

Descrição do cariótipo e padrões de bandas C e NOR em *Pheucticus aureoventris* (Emberizidae, Cardinalinae).

Mario A. Ledesma^{1,2}, Pablo A. Martínez¹, Pablo S. Calderón¹, Juan M. Boeris¹ e José M. Meriles¹

¹ Laboratorio de Citogenética de Aves, Departamento de Genética, FCEQyN, UNAM, Félix de Azara, 1552, CP 3300, Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: mledesma@fceqyn.unam.edu.ar

² Autor para correspondência

Recebido em 26 de agosto de 2005; aceito em 02 de março de 2006

ABSTRACT. Karyotypic description and C – NOR bands of *Pheucticus aureoventris* (Emberizidae, Cardinalinae). The black-backed grosbeak (*Pheucticus aureoventris*) is one of the species in risk of extinction due to human pressure on its habitat. It is mainly distributed in the pre-mountain areas of Andes (between 1700 to 3700 mts). Although the order Passeriformes presents the largest amount of karyotyped species, none of the six species of the genus *Pheucticus* have been previously studied. The objective of the present work was to determine the diploid number and the C and NOR bands patterns of *P. aureoventris*. Three females and two males were collected in General Belgrano department, Province of Jujuy, Argentina. The chromosomes were obtained from direct cultures of bone marrow. Seventy metaphases were analyzed for each individual in order to establish the diploid number. Conventional and differential staining techniques (C and NOR bands) were used. The diploid number was $2n = 78$. The pair one and the Z chromosome were submetacentrics, the pairs two, three, five and the W chromosome were subtelocentric, and the remaining elements of the complement were telocentric. C banding showed that the heterochromatin is located mainly in the centromeric regions of the microchromosomes, and that the W chromosome is completely heterochromatic. Among the macrochromosomes, tenuous centromeric marks were observed, as well as interstitial bands in the largest pairs. The analysis of the nucleolar organizer regions showed positive marks in two microchromosome pairs. The data here presented provides an initial step for the understanding of the karyotype evolution of the genus *Pheucticus*.

KEY WORDS: *Pheucticus aureoventris*, C and NOR bands, macrochromosomes, microchromosomes.

RESUMO. O rei-do-bosque (*Pheucticus aureoventris*) é uma espécie em perigo de extinção devido à destruição do seu hábitat e à caça para comércio de animais de estimação. Distribui-se principalmente nas regiões da pré-cordilheira dos Andes (entre 1.700 e 3.700 metros de altitude). Embora a ordem Passeriformes conte com a maior quantidade de espécies cariotipadas, até o momento não se conhecem dados citogenéticos relacionados às seis espécies que pertencem ao gênero *Pheucticus*. O objetivo do presente trabalho foi determinar o número cromossômico e os padrões de bandeamento C e NOR de *P. aureoventris*. Foram analisadas três fêmeas e dois machos, capturados no Departamento General Belgrano, Província de Jujuy, Argentina. As metáfases foram obtidas a partir de culturas diretas de medula óssea. Para se estabelecer o número diplóide foram analisadas 70 metáfases para cada indivíduo. As preparações foram analisadas com coloração convencional Giemsa e bandeamentos C e NOR. O número cromossômico observado em *P. aureoventris* foi $2n = 78$. Os pares um e o sexual Z foram submetacêntricos; os pares dois, três, cinco e o W foram subtelocêntricos; os pares restantes do complemento são todos telocêntricos. O Bandeamento C mostrou que a heterocromatina constitutiva está localizada principalmente nas regiões centroméricas dos microcromossomos e o cromossomo W é completamente heterocromático. Nos macrocromossomos observaram-se tênues marcações centroméricas, além de bandas intersticiais nos braços longos dos maiores cromossomos. A análise das regiões organizadoras do nucléolo evidenciou marcações positivas em dois pares de microcromossomos. Os resultados aqui apresentados representam um passo inicial para o entendimento da evolução cariotípica do gênero.

PALAVRAS-CHAVE: *Pheucticus aureoventris*, bandas C e NOR, macrocromossomos, microcromossomos.

A formação vegetal conhecida como mata de montanha, ou Yungas, distribui-se na vertente oriental da Cordilheira dos Andes, compondo uma faixa estreita com mais de 4000 km de comprimento, que se estende desde as matas das montanhas andinas da Venezuela (7° N) até a província Argentina de Catamarca (28° S) (Herrán *et al.* 2003).

O rei-do-bosque (*Pheucticus aureoventris*) é uma espécie habitante deste ecossistema que tem sofrido com as pressões exercidas pelo homem, como a destruição do seu hábitat e a caça furtiva para serem comercializados como animais de estimação. Isto, porque apresentam cores intensas e canto melódico. Distribui-se principalmente nas regiões da pré-cordilheira dos Andes (entre 1.700 até 3.700 metros de altitude), no Peru, Argentina e Bolívia, com alguns registros recentes para o norte de Chile, Brasil e Paraguai (Narosky e Yzurieta 1987).

Dentre as aves analisadas citogeneticamente, a ordem Passeriformes é a que possui o maior número de espécies

cariotipadas. No Brasil foram estudadas citogeneticamente aproximadamente 52 espécies (Carvalho 1989) e na Argentina apenas 15 espécies (Gunki *et al.* 2004). Além disso, as técnicas de bandeamento cromossômico (C, G ou NOR) foram aplicadas a um número ainda mais reduzido de espécies (Carvalho 1989).

O gênero *Pheucticus* é composto pelas espécies *P. chrysopleplus*, *P. tibialis*, *P. chrysogaster*, *P. ludovicianus*, *P. melanocephalus* e *P. aureoventris*. No entanto, dados citogenéticos são inexistentes para estes animais. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi determinar o número diplóide e os padrões de bandeamentos C e NOR de *P. aureoventris*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas três fêmeas e dois machos de *P. aureoventris*, capturados mediante o uso de redes de neblina (*mist nets*) no Departamento General Belgrano, Província de Jujuy,

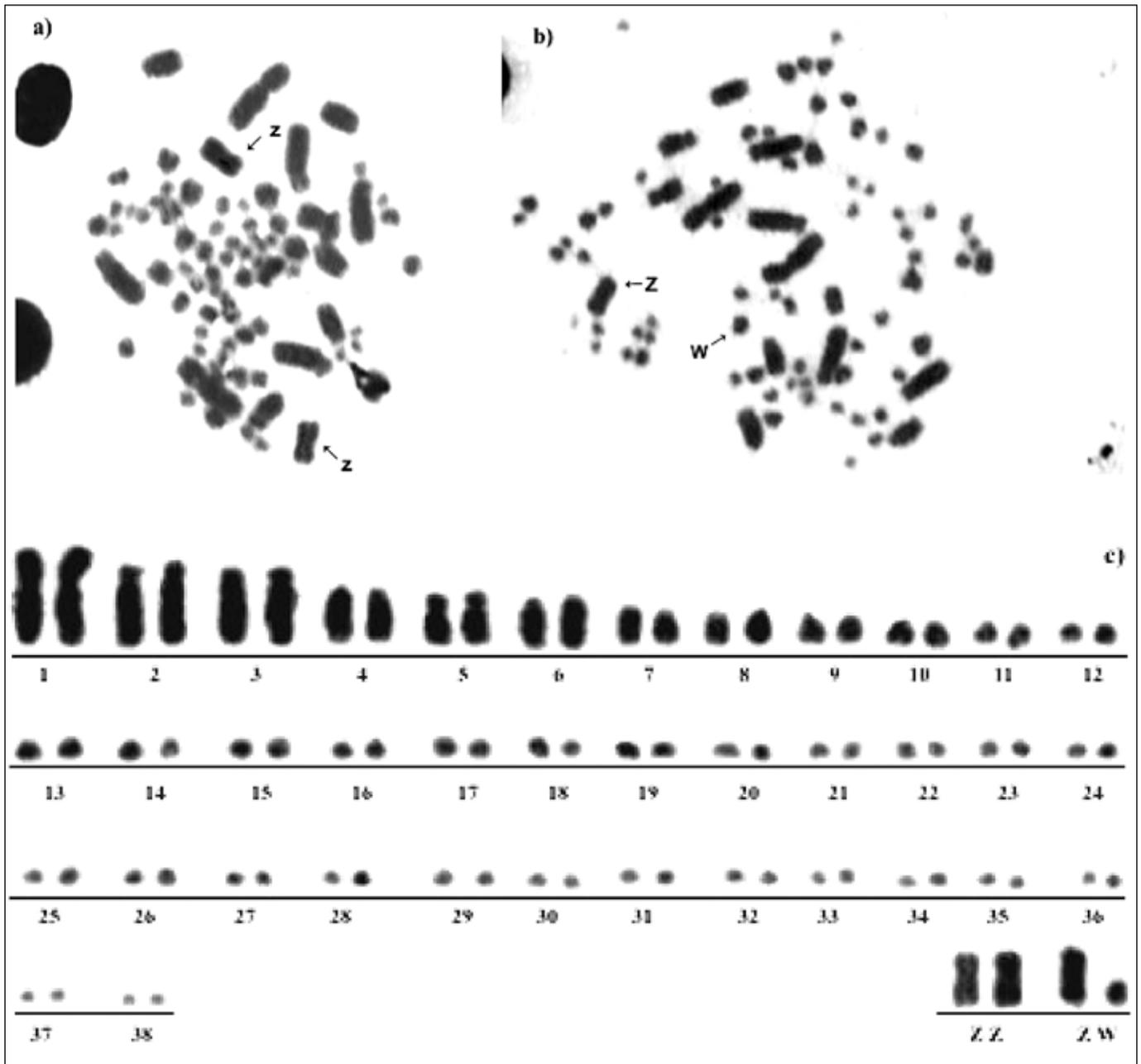


Figura 1. (a) Metáfase de macho, (b) metáfase de fêmea e (c) cariótipo completo de *Pheucticus aureoventris*, com número diplóide de $2n = 78$. As setas indicam os cromossomos sexuais Z e W.

Figure 1. Metaphases of (a) Male, (b) female and (c) complete karyotype of *Pheucticus aureoventris* (diploid number, $2n = 78$). The arrows indicate the sexual chromosomes.

Argentina ($24^{\circ}16'S$, $65^{\circ}07'W$). Para a obtenção das metáfases foi utilizada a técnica de cultura direta de medula óssea. Para a determinação do número diplóide foram analisadas 70 metáfases por indivíduo. As preparações foram analisadas com coloração convencional de Giemsa e com bandeamentos C e NOR, sendo as duas últimas realizadas seguindo-se os protocolos de Sumner (1972), com as modificações implementadas por Ledesma *et al.* (2002), e Howell e Black (1980), respectivamente. As metáfases foram fotodocumentadas utilizando-se um fotomicroscópio *Olympus CX31*, com uma câmera digital *Olympus C-5000 zoom*. Os cariótipos foram organizados segundo a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número diplóide observado para *P. aureoventris* foi $2n = 78$. O par um foi submetacêntrico e os pares dois, três e cinco foram submetacêntricos. Todos os elementos restantes do complemento foram telocêntricos. O cromossomo sexual Z se apresentou submetacêntrico, com tamanho intermediário entre os pares três e quatro. O cromossomo W foi submetacêntrico, equivalente em tamanho aos pares nove ou dez (Figura 1a, b e c).

O Bandejamento C mostrou que a heterocromatina está localizada principalmente nas regiões centroméricas dos microcromossomos, e que o cromossomo W é completamente hetero-

cromático. Nos macrocromossomos observaram-se tênues marcações centroméricas, além de bandas intersticiais nos braços longos dos maiores pares cromossômicos (Figura 2a). A análise das regiões organizadoras do nucléolo evidenciou marcações positivas em dois pares de microcromossomos (Figura 2b).

Fazendo-se as comparações de *P. aureoventris* com os dados de outros estudos realizados para a ordem Passeriformes, é possível observar que existe pouca variação na morfologia dos macrocromossomos. Dentro da subfamília Cardinalinae foram analisados até o momento apenas os cariótipos de *Saltator maximus*, *S. coerulescens*, *S. similis*, *Passerina brissonii* e *Cardinalis cardinalis* (Lucca 1974, Bass 1979, Cabanne *et al.* 1997, Carvalho 1989). *S. maximus* apresenta o número

diploide de $2n = 82$ e difere de *P. aureoventris* também na morfologia dos cromossomos sexuais, sendo o cromossomo Z subteloentrico e o W telocêntrico (Lucca 1974). *S. coerulescens* e *S. Similis* apresentam número diplóide de $2n = 86$ (Cabanne *et al.* 1997), e a principal diferença observada em relação a *P. aureoventris* é na morfologia do quinto par, o qual é telocêntrico. No que diz respeito ao bandeamento C, as diferenças observadas residem na distribuição homogênea da heterocromatina em *S. coerulescens* e *S. similis*. Neste último é possível se observar uma forte marcação centromérica nos cromossomos do par sete, e o cromossomo sexual Z apresenta os braços curtos completamente heterocromáticos, situação que não foi observada em *P. aureoventris*.

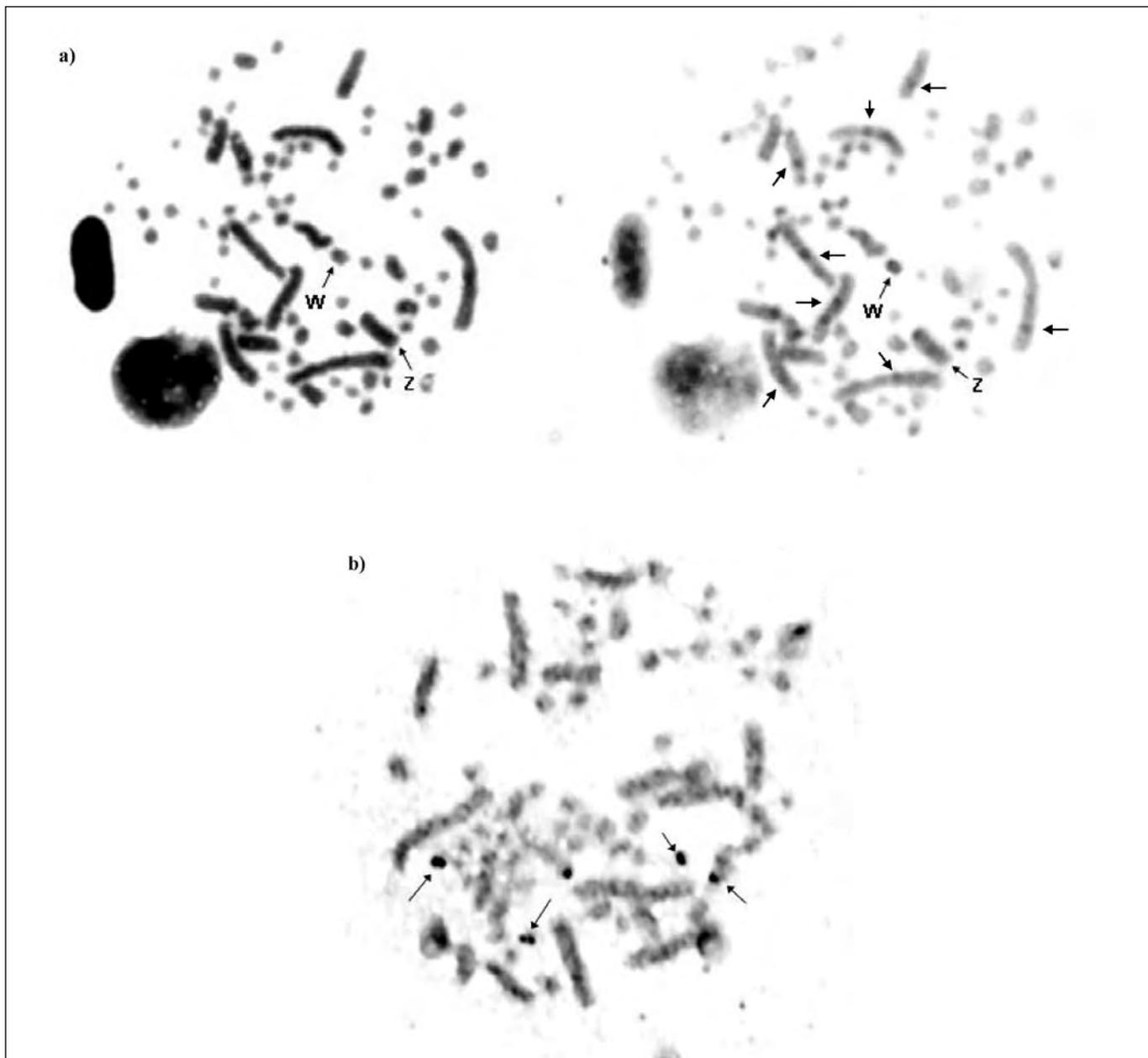


Figura 2. (a) Análise seqüencial Giemsa - Banda C de um exemplar fêmea de *Pheucticus aureoventris*. As setas indicam os cromossomos sexuais Z e W e as marcações intersticiais nos braços longos dos primeiros pares de macrocromossomos; (b) Regiões organizadoras do nucléolo de *P. aureoventris*, indicadas pelas setas.

Figure 2. (a) Sequential analysis, Giemsa-C banding, of a female *Pheucticus aureoventris*. The arrows indicate the sexual chromosomes, Z and W, as well as the interstitial marks occurring in the long arms of the first macrochromosome pairs; (b) NORs of *P. aureoventris* indicated by the arrows.

P. brissonii difere de *P. aureoventris* tanto no número diplóide, $2n = 76$, quanto na morfologia do cromossomo Z, o qual é metacêntrico (Carvalho 1989). No entanto, com relação a *C. cardinalis* (Bass 1979), a principal diferença observada é no número diplóide de $2n = 84$. Além disso, nesta espécie foi descrito um polimorfismo cromossômico no 5º par do complemento, o qual pode ser submetacêntrico ou subteloicêntrico. O cromossomo Z é subteloicêntrico e o W telocêntrico.

A partir dos resultados obtidos até o momento para a subfamília Cardinalinae, é possível observar que existem importantes variações no número diplóide, provavelmente causadas por rearranjos do tipo Robertsonianos. Os dados aqui apresentados representam um passo inicial para o entendimento da evolução cariotípica do gênero *Pheucticus*. Portanto, novos aportes para este grupo serão necessários para um correto entendimento das diferentes estratégias evolutivas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a valiosa colaboração do Dr. José Dipierri, do Laboratório de Genética do Hospital Dr. Héctor Quintana, San Salvador de Jujuy, Argentina, ao Dr. Ricardo Gunski da UFT, Dr. Andrés Delgado Cañedo e a Msc. Adriana Sassi da UFRGS, pela revisão crítica e pelos comentários que melhoraram substancialmente o presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- Bass, R. A. (1979) Chromosomal polymorphism in cardinal *Cardinalis cardinalis*. *Can. J. Genet. Cytol.* 21:459-553.
- Cabanne, G. S., R. J. Gunski, e J. R. Contreras (1997) Primeros resultados de estudios citogenéticos en *Saltator coerulescens* y *Saltator similis* (Aves: Emberizidae). Corrientes. Argentina: VI Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral.
- Carvalho, M. W. (1989) *Estudos Citogenéticos na Família Fingillidae (Passeriformes: Aves)*. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre: Universidade Federal de Rio Grande do Sul.
- Gunski, R. J., A. del V. Garnero, M. A. Ledesma e L. Pereira Dos Santos (2004) Resultados de 10 anos de pesquisas citogenéticas em aves da Argentina. Santa Catarina: *XII Congresso Brasileiro de Ornitologia*.
- Herrán, M., P. Perovic, P. Marconi, e N. Aguilera (2003) Las Yungas - Informe Completo. <http://www.jaguares.com.ar/yungas/descripcion.html>.
- Howell, W. M. e D. A. Black (1980) Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36:1014-1015.
- Ledesma, M. A., A del V. Garnero, e R. J. Gunski (2002) Análise do Cariótipo de duas espécies da Família Formicariidae (Aves: Passeriformes). *Ararajuba* 10:15-19
- Levan, A., K. Fredga, e A. Sandberg (1964) Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
- Lucca, E. J. (1974) Cariótipo de 14 espécies de Aves das Ordens Cuculiformes, Galliformes, Passeriformes e Tinamiformes. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 7:253-263.
- Narosky T. e D. Yzurieta (1987) *Guía para la identificación de las Aves de Argentina y Uruguay*. Asociación Ornitológica del Plata.
- Sumner, A. T. (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl. Cell. Res.* 75:304-306.