

Sexagem citogenética em passeriformes (aves) Cytogenetic sex detection in passeriformes (aves)

Beatriz Goldschmidt,* Denise Monnerat Nogueira,** Kátia Pacheco,*** Lucia Moreno de Souza*

Resumo

Foi realizada a análise citogenética em 17 aves de seis espécies da ordem Passeriformes, utilizando o método de cultura de polpa de penas jovens: sexagem. O objetivo deste trabalho é divulgar tal método, que permite um procedimento completamente inofensivo para estas aves, em geral de pequeno porte.

Palavras-chave: aves; cromossomos; sexagem.

No Brasil, um grande número de espécies de aves vem desaparecendo de seu *habitat*, vítimas da captura e da destruição das florestas.

Tentando preservar estes animais, principalmente as espécies ameaçadas de extinção, zoológicos, Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis) e alguns criadores conservacionistas vêm tentando conseguir a reprodução em cativeiro. A formação de casais, estratégia principal para o sucesso reprodutivo, muitas vezes não se processa facilmente. Em muitas espécies de aves o dimorfismo sexual aparente só se verifica quando o animal se torna adulto, e em outras, esta diferença nunca se apresenta.

Dentre as técnicas que permitem a sexagem de aves, como a laparoscopia, exames hormonais, reversão cloacal, análise molecular e a citogenética, esta última pode ser considerada uma das mais indicadas para aves da ordem Passeriformes, pelo reduzido tamanho da maioria das espécies, além da facilidade de execução.

Ao contrário dos mamíferos, nas aves o sistema cromossômico de determinação sexual é do tipo ZZ:ZW, pois a heterogametia ocorre na fêmea.

De modo geral, nas aves, o número de cromossomos está por volta de 80, entre os quais a minoria (12 a 18) é considerada grande e chamada macrocromossomo. Os demais são muito pequenos e chamados microcromossomos.

Na maioria das espécies de aves, a sexagem é realizada com certa facilidade devido ao tamanho contrastante dos cromossomos sexuais, sendo o Z bem maior que o W.

O estudo citogenético nas aves fornece também informações a respeito de relacionamentos filogenéticos entre as

espécies e direção dos processos envolvidos na especiação (Ray-Chandhuri et al., 1969; Takaji e Sasaki, 1974; De Boer, 1976, Shields, 1982; Goldschmidt et al., 1997).

O estudo dos cromossomos depende fundamentalmente da obtenção de um bom índice mitótico e da qualidade das preparações. Existem várias técnicas que possibilitam a obtenção de cromossomos metafásicos para a análise citogenética. Entre estas podemos citar: cultura de linfócitos, cultura de polpa de penas, método direto utilizando medula óssea, método direto utilizando células de embriões.

Das 9.021 espécies de aves existentes no mundo, cerca de 5.100 são representantes da ordem Passeriformes, constituindo a ordem mais numerosa dentro da classe (Sick, 1996).

Na ordem Passeriformes, devido ao pequeno porte, predominam os estudos citogenéticos baseados nos métodos diretos de obtenção de metafases, utilizando-se medula óssea ou embriões (Van Brink, 1959; Ohno et al., 1964; Hammar, 1970; Bulatova, 1973; De Lucca, 1974). Como estes métodos levam o animal à morte, tornou-se necessário o desenvolvimento de técnicas que preservassem a vida.

Este trabalho tem por objetivo aplicar o método de cultura de polpa de penas jovens em espécies da ordem Passeriformes, visando à sexagem, assim como divulgá-lo, a fim de permitir estudos citogenéticos e de filogenia sem que haja o sacrifício do animal.

Originários de criatórios conservacionistas particulares, foram analisadas 17 aves da ordem Passeriformes pertencentes às seguintes espécies:

*Professoras da Faculdade de Veterinária, UFF, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ, CEP 24230-340.

**Aluna de pós-graduação (UERJ).

***Aluna de graduação (UFF).

Nº de aves	Espécie	Nome vulgar
03	<i>Orizoborus maximiliani</i>	Bicudo
03	<i>Turdus fumigatus</i>	Sabiá-da-Mata
03	<i>Saltator similis</i>	Trinca-Ferro
01	<i>Saltator atricollis</i>	Bico-de-Pimenta
03	<i>Ramphocelus bresilius</i>	Tié-Sangue
04	<i>Gracula religiosa</i>	Mainá

As preparações citológicas foram obtidas a partir de bulbos de penas jovens, seguindo-se a técnica desenvolvida por De Lucca e Rocha (1992).

Nos animais adultos, quatro penas são retiradas da asa, e, após um período de aproximadamente 10 dias, são obtidos os bulbos jovens, onde se encontra grande número de células em divisão. Com auxílio de pinça, retira-se o tecido gelatinoso do interior dos bulbos, macerando-se até a obtenção de uma massa celular.

Coloca-se o material em 10ml de meio de cultura RPMI 1640 e dilui-se, homogeneizando com auxílio de pipeta Pasteur. Adicionam-se 6 gotas de solução de colchicina a 0,0016% e incuba-se a 37°C por 40min. Após este tempo, centrifuga-se por 10min a 1000rpm e retira-se o sobrenadante, substituindo-o por 10ml de KCl 0,075N, deixando-se a 37°C por 30min. Após este tempo, centrifuga-se novamente, e substitui-se o sobrenadante por 5ml de solução fixadora de metanol e ácido acético (3:1). Repetir este procedimento mais duas vezes e diluir o sedimento em aproximadamente 0,5ml de solução fixadora. Pingar o material sobre lâmina previamente lavada e deixar secar antes de corar em solução de Giemsa 3% em tampão fosfato pH 6.8 por 7min.

Em animais jovens (aproximadamente 10 dias) basta utilizar diretamente as penas da asa, que são naturalmente jovens.

As melhores metáfases foram fotografadas ao microscópio para montagem do cariótipo.

O método que utiliza bulbo de penas jovens em Passeriformes forneceu material em quantidade e qualidade satisfatórios para o estudo dos cromossomos das espécies, permitindo sua padronização e sexagem.

Nas aves jovens foi observado um índice mitótico superior ao das aves adultas.

Abstract

Cytogenetic study was carried out in 17 birds of six species of Passeriformes order, utilizing the young pulp feather culture method. Objective is to divulge the utilization of this inoffensive method to study small birds chromosomes.

Keywords: birds; chromosomes; sex determination.

Em todas as espécies de Passeriformes analisadas neste trabalho, o cromossomo Z consiste de um macrocromossomo submetacêntrico, de tamanho aproximado ao 4º par, e o cromossomo W, um pequeno cromossomo que variou de acrocêntrico a metacêntrico, dependendo da espécie.

Nas espécies cujo cariótipo ainda não é conhecido, necessita-se estudar primeiro uma fêmea para identificar o cromossomo que não tenha homólogo e que será correspondente ao cromossomo Z. O macho, portanto, será portador de dois destes cromossomos. O cromossomo W muitas vezes confunde-se com os microcromossomos, sendo de difícil identificação na maioria das espécies pela técnica convencional de coloração.

O cromossomo sexual Z se apresenta correspondente em tamanho ao 4º ou 5º par na maioria das espécies analisadas, embora algumas tenham sido descritas com o cromossomo Z correspondendo ao 1º par (Boer, 1976; Boer e Sinoo, 1984; Bulatova, 1973; Renzoni e Vegni-Talluri, 1966; e Belterman e Boer, 1984).

Embora em algumas espécies tenha sido observado um cromossomo W tão grande quanto o Z (Lucca e Aguiar, 1976; Boer, 1976; Boer e Sinoo, 1984; Bulatova, 1973; Renzoni e Vegni-Talluri, 1966), na maioria das espécies analisadas este cromossomo corresponde em tamanho ao 8º, 9º ou 10º par devido à redução de tamanho que sofreu durante o processo evolutivo (De Lucca, 1977).

A técnica de cultura de polpa de penas jovens em Passeriformes apresenta vantagens sobre os outros métodos de obtenção de cromossomos. Mantém a ave viva, o que não é possível nos outros métodos, permitindo, além do estudo dos cromossomos, a sexagem. Um dos problemas desta técnica, é que os bulbos de pena devem ser retirados, e o material, implantado em no máximo 12 horas, sempre mantido resfriado, o que prejudica a análise de aves que se encontrem em lugares de difícil acesso. Além disso, o pequeno calibre das penas requer maior delicadeza na retirada do tecido que será cultivado para obtenção dos cromossomos.

O maior índice mitótico obtido em pássaros jovens, na primeira plumagem, é um reflexo da grande intensidade de proliferação celular dos tecidos em tal fase da vida. Nesta idade, a sexagem é muito interessante, pois permite a projeção dos pares para a formação de futuros casais.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pelos recursos necessários à realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

- BELTERMAN, R. H. R., BOER, L. E. M. A. karyological study of 55 species of birds, including karyotypes of 39 species new to cytology. *Genetica*, n. 65, p. 39-82, 1984.
- BOER, L. E. M. The somatic chromosome complement of 16 species of Falconiformes (Aves) and the karyological relationships of the order. *Genetica*, n. 46, p. 77-113, 1976.
- _____, SINO, R. P. A karyological study of Accipitridae (Aves Falconiformes), with karyotypic descriptions of 16 species new to cytology. *Genetica*, n. 65, p. 89-107, 1984.
- BULATOVA, N. S. Unusually large Sex chromosome in some larks (Aves:Alaudidae). *Mamm. Chrom. Newsl.*, n. 14, p. 150-151, 1973.
- GOLDSCHMIDT, B., NOGUEIRA, D. M., MONSORES, D. W., SOUZA, L. M. Chromosome Study in Two Aratinga species (*A. guarouba* and *A. acuticaudata*) (Psittaciformes). *Ver. Bras. Genet.* v. 20, n. 4, p. 659-662, 1977.
- HAMMAR, B. The karyotypes of thirty-one birds. *Hereditas*, n. 65, p. 29-58, 1970.
- LUCCA, E. J. Cariótipos de 14 espécies de aves das ordens Cuculiformes, Galliformes, Passeriformes e Tinamiformes. *Ver. Bras. Pesq. Med. Biol.* v. 7, n. 3, p. 253-263, 1974.
- LUCCA, E. J. Microcromossomos e cromossomos sexuais em aves. *Ver. Bras. Biol.* v. 37, n. 2, p. 241-246, 1977.
- _____, AGUIAR, M. L. R. Chromosomal evolution of Columbiformes (Aves). *Caryologia*, v. 29, n. 1, p. 59-68, 1976.
- _____, ROCHA, G. T. Citogenética de aves. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, sér. Zool.* v 8, n. 1, p. 33-68, 1992.
- RAY-CHAUDHURI, R., SHARMA, T., RAY-CHAUDHURI, S. P. A comparative study of the chromosome of birds. *Chromosoma*, n. 26, p. 148-168, 1969.
- SHIELDS, G.F. Comparative avian cytogenetics: a review. *Condor*, n. 84, p. 45-58, 1982.
- OHNO, S., STENIUS, C. S., CHRISTIAN, L. C., BEČAK, W., BEČAK, M. L. Chromosomal uniformity in the avian subclass Carinatae. *Chromosoma*, n. 15, p. 280-288, 1964.
- RENZONI, A., VEGNI-TALLURI, M. The karyotypes of some Falconiformes and Strigiformes. *Chromosoma*, n. 20, p. 133-150, 1966.
- TAKAGI, N., SASAKI, M. A phylogenetic study of birds karyotypes. *Chromosoma*, n. 46, p. 91-120, 1974.
- VAN BRINK, J. M. L'expression morphologique de la diagamétic chez le sauropsidés et les monotrèmes. *Chromosoma*, n. 10, p. 1-72, 1959.

CETUS

NIKON (Japão)
Distribuidor Nacional

Cetus Hospitalar Comércio e Representações Ltda.

**Microscópios Biológicos e Industriais - Espectrofotômetros -
Deonizadores - Kits para bioquímica - Contador de Células
Assistência Técnica**

Rua Lopes Trovão, 75 - Benfica
20920-310 - Rio de Janeiro - RJ
Tel.: (21) 568-9345
Fax: (21) 264-3628
E-mail: cetus@abeunet.com.br