrico).

Além deste, outros representantes da família Fringillidae apresentam polimorfismo para inversão pericêntrica. Contudo, os mais interessantes a serem discutidos aqui são os que ocorrem nos **Juncos** e **Cardinalis**. **Cardinalis cardinalis** (tribo Cardinalini) é polimórfica no par cromossômico 5, o qual apresenta as formas subtelocêntrica e submetacêntrica (Bass, 1979). **Junco hyemalis**, **J. oreganus**, **J. aikenii**, **J. caniceps** e **J. phaeonotus** (tribo Emberizini) são polimórficas para as formas subtelocêntrica e submetacêntrica no par 2 e para as formas subtelocêntrica e metacêntrica no par 5, sendo que em **J.**

aikenii foi observada só a forma subtelocêntrica no par 2 em 13 indivíduos analisados (Shields, 1973).

Considerando-se que nos *Juncos* o autor inclui o par sexual na contagem dos cromossomos, e que os pares 2 e 3 são do mesmo tamanho, o polimorfismo dos pares 2 e 5 destas espécies pode corresponder aos encontrados nos pares 3 e 4 de *Z. capensis*, e com as mesmas variantes cromossômicas.

No momento, não existem dados suficientes para determinar se as inversões que ocorreram nos gêneros *Junco*, *Zonotrichia* e *Cardinalis* foram devidas à presença destas inversões em um ancestral comum ou se elas ocorreram separadamente em cada gênero. Contudo, o fato de inversões com formas cromossômicas extremamente similares estarem presentes em diferentes gêneros, sugere que os cromossomos invertidos já estavam presentes no ancestral comum. Rocha e Lucca (1998) tomando como base os estudos de Elder (1987) e Yunis (1984), os quais demonstraram a existência de sítios frágeis (breakpoints) nos cromossomos humanos e de outros vertebrados superiores, levantaram a hipótese de que os cromossomos envolvidos nestas inversões podem possuir sítios onde quebras cromossômicas são mais frequentes, mesmo sem a existência de tais relatos para os pássaros. Este fato corroboraria a idéia de que os polimorfismos existentes nas várias espécies de *Junco*, *Zonotrichia* e *Cardinalis* podem ser devidos a eventos independentes. Entretanto, estes autores não descartam a hipótese de que a presença de inversões nos diferentes gêneros seja devida à ancestralidade comum, e concordam que esta questão só poderá ser definida através de

estudos de bandeamento cromossômico nestes e em outros gêneros da família.

É difícil estabelecer quais das formas cromossômicas são as mais primitivas. Contudo, parece haver um consenso geral em aceitar a forma subtelocêntrica para os pares cromossômicos 3 e 4 como sendo a ancestral. Esta idéia se baseia nas observações cariotípicas feitas em diversas espécies dos gêneros **Zonotrichia** (Thorneycroft, 1975), **Junco** (Shields, 1973) e **Cardinalis** (Bass, 1979), as quais apresentam os homólogos 3 e 4 idênticos em morfologia aos cromossomos 3st e 4st de **Z. capensis**. Os dados encontrados neste trabalho em dez espécies proximalmente relacionadas a estes gêneros (Fig. 3.1), leva-nos também a concordar com esta idéia. Deste modo, a consideração das formas cromossômicas 3st e 4st como primitivas para a família Fringillidae implica que a hipótese da evolução comum dos gêneros em questão seria a hipótese correta.

Entretanto, nem todas as espécies estudadas citogeneticamente nesta família apresentam os homólogos 2-3 e 4-6 subtelocêntricos. **Sporophila sp.**, **S. americana** (Lucca, 1977), **Emberiza citrinella** (Hammar e Herlin, 1975) e **Emberizoides herbicola** (Fig. 3.1-I e em Lucca e Waldrigues, 1985), por exemplo, apresentam o par 2 homomórfico para a forma submetacêntrica. As explicações para este fato seriam devidas à fixação da variante submetacêntrica, ou ao pequeno número de indivíduos analisados. De acordo com esta última, pode-se encontrar indivíduos heteromórficos para o par 2, caso seja analisada uma amostra maior.

Em *Z. albicollis*, 400 indivíduos analisados mostram o par 6 homomórfico para a forma metacêntrica (Thorneycroft, 1975), fato este não encontrado em outras espécies desta subfamília (Emberizinae). Como foi discutido no caso anterior, poderia ser considerada aqui a ocorrência de uma fixação da variante metacêntrica. Todavia, esta espécie apresenta dois pares cromossômicos polimórficos (par 2 e 3) cujas variantes metacêntrica e acrocêntrica, respectivamente, não foram encontradas em espécies relativamente próximas, tais como *Z. capensis* e as espécies do gênero *Junco*. Contudo, *C. cardinalis* que também pertence à família Fringillidae (tribo cardinalini), apresenta os pares cromossômicos 2 e 3 homomórficos para forma acrocêntrica (quando a forma normal no grupo é subtolocêntrica), os quais são muito semelhantes a uma das variantes cromossômicas dos pares 2 e 3 de *Z. albicollis*. Além disto, *C. cardinalis* também apresenta polimorfismo no par 5, onde a forma variante é semelhante em tamanho e morfologia ao 6º par cromossômico de *Z. albicollis*.

As diferenças encontradas entre *Z. albicollis* e *Z. capensis*, e entre *Z. albicollis* e as espécies de juncos sugere que *Z. capensis* está evolutivamente mais relacionada aos Juncos do que a *Z. albicollis*. Olrog (1979), por exemplo, classifica as diversas subespécies de *Z. capensis*, que ocorrem na Argentina, como pertencentes ao gênero *Junco*, sem dispor dos dados citogenéticos, mas, ciente que as mesmas são consideradas como sendo do gênero *Zonotrichia* pela maioria dos autores.

Assim sendo, poder-se-ia aventar a possibilidade

de que *Z. capensis* tenha compartilhado mais dos mesmos eventos evolutivos que ocorreram nas espécies do gênero *Junco*, do que os que ocorreram em *Z. albicollis*, a qual provavelmente deve ter compartilhado mais dos mesmos eventos que ocorreram em *C. cardinalis*. O fato de *Z. capensis* possuir formas cromossômicas primitivas e variantes muito semelhantes (senão as mesmas) às das espécies de *Junco*, e *Z. albicollis* apresentar formas cromossômicas similares às de *C. cardinalis*, sustentariam esta possibilidade. Contudo, os dados existentes não permitem ainda que se ultrapasse o campo da especulação a cerca dos mecanismos envolvidos com os processos evolutivos destes grupos, pois, para se estabelecer uma opinião fundamentada sobre homologias interespecíficas ou interfamiliares, estudos detalhados de bandeamento são necessários.

A existência destes polimorfismos cromossômicos, aparentemente idênticos em várias espécies, sugere que os mesmos se mantêm evolutivamente e devem conferir alguma vantagem adaptativa aos portadores. No momento, não se sabe qual mecanismo mantém o polimorfismo em *Z. capensis*. Pode-se, entretanto, sugerir que estes rearranjos não estejam associados com o isolamento reprodutivo, uma vez que em nenhuma das populações analisadas até agora foram observadas formas cromossômicas que estivessem fixadas. Ao contrário disto, estas inversões parecem ser flutuantes em todas as populações analisadas, ou seja, os rearranjos cromossômicos estão, provavelmente, sendo mantidos por polimorfismo balanceado ou seleção dependente de frequência.

Esta espécie tem apresentado frequências bastante típicas nos diferentes locais em que vem sendo analisada (Tab. 3.4-A e B). Como pode ser visto na Tabela 3.4-A, as frequências das diferentes formas cromossômicas do par 3 observadas na população do Espírito Santo (ES) não diferem significativamente das observadas nas populações do Rio Grande do Sul (RS-1, RS-2 e 3 e RS-4), mas diferem das observadas em São Paulo (SP) e Paraná (PR). Entretanto, no par 4 a situação é inversa, as frequências observadas na população ES diferem significativamente das observadas no Rio Grande do Sul em RS-1, RS-2 e 3 e RS-4, e não diferem das observadas em SP e PR. Não foi possível associar nenhuma variável ao polimorfismo do par 3. Contudo, no par 4 pode ser notado que no Sul a forma metacêntrica é mais frequente que no Paraná. São Paulo e Espírito Santo, situados mais ao Norte.

Na Tabela 3.4-A pode ser verificado que há uma tendência para um aumento da frequência do cromossomo 4^m no sentido Norte-Sul (ES= 10%, RS-1= 50%, RS-2 e 3= 86% e RS-4= 80%). As frequências deste cromossomo observadas em São Paulo (Rocha e cols. 1980) e Paraná (Souza e Lucca, comunicação pessoal) acentuam esta tendência (16% e 11%, respectivamente). Se estes dados forem correlacionados com os paralelos dos locais de coleta (ES: 21°, SP: 23°, PR: 23° RS-1: 27°, RS-2 e 3 : 30°, RS-4 : 31°) obtém-se uma correlação de 97%.

Uma correlação desta ordem fornece subsídios para que se cogite a possibilidade de que a forma cromossômica

metacêntrica no par 4, de alguma forma, está obedecendo um gradiente longitudinal. Este gradiente pode estar relacionado a fatores climáticos ou fisiogeográficos correlacionados. Não podemos, entretanto, descartar a possibilidade de que esta correlação seja fortuita ou devida a outros fatores genéticos como deriva genética ou princípio do fundador.

A hipótese da correlação entre clima (frio) e frequência do cromossomo 4^m apresenta a vantagem de poder ser facilmente testada através de estudos longitudinais, uma vez que *Z. capensis* se distribui do México à Patagônia; além de habitar regiões de climas diversos em mesma latitude, como por exemplo nos Andes, onde chega a alcançar 5.000 metros de altura.

Com os dados relativos as seis espécies do gênero *Junco* (Shields, 1973) pode-se obter uma correlação similar a observada nas diferentes populações de *Z. capensis* (anteriormente referidas). Nas seis espécies de *Junco*, analisadas por este autor, também é possível se notar uma correlação entre a frequência da variante cromossômica metacêntrica, talvez a mesma que ocorre em *Z. capensis*, com os paralelos do equador. Ao Norte a forma metacêntrica é mais frequente, espelhando o que acontece ao Sul em *Z. capensis*. Esta correlação é na ordem de 85%, se forem considerados os dados de todas as espécies; sendo as frequências da forma metacêntrica e os paralelos dos locais onde foram coletadas as espécies, respectivamente: 0% e 29° em *J. insularis*, 30% e 32° em *J. phaeonotus*, 65% e 35° em *J. caniceps*, 45% e 39° em *J. oreganus*, 65% e 44° em *J.*

aikeni e 80% e 50° em **J. hyemalis**. Excluindo-se a espécie em que só foram analisados dois indivíduos (**J. hyemalis**), esta correlação passa a ser de 80%. Considerando-se como verdadeira a hipótese de uma origem comum das formas cromossômicas polimórficas das espécies de **Junco** e **Z. capensis**, a correlação existente nas espécies de **Junco**, reforça a suposição que a forma metacêntrica pode apresentar vantagens ao portador em climas frios.

Ainda com relação a frequência dos cromossomos envolvidos nas inversões dos pares 3 e 4 de **Z. capensis**, Rocha e cols. (1988) observaram, nos exemplares coletados em Botucatu-SP, que quando machos e fêmeas são considerados separadamente, a frequência do cromossomo 4^m (ou 5^m) era aproximadamente 1,7 vezes menor nas fêmeas do que nos machos, em contraste com o 3sm que apresenta frequência similar em ambos os sexos. Contudo, os autores acreditam que esta diferença seja devida ao menor número de fêmeas capturadas (42 machos e 18 fêmeas) e não a uma possível vantagem ou desvantagem conferida por este cromossomo a um sexo ou outro. Os resultados encontrados nos exemplares coletados no Rio Grande do Sul reforçam esta conclusão, pois não foi encontrada diferença significativa na frequência dos cromossomos invertidos (3sm e 4^m) entre machos e fêmeas, e a proporção entre estes é de praticamente 1:1 (Tab. 3.5).

Dos 56 espécimes de **Z. capensis** coletados no Rio Grande do Sul, 60,7% são heterozigotos para os pares 3 e/ou 4, sendo que 23,2% são heterozigotos para o par 3; 44,6% para o par 4 e 7,1% são duplo heterozigotos. Considerando-se as

formas 3st e 4st como primitivas, nenhum indivíduo foi observado onde pelo menos um cromossomo invertido não estivesse presente. O mesmo se observa nos exemplares coletados no Espírito Santo. Como dito anteriormente, não foi observada nenhuma diferença significativa quando aplicado o teste do X^2 nos diferentes citótipos nem em cada um dos pares (3 e 4) separadamente (Tab. 3.6 e 3.7). Este fato implica que a população deve estar em equilíbrio e, provavelmente, casamentos preferenciais não devem estar ocorrendo.

Em *Z. albicollis*, Thorneycroft (1975) observou correlação absoluta entre fenótipo e cariótipo associada a presença do cromossomo 2SM, e verificou que pássaros portadores deste cromossomo cruzam com pássaros que não o possuem, aumentando assim o número de heterozigotos e mantendo o polimorfismo na população.

Em *J. hyemalis* foram observadas algumas correlações entre diferenças morfológicas (tamanho do bico, por exemplo) e cariotípicas, que provavelmente devem estar relacionadas à repartição do habitat (Rising e Shields, 1990).

Em *Z. capensis* nenhuma correlação entre variações morfológicas nem comportamentais com o polimorfismo cromossômico dos pares 3 e 4 foi detectada até o momento.

Chapmann (1940) analisando 1267 exemplares de *Z. capensis*, contidos em vários museus do mundo, propôs a divisão desta espécie em 22 subespécies, baseado em variações morfológicas e geográficas. Coincidentemente todos os espécimes de *Z. capensis* que foram analisados aqui, pertencem a uma única subespécie (*Z. capensis subtorquata*) dentre as 22

propostas por Chapman (1940), e nenhuma diferença morfológica entre elas foi observada (mesmo entre os exemplares coletados no Estado do Espírito Santo).

Handford (1983) também encontrou variações morfológicas em 1554 exemplares de *Z. capensis* depositados em 450 museus da América do Sul, as quais mostram um certo gradiente latitudinal. Pássaros com bicos maiores, por exemplo, são preferencialmente detectados em Zonas tropicais, enquanto pássaros com bicos menores são mais frequentes na região da Patagônia.

Em um local de coleta (Viamão, RS-2) foi notada diferença persistente, observada por vários dias, no canto de diferentes espécimes de *Z. capensis*. Variações no canto desta espécie foram também detectadas por Nottebohn (1969). Posteriormente, Nottebohn e Selander (1972) tentaram correlacionar estas variações (diferentes dialetos) com frequências gênicas, mas segundo os autores nem o número de loci polimórficos, nem o tamanho da amostra foram suficientes para uma análise definitiva.

Diante do acima exposto, é provável que análises mais acuradas, estudos ecológicos e comportamentais possam evidenciar algum tipo de diferença associada às variantes cromossômicas.

5 - RESUMO E CONCLUSÕES

Foram analisadas citogeneticamente 12 espécies da família Fringillidae, subfamília Emberizinae. Os cariótipos de *Zonotrichia capensis*, *Sporophila caerulescens*, *Sicalis flaveola*, *Emberizoides herbicola* (tribo Emberizini); *Thraupis sayaca* (tribo Thraupini) e *Molothrus bonariensis* (tribo Icterini) já haviam sido estudados na literatura. *Paroaria coronata*, *Haplospiza unicolor* (tribo Emberizini); *Tangara preciosa*, *Thraupis bonariensis* (tribo Thraupini); *Passerina brissonii* (tribo Cardinalini) e *Basileuterus leucoblepharus* (tribo Parulini) são cariotipadas pela primeira vez.

As aves foram coletadas no Estado do Rio Grande do Sul, nos municípios de Aratiba, Viamão, Porto Alegre e Bagé; e no Estado do Espírito Santo no município de Cachoeiro do Itapemirim.

Os cromossomos foram obtidos a partir de material de medula óssea de animais pré-colchicinizados. A análise citogenética foi feita com a utilização da técnica convencional de coloração por Giemsa. Em alguns exemplares de *Z. capensis* foram analisadas as regiões organizadoras do nucléolo, e alguns resultados preliminares de coloração com fluorocromos CMA (cromomicina A) e DAPI (diaminophenilindol) são também apresentados.

O número cromossômico diplóide variou de 76 em *B. leucoblepharus* e *P. brissonii* a 82 em *E. herbicola*.

Uma grande similaridade cromossômica nos autossomos das espécies foi observada, o que demonstra evidência em favor das classificações que agrupam estas espécies em uma única família. O maior par de cromossomos é submetacêntrico em todas as espécies. Os pares 2 e 3 são similares em tamanho e apresentam morfologia subtelo-cêntrica, com exceção de **E. herbicola** (onde um destes pares é submetacêntrico) e **Z. capensis** (que possui um polimorfismo no par 3, com a forma submetacêntrica como variante). Os pares 4, 5 e 6 são de tamanhos equivalentes, porém um destes é subtelo-cêntrico e os outros dois são acrocêntricos, com exceção de **S. caerulescens** que possui estes três pares acrocêntricos, e **Z. capensis**, onde os três pares são subtelo-cêntricos, além de apresentar um polimorfismo no par 4, o qual pode ser metacêntrico além de subtelo-cêntrico.

A partir do 7º par, os cromossomos decrescem continuamente em tamanho até os microcromossomos. Em todas as espécies, estes pares são acrocêntricos, exceto em **Z. capensis** onde os pares 7, 8, 10, 11 e 12 são subtelo-cêntricos. Os dados obtidos com CMA e DAPI, revelaram que os braços curtos destes cromossomos são heterocromáticos e CMA positivos. Com base nesta observação, e na pequena variação do número cromossômico entre as espécies, foi sugerido que a presença de um maior número de cromossomos subtelo-cêntricos em **Z. capensis** seja devida a adição de heterocromatina, ou a inversões nas regiões heterocromáticas, e não a translocações ou fusões entre microcromossomos.

O cromossomo sexual Z das espécies que foram

analisadas fêmeas é intermediário em tamanho aos pares 3 e 4, nas demais espécies o 4º maior par em tamanho foi considerado como sendo o Z. Este cromossomo foi o mais variável em relação a posição do centrômero, apresentando-se desde acrocêntrico em *P. coronata* a metacêntrico em *P. brissonii* e *T. bonariensis*. Variações na morfologia deste cromossomo foram observadas mesmo entre espécies de um único gênero, como é o caso do gênero *Thraupis*. Contudo, em tamanho, o cromossomo Z se apresentou sempre similar.

Os cromossomos identificados como W são equivalentes em tamanho e morfologia (acrocêntrica) ao 7º par cromossômico. A única exceção foi observada em *M. bonariensis*, onde o provável W é metacêntrico, e na literatura foi descrito como subtelocêntrico.

Os polimorfismos cromossômicos em *Z. capensis* foram considerados como devidos a inversões que ocorreram nos pares subtelocêntricos 3 e 4, originando as formas submetacêntrica e metacêntrica, respectivamente. Esta aceitação foi baseada em comparações dos dados obtidos com os da literatura, os quais também nos levam a crer que *Z. capensis* está evolutivamente mais relacionada às espécies do gênero *Junco*, do que a *Zonotrichia albicollis*, todas de ocorrência na América do Norte.

As diferentes formas cromossômicas observadas nos pares 3 e 4 em *Z. capensis* apresentaram frequências bastante típicas, em geral estatisticamente significativas, nos diferentes locais de coleta. Não foi possível associar nenhuma variável ao polimorfismo do par 3. No par 4 foi

sugerido que a forma metacêntrica pode apresentar vantagens ao portador em climas frios, o que se fundamenta na correlação observada entre os paralelos dos locais de coleta e as respectivas frequências do cromossomo metacêntrico, tanto em *Z. capensis* quanto nas espécies de *Junco*.

Em *Z. capensis* foi observado que um par de microcromossomos, de tamanho muito reduzido, é o responsável pela região organizadora do nucléolo, e que a marcação NOR obtida apresentou-se maior que o próprio cromossomo.

Na coloração com fluorocromos, *Z. capensis* apresentou um par de microcromossomos, aproximadamente o 142 em tamanho, que cora intensamente todo o braço longo com CMA, e pode ser considerado um marcador.

6 - SUMMARY AND CONCLUSIONS

Twelve species of family Fringillidae, subfamily Emberizinae, were cytogenetically analyzed. The karyotypes of *Zonotrichia capensis*, *Sporophila caerulescens*, *Sicalis flaveola*, *Emberizoides herbicola* (tribe Emberizini); *Thraupis sayaca* (tribe Thraupini) and *Molothrus bonariensis* (tribe Icterini) had already been studied in the literature. *Paroaria coronata*, *Haplospiza unicolor* (tribe Emberizini); *Passerina brissonii* (tribe Cardinalini) and *Basileuterus leucoblepharus* (tribe Parulini) are first karyotyped.

The birds were collected in the municipalities of Aratiba, Bagé, Porto Alegre, Viamão (State of Rio Grande do Sul) and Cachoeiro do Itapemirim (State of Espírito Santo).

The chromosomes were obtained from bone marrow material of precolchicized animals. The cytogenetic analysis was carried out by using the conventional Giemsa-staining technique. Nucleolus organizer regions were analyzed in some samples of *Z. capensis*; also, some preliminary results of fluorescent staining with CMA (chromomycin A) and DAPI (diaminophenylindole) are presented.

The diploid chromosome number ranged from 76 in *B. leucoblepharus* and *P. brissonii* to 82 in *E. herbicola*.

The autosomes of the species showed a close chromosomal similarity, which clearly favours the classifications clustering these species in only one family.

The largest chromosome pair is submetacentric in all species. Pairs 2 and 3 are similar in size and exhibit subtelocentric morphology, except for *E. herbicola* (one of these pairs being submetacentric) and *Z. capensis* (pair 3 showing a polymorphism, with the submetacentric form as a variant). Pairs 4, 5 and 6 have equivalent sizes; however, one of them is subtelocentric and the other two are acrocentric. The exceptions are *S. caerulescens*, with these 3 pairs being metacentric, and *Z. capensis*, with these 3 pairs being subtelocentric and presenting a polymorphism in pair 4, which can be metacentric and subtelocentric.

From pair 7, the chromosomes decrease continuously in size till microchromosomes. These pairs were found to be acrocentric in all species, except in *Z. capensis*, which showed pairs 7, 8, 10, 11 and 12 as subtelocentric. The data obtained with CMA and DAPI revealed that the short arms of these chromosomes, in *Z. capensis*, are heterochromatic and positively CMA. Based on this observation and on the small variation of the chromosome number among the species, it was suggested that the presence of a larger number of subtelocentric chromosomes in *Z. capensis* is due to the addition heterochromatine or to inversions in the heterochromatic regions, and not to translocations or fusions with microchromosomes.

The sexual Z chromosome of the species whose females were analyzed is intermediate in size to pairs 3 and 4; in the other species the fourth pair in size was

considered to be the chromosome Z. This chromosome was the most variable as to the centromere position, ranging from acrocentric in *P. coronata* to metacentric in *P. brissonii* and *T. bonariensis*. Variations in the morphology of this chromosome were observed even among species of only one genus, as it happens in genus *Thraupis*. But in size, this chromosome is always similar.

The chromosome identified as W are equivalent in size and morphology (acrocentric) to pair 7. The only one exception was observed in *M. bonariensis*: in this species the probable W is metacentric, and is described as subtelocentric in the literature.

Inversions in subtelocentric pairs 3 and 4, were considered to be responsible for the chromosome polymorphism in *Z. capensis*, originating the submetacentric and metacentric forms, respectively. This acceptance was based on comparisons of the data obtained with those of the literature, which also suggests that *Z. capensis* is evolutionarily more related to the species of genus *Junco* than *Zonotrichia albicollis*, all of them occurring in North America.

The different chromosome forms observed in pairs 3 and 4 in *Z. capensis* showed very typical frequencies in the different collection sites, in general statistically significant. It was impossible to associate any variation with polymorphism of pair 3. In pair 4, it was suggested that the carrier of the metacentric form can show advantages

in cold climates, which is based on the correlation observed between the parallels of the collection sites and respective frequencies of the metacentric chromosome, both in *Z. capensis* and in the species of *Junco*.

In *Z. capensis*, a pair of very small microchromosomes showed to be responsible for the nucleolus organizer region, and the NOR staining obtained showed to be larger than the chromosome itself.

In the fluorescent staining, *Z. capensis* showed a pair of microchromosomes, nearly the pair 14 in size, which stains intensively all the long arm with CMA and can be considered to be a marker.

7 - BIBLIOGRAFIA

- AGUIAR MLR (1968) apud LUCCA JE de (1985)
- ANDRADE GA (1985) **Nomes populares das aves do Brasil.** Editerra Editorial S05/IBDF, Belo Horizonte, 258p
- ANSARI HA, KAUL D (1978) Translocation heterozygosity in the bird *Lonchura punctulata* (Linn.), (Ploceidae: Aves). **Nat Acad Sci Letters** 1:83-84
- ANSARI HA, KAUL D (1979a) Inversion polymorphism in common green pigeon, *Treron phoenicoptera* (Latham), (Aves). **Jap J Genet** 54:197-202
- ANSARI HA, KAUL D (1979b) Somatic chromosomes of black-headed oriole, *Oriolus xanthornus* (Linn.). A probable case of translocation heterozygosity. **Experientia** 35:739-740
- ANSARI HA, TAKAGI N, SASAKI M (1988) Morphological differentiation of sex chromosomes in three species of ratite birds. **Cytogenet Cell Genet** 47:185-188
- ANTAS PT, CAVALCANTI RB (1988) **Aves Comuns do Planalto Central.** Editora Universidade de Brasília, Brasília, 238p
- ARCTANDER P (1988) Comparative studies of avian DNA by restriction fragment length polymorphism analysis: convenient procedure based on blood samples from live birds. **J Orn** 129:205-216
- BACHMANN K, HARRINGTON BA, CRAIG JP (1972) Genome size in birds. **Chromosoma** 37:405-416
- BANDROFT I, WOLK CP (1986) Pulsed homogeneous orthogonal field electrophoresis **Nucl Ac Res** 16:7405-7418
- BARROWCLOUGH GF, SHIELDS GF (1984) Karyotypic evolution and long-term effective population sizes of birds. **Auk** 101:99-102
- BASS RA (1979) Chromosomal polymorphism in cardinals *Cardinalis cardinalis*. **Can J Genet Cytol** 21:549-553
- BELTON W (1982) **Aves silvestres do Rio Grande do Sul.** Pallotti, Porto Alegre, 169p

- BHUNYA SP, SULTANA T (1979) Somatic chromosome complements of four Passerine birds and their karyological relationship. *Cariologia* 32:299-309
- BIRREN BW, LAI E, CLARK MS, HOOD L, SIMON IM (1988) Optimized conditions for pulsed field gel electrophoretic separations of DNA. *Nucl Acids Res* 16:7563-7582
- BLEDSOE AH (1987) DNA evolutionary rates in nine-primaried Passerine birds. *Mol Biol Evol* 4:559-571
- BULATOVA N, PANOV EN, RADZHABLI SI (1971) apud SHIELDS G F (1983)
- BURKE T, BRUFORD CF (1987) DNA fingerprinting in birds. *Nature* 327:149-152
- CARLENIUS C, RYTTMAN H, TEGELSTRÖM H, JANSSON H (1981) R- G and C-banded chromosomes in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Hereditas* 94:61-66
- CARVALHO MWP, ERDTMANN B (1987) Ocorrência de polimorfismo cromossômico em tico-tico (*Zonotrichia capensis*) nos Estados do Espírito Santo e Rio Grande do Sul. *Ciênc e Cult (supl.)* 39:782
- CHAPMAN FM (1940) The post-glacial history of *Zonotrichia capensis*. *Bull Amer Mus of Nat Hist* 77:381-438
- CHRISTIDIS L (1986) Chromosomal evolution in finches and their allies (families: Ploceidae, Fringillidae and Emberezidae). *Can J Genet Cytol* 28:762-769
- CRACRAFT J (1981) Toward a phylogenetic classification of the recent birds of the world (class Aves). *Auk* 98:681-714
- DE BOER LEM (1976) The somatic chromosome complements of 16 species of Falconiformes (Aves) and the karyological relationships of the order. *Genetica* 46:77-113
- DE BOER LEM (1980) Do the chromosomes of the kiwi provide evidence for a monophyletic origin of the ratites? *Nature* 287:84-85
- DE BOER LEM (1984) New developments in vertebrate cytotaxonomy, VIII. A current list of references on avian karyology. *Genetica* 65:3-37
- DICKERMAN RW (1961) Hybrids among the Fringillid genera *Junco*, *Zonotrichia* and *Melospiza*. *AUK* 78:627-633
- ELDER F (1987) apud ROCHA GT, LUCCA EJ de, SOUZA EE (1988)

- ERDTMANN B (1982) Aspects of evaluation, significance, and evolution of human C band heteromorphism. **Hum Genet** 61: 281-294
- FORD CE, HAMERTON JL (1956) A colchicine hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. **Stain Tech** 31: 247-251
- FRISCH JD (1981) **Aves Brasileiras**. Vol I, Editora Dalgas-Ecoltec Ecologia Técnica e comércio Ltda, São Paulo, 353p
- GIANNINI SH, SCHITTINI M, KEITHLY JS, WARBURTON PW, CANTOR CR, VAN DER PLOEG LHT (1986) Karyotype analysis of **Leishmania** species and its use in classification and clinical diagnosis. **Science** 232:762-765
- GIANNONI ML (1986) **Análise citogenética em espécies de sabiás (Turdus-Muscicapidae-Aves)**. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, São Paulo
- GIANNONI ML, GIANNONI MA, FERRARI I (1986) **Citogenética aplicada às aves: técnicas**. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Piracicaba, 121p
- GUERRA MS (1988) **Introdução à citogenética geral**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 142p
- GUYER FM (1902) apud DE BOER LEM (1984)
- HAMMAR B (1970) The karyotypes of thirty-one birds. **Hereditas** 65:29-58
- HAMMAR B, HERLIN M (1975) Karyotypes of four birds species of the order Passeriformes. **Hereditas** 80:177-184
- HILL WG (1987) DNA fingerprints applied to animal and bird populations. **Nature** 327:98-99
- HOBART HH, GUNNS SJ, BICKHAM JW (1982) Karyotypes of 6 species of North American black - birds (Icteridae : Passeriformes). **Auk** 99:514-518
- HOUDE P (1987) Critical evaluation of DNA hybridization studies in avian systematics. **Auk** 104:17-32
- HOWELL WM, BLACK DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia** 36:1014-1015
- KESSLER LG, AVISE JC (1984) Systematic relationships among waterfowl (Anatidae) inferred from restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. **Syst Zool** 33: 370-380

- KESSLER LG, AVISE JC (1985) A comparative description of mitochondrial DNA differentiation in selected avian and other vertebrate genera. *Mol Biol Evol* 2:109-125
- LANDE R (1979) Effective deme sizes during long-term evolution estimated from rates of chromosomal rearrangement. *Evolution* 33:234-251
- LEE HR, ELDER FFB (1980) Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogenet Cell Genet* 26:36-40
- LEVAN A, FREDGA K, SANDERGA AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220
- LUCCA EJ de (1974a) Cariótipos de 8 espécies de aves. *Rev Brasil Genet* 34:387-392
- LUCCA EJ de (1974b) Cariótipos de 14 espécies de aves dos ordens Cuculiformes, Galliformes, Passeriformes e Tinamiformes. *Rev Brasil de Pesq Med e Biol* 7:253-263
- LUCCA EJ de (1977) O complemento cromossômico e a evolução do cariótipo em Apodiformes, Gruiformes e Passeriformes (Aves). *Botucatu Cient Sér.B* 2(1/2):31-38
- LUCCA EJ de, CHAMPA L (1977) Estudo do complemento cromossômico de 11 espécies de aves dos ordens Columbiformes, Passeriformes e Tinamiformes. *Rev Brasil de Pesq Méd e Biol* 10:97-105
- LUCCA EJ de (1980) Mecanismos de evolução cromossômica em Columbiformes e Psittaciformes (Aves). Tese de Livre-Docência. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo
- LUCCA EJ de (1983) Somatic chromosomes of *Falco sparverius* and *Buteo magnirostris* (Falconiformes: Aves). *Nucleus* 26: 48-56
- LUCCA EJ de, MARCO DA (1983) Chromosomal polymorphism in *Forpus xanthopterygius* (Psittaciformes: Aves). *Caryologia* 36:355-361
- LUCCA EJ de (1985a) Citogenética de Aves no Brasil; Estágio atual e perspectivas futuras. UNESP, Botucatu, 13p, cartilografado. Trabalho apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, Mini-curso Citogenética de Vertebrados.
- LUCCA EJ de (1985b) Karyotypy and nucleolus organizing in somatic chromosomes of the white-tailed *Buteo albicaudatus* (Falconiformes: Aves). *Cytobios* 47:7-13

- LUCCA EJ de, ROCHA GT (1985) Chromosomal polymorphism in *Zonotrichia capensis* (Passeriformes: Aves). **Rev Brasil Genet** 8:71-78
- LUCCA EJ de, WALORIBUER A (1985) Karyotypes of nine species of Passeriformes. **Egypt J Genet Cytol** 14:41-50
- MACK AL, GILL FB, COLBURN R, SPOLSKY C (1986) Mitochondrial DNA: a source of genetic markers for studies of similar passerine bird species. **Auk** 103:737-754
- MANOLACHE M (1974) apud LUCCA EJ de, ROCHA GT (1985)
- MATSON RH (1984) Applications of electrophoretic data in avian systematics. **Auk** 101:717-729
- MINDELL DP, SITES JW Jr (1987) Tissue expression patterns of avian isozymes: a preliminary study of phylogenetic applications. **Systematic Zoology** 36:137-152
- MISRA M, SRIVASTAVA MDL (1975) Chromosomes of two species of Coraciiformes. **Nucleus** 18:89-92
- MISRA M, SRIVASTAVA MDL (1976) Somatic chromosomes of *Bubulcus ibis* (L.) (cattle-egret): a case of reciprocal translocation. **Genetica** 46:155-160
- MISRA M, SRIVASTAVA MDL (1978) Karyotypes of seven Passeres. **Cytologia** 43:485-495
- MORONY JJ Jr, BOCK MJ, FARRAND JJ Jr (1975) apud DE BOER LEM (1984)
- NAROSKY T, YZURIETA O (1987) **Guía para la identificación de las Aves de Argentina e Uruguay**. Vazquez Mazzini (eds), Asociación Ornitológica del Plata, Buenos Aires 345p
- NÖTTEBOHM F (1969) The song of Chingolo *Zonotrichia capensis* in Argentina: description and evaluation of a system of dialects. **Condor** 71:299-315
- NÖTTEBOHM T, SELANDER RK (1972) Vocal dialects and gene frequencies in the Chingolo sparrow (*Zonotrichia capensis*). **Condor** 74:137-143
- OHNO S, STENIUS C, CHRISTIAN LC, BEČAK W, BEČAK ML (1964) Chromosomal uniformity in the Avian subclass Carinatae. **Chromosoma** 15:280-286
- OLROG CC (1979) Nueva lista de la avifauna Argentina **Opera Lilloana** 27:1-324

- PRAGER EM, BRUSH AH, NOLAN RA, NAKANISHI M, WILSON AC (1974) Slow evolution of transferrin and albumin in birds according to microcomplement fixation analysis. **J Mol Evol** 3:243-262
- PRUM RO (1988) Phylogenetic interrelationships of the barbets (Aves : Capitonidae) and Toucans (Aves : Ramphastidae) based on morphology with comparisons to DNA-DNA hybridization. **Zool J of the Linn Soc** 92:313-343
- QUINN TW, WHITE BN (1987) Analysis of sequence variation in: COOKE F, BUCKLEY PA (eds) **Avian Genetics**. Academic Press, Florida, pp 163-198
- RAY-CHAUDHURI R (1976) Cytotaxonomy and chromosome evolution in Passeriformes (Aves). **Z Zool Syst Evol** 14:299-320
- RISING JD, SHIELDS GF (1980) Chromosomal and morphological correlates in two new World sparrows (Emberizidae). **Evolution** 34:654-662
- ROCHA GT (1987) **Estudo do complemento cromossômico e da região organizadora de nucléolo em algumas espécies de aves**. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo
- ROCHA GT, LUCCA EJ de, SOUZA EB (1988) Chromosome polymorphism due to pericentric inversion in **Zonotrichia capensis** (Emberizidae-Passeriformes-Aves). **Evolution** (no prelo)
- ROBBINS CS, BRUNN B, ZIM HS (1983) **Birds of North America**. Golden Press, New York, 360p
- RUSCHI A (1979) **Aves do Brasil**. Vol II, Editora Rios, São Paulo 237p
- SASAKI M, NISHIDA C, TSUCHIYA K (1983) Autosomal polymorphism in the long-eared owl **Asio otus** (Strigiformes-Aves). **Chrom inf Serv** 34:17-18
- SCHAUENSEE RM, PHELPS WHJR (1978) **A guide to the birds of Venezuela**. Princeton University Press, New Jersey 424p
- SCHAUENSEE RM (1982) **A guide to the birds of South America**. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, USA 498p
- SCHWEIZER D (1980) Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenet Cell Genet** 27:190-193
- SELANDER RK (1971) Systematics and speciation in birds. In: FARMER DS, KING JR, PARKES KC (eds) **Avian Biology**. Academic Press, New York, pp 57-147

- SHIELDS GF (1973) Chromosomal polymorphism common to several species of Junco (Aves). *Can J Genet Cytol* **15**:461-471
- SHIELDS GF (1982) Comparative avian cytogenetics: a review. *Condor* **84**:45-58
- SHIELDS GF (1983) Organization of the avian genome. In: BRUSH AH, CLARK GA Jr (eds) *Perspectives in Ornithology*. Cambridge University Press, USA, pp 271-290
- SHIELDS GF (1987) Chromosomal variation. In: COOKE F, BUCLEY PA (eds) *Avian Genetics, a population and ecological approach*. Academic Press, London, pp 79-104
- SHIELDS GF, WILSON AC (1987a) Calibration of mitochondrial DNA evolution in geese. *J Mol Evol* **24**:212-217
- SHIELDS GF, WILSON AC (1987b) Subspecies of the Canada goose (*Branta canadensis*) have distinct mitochondrial DNAs. *Evolution* **41**:662-666
- SHIELDS GF, HELM-BYCHOWSKI KM (1988) Mitochondrial DNA of birds. In: JOHNSTON RF (ed) *Current Ornithology*. Vol V, Plenum Publishing Corporation, New York, pp 273-295
- SHOFFNER RN (1974) apud Shields GF (1983)
- SHOFFNER RN (1977) Chromosomal polymorphisms and heteroploidy in birds. *Nucleus* **20**:112-118
- SHOFFNER RN, WANG N, LEE F, RING R, OTIS JS (1979) Chromosome homology between the Ross's and the Emperor Goose. *J Hered* **70**:395-400
- SHORT LL Jr, SIMON SW (1965) Additional hybrids of the Slat-colored Junco and the White-throated Sparrow. *Condor* **67**:438-442
- SIBLEY CG (1967) apud SELANDER RK (1971)
- SIBLEY CG, AHLQUIST JE (1983) Phylogeny and classification of birds based on the data of DNA-DNA hybridization. In: JOHNSTON RF (ed) *Current Ornithology*. Vol I, Plenum Publishing Corporation, New York, pp 245-292
- SIBLEY CG, AHLQUIST JE (1986) Reconstructing bird phylogeny by comparing DNAs. *Sci Amer* **254**:67-78
- SIBLEY CG, AHLQUIST JE, MONROE BL Jr (1988) A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridization studies. *Auk* **105**:409-423

- SICK H (1985a) **Ornitologia Brasileira, uma introdução.** Vol II, Editora Universidade de Brasília, Brasília, pp 483-827
- SICK H (1985b) **Ornitologia Brasileira, uma Introdução.** Vol I, Editora Universidade de Brasília, Brasília, 482p
- SHITH CL, CANTOR CR (1987) Preparation and manipulation of large DNA molecules: advances and applications. **Tibs** 12: 284-287
- SOUZA EB, LUCCA EJ de (1988) Polimorfismo cromossômico em **Zonotrichia capensis**: frequência dos citótipos. **Ciê e Cult** (supl.) 40:764
- STEFOS K, ARRIGHI F (1971) Heterocromatic nature of W chromosome in birds. **Exp Cell Res** 68:228-231
- STOCK AD, MENGDEN GA (1975) Chromosome banding pattern conservatism in birds and nonhomology of chromosome banding patterns between Birds, Turtles, Snakes and Amphibians. **Chromosoma** 50:69-77
- STOCK AD, BUNCH TD (1982) The evolutionary implications of chromosome banding patterns homologies in the bird order Galliformes. **Cytogenet Cell Genet** 34:136-148
- STORER RW. (1971) Classification of birds. In: FARMER DS, KING JR, PARKES KC (eds) **Avian Biology**, Academic Press, New York, pp 1-18
- TAKAGI N, ITOH M, SASAKI M (1972) Chromosome studies in four species of Ratitae (Aves). **Chromosoma** 36:281-291
- TAKAGI N, SASAKI M (1974) A phylogenetic study of bird karyotypes. **Chromosoma** 46:91-120
- TEGELSTRÖM H, RYTTMAN H (1981) Chromosomes in bird (Aves): evolutionary implications of macro and microchromosome numbers and lengths. **Hereditas** 94:225-233
- THORNEYCROFT HB (1966) Chromosomal polymorphism in the white-throated sparrow, **Zonotrichia albicollis** (Gmelin). **Science** 154:1571-1572
- THORNEYCROFT HB (1975) A cytogenetic study of the white-throated sparrow, **Zonotrichia albicollis** (Gmelin). **Evolution** 29:611-621
- VAN DER PLOEG LHT, SMITS M, PONNUDURAI T, VERMEULEN A, MEUWISSEN JHETH, LANGSLEY G (1985) Chromosome-sized DNA molecules of **Plasmodium falciparum**. **Science** 229:658-661

- VENTURINI G, D'AMBROGI R, CAPANA E (1986) Size and structure of the bird genome-I. DNA content of 48 species of Neognathae. *Comp Biochem Physiol* 85:61-65
- VOSS W (1987) lista das Aves do Rio Grande do Sul. Publicação avulsa, sem bibliografia
- WATANABE T, MIZUTANI M, WAKANA S, TOMITA T (1985) Demonstration of the maternal inheritance of avian mitochondrial DNA in chicken-quail hybrids. *J Exp Zool* 236:245-247
- WETTON JH, CARTER RE, PARKIN DT, WALTERS D (1987) Demographic study of a wild house sparrow population by DNA fingerprinting. *Nature* 327:147-149
- WHITE HJD (1978) **Modes of speciation**. Freeman WH and Company (eds), USA, 455p
- YUNIS JJ, SORENG AL (1984) Constitutive fragile sites and cancer. *Science* 226:1199-1204
- ZINK RM (1982) Patterns of genic and morphologic variation among sparrows in the genera *Zonotrichia*, *Melospiza*, *Junco*, and *Passarella*. *AUK* 99:632-649