



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

*Campus* São Gabriel

CITOGENÉTICA EM CORACIIFORMES (AVES).

PRIMEIRO REGISTRO CARIOTÍPICO DE *MEGACERYLE*

*TORQUATA* (ALCEDINIDAE)

JEAN CARLO PEDROSO DE OLIVEIRA

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

CITOGENÉTICA EM CORACIIFORMES (AVES). PRIMEIRO  
REGISTRO CARIOTÍPICO DE *MEGACERYLE TORQUATA*  
(ALCEDINIDAE)

JEAN CARLO PEDROSO DE OLIVEIRA

Monografia apresentada à Comissão de Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa — UNIPAMPA, *Campus* São Gabriel, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Anália Del Valle Garnero

Rio Grande do Sul

Junho de 2011

CITOGENÉTICA EM CORACIIFORMES (AVES). PRIMEIRO  
REGISTRO CARIOTÍPICO DE *MEGACERYLE TORQUATA*  
(ALCEDINIDAE)

JEAN CARLO PEDROSO DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: ANALÍA DEL VALLE GARNERO

Monografia submetida à Comissão de Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Biológicas, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada por:

---

Presidente, Prof.

---

Prof.

---

Prof.

São Gabriel, Junho de 2011

## FICHA CATALOGRÁFICA

**OLIVEIRA, Jean Carlo Pedroso de**

Citogenética em Coraciiformes (Aves). Primeiro registro cariotípico de *Megaceryle torquata* (Alcedinidae)/ Jean Carlo Pedroso de Oliveira. – Rio Grande do Sul: UNIPAMPA, *Campus São Gabriel*, 2011.

IX, 17 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Anália del Valle Garnero

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – UNIPAMPA/ *Campus São Gabriel*/ Trabalho de Conclusão de Curso, 2011.

Referências: f. 15-17.

1. Citotaxonomia. 2. Citogenética de Aves. 3. Descrição cariotípica. 4. Bandeamento cromossômico. 5. *Megaceryle torquata*. 6. Citogenética Animal – Monografia I. Garnero, Anália del Valle. II. Universidade Federal do Pampa, *Campus São Gabriel*, Trabalho de Conclusão de Curso. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

À Profa<sup>a</sup> Dra. Anália del Valle Garnerero pela orientação e incentivo no trabalho com citogenética de Aves.

Ao Mario Ledesma pela amizade e ensinamentos na área de citogenética, bem como diversos outros assuntos, sempre acompanhados de um bom vinho ou mate.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. José Ricardo Gunski pelo acompanhamento e oportunidades de trabalho com citogenética e ecologia de aves.

Aos meus amigos que de alguma forma sempre estiveram comigo apoiando e proporcionando momentos de alegria, seja no campo, no laboratório ou nas gauchadas.

Aos funcionários do Parque Ecológico El Puma.

A Universidade Federal do Pampa por crescer comigo nestes anos.

Ao meu tio Clóvis Juarez Pedroso de Oliveira por tudo.

Ao meu pai que sempre me apoiou no que quer que fosse.

E à minha mãe, a quem dedico este trabalho.

## RESUMO

CITOGENÉTICA EM CORACIIFORMES (AVES). PRIMEIRO REGISTRO CARIOTÍPICO DE *MEGACERYLE TORQUATA* (ALCEDINIDAE)

Os problemas taxonômicos têm sido resolvidos aos poucos no grupo das Aves, utilizando técnicas moleculares, osteológicas e comportamentais de modo geral. A análise filogenética utilizando características cromossômicas é relativamente simples, porém, apenas uma parcela reduzida de espécies tem seu cariótipo descrito e, menos ainda, utilizando marcações diferenciais. Aqui foram descritos o cariótipo da espécie *Megaceryle torquata*, seu padrão de bandeamento C e NORs, e a biometria dos primeiros 9 pares autossômicos mais o par sexual do complemento cromossômico. *M. torquata* apresentou um número cromossômico  $2n=84$ , onde os pares autossômicos 1, 3, 4 e 8 são submetacêntricos, os pares 2 e 5 são metacêntricos e os pares 6, 7 e 9 são acrocêntricos, sendo os demais microcromossomos acrocêntricos. Os cromossomos sexuais Z e W são submetacêntricos. Marcações positivas do bandeamento C podem ser vistas nos centrômeros de alguns macro e microcromossomos. O cromossomo W apresentou marcações heterocromáticas centroméricas, em todo o braço curto e intersticial no braço longo, e o cromossomo Z apenas marcação tênue na região centromérica. O bandeamento NORs marcou a região pericentromérica do braço curto do par 6.

Palavras-chave: Citotaxonomia, Bandeamento C, Bandeamento NORs, Biometria cromossômica, Martim-pescador-grande.

## ABSTRACT

CYTOGENETICS IN CORACIIFORMES (AVES). A FIRST RECORD ON *M. TORQUATA*, (ALCEDINIDAE)

The taxonomic problems have been solved gradually in the group of birds, using molecular, skeletal and behavioral analysis generally. Phylogenetic investigation by cytogenetics is relatively simple, however, only a small fraction of species has its karyotype described, much less using markup differences. Here were described the karyotype of *Megaceryle torquata*, its pattern of C- and NOR-banding, and also a biometric analysis of the chromosome complement. *M. torquata* presents a chromosome number  $2n = 84$ , in which the autosomal pairs 1, 3, 4 and 8 are submetacentric, pairs 2 and 5 are metacentric and the pairs 6, 7 and 9 are acrocentric, with the remaining microchromosomes acrocentric. The sex chromosomes Z and W are submetacentric. Positive tags of C-banding can be seen in centromeres of some macro and microchromosomes. The chromosome W showed marks of heterochromatin in centromeric region, the entire short arm and interstitial region of the long arm, the chromosome Z only faint labeling in the centromeric region. The NORs' bands marked the pericentromeric short arm of pair 6.

Key-words: Cytotaxonomy, C-banding, NOR-banding, Biometric analysis, Ringed kingfisher.

## SUMÁRIO

Resumo .....	vi
<i>Abstract</i> .....	vii
Sumário .....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	6
4. RESULTADOS .....	10
5. DISCUSSÃO .....	15
6. CONCLUSÕES .....	16
7. REFERÊNCIAS .....	17
8. FIGURAS E TABELAS .....	
8.1. Figura 1.....	1
8.2.Figura 2.....	4
8.3. Figura 3.....	6
8.4. Figura 4.....	7
8.5. Figura 5.....	10
8.6. Figura 6.....	12
8.7. Figura 7.....	13
8.9. Figura 8.....	14
8.11. Tabela 1 .....	11



“ESTAMOS TÃO DISTANTES DISSO”, DISSE ELE OBSERVANDO O VÔO  
AO SOM DAS CALANDRIAS...

## Introdução

### Os Coraciiformes

O táxon Coraciiformes tradicionalmente inclui tanto os Bucerotiformes como Leptosomatidae. Sendo assim, também se inclui os Piciformes e Trogoniformes, mantendo o monofiletismo do grupo (Hackett *et al.* 2008).

Como ordem, os Coraciiformes apresentam uma diversidade morfológica muito grande, com plumagem colorida e brilhante, com cabeça grande, pescoço e pernas curtas e a maioria com bico longo e largo (Fry & Fry 1999).

Em uma recente revisão taxonômica, ficou determinada a divisão do grupo tradicional em três ordens: Bucerotiformes, Upupiformes e Coraciiformes. Sendo que neste último, há suporte de um clado compreendendo as famílias Alcedinidae, Halcyonidae, Cerylidae e Momotidae, havendo conexão entre estes e os Coraciidae ou Meropidae (Christidis & Boles 2008). Estas famílias apresentam características osteológicas cranianas particulares que as diferem, como caracteres que são comuns a dois ou mais táxons, especialmente nas categorias de gêneros, subfamílias e famílias (Pascotto *et al.* 2006).

O reconhecimento de que o clado compreende os Upupiformes e Phoeniculidae tem ganhado força, assim como destes dois com os Bucerotiformes, com o aumento da segregação cada vez maior deste grupo (Hackett *et al.* 2008) (Fig. 1).

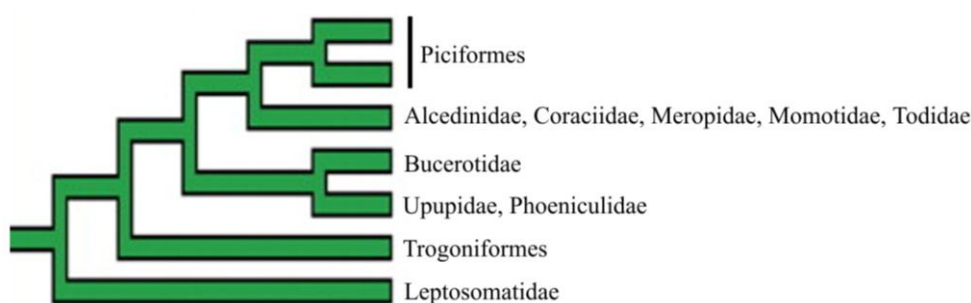


Figura 1. Filogenia do grupo contendo Coraciiformes. Somente relações com valores de bootstrap maiores que 50% são mostradas. Adaptado de Hackett *et al.* 2008.

## Citogenética de Aves

Desde que Sturtevant, em 1925, constatou que o efeito de um *locus* não depende somente da natureza do gene, mas também da sua posição em relação a outros *loci*, os rearranjos cromossômicos tomaram importância como geradores de variabilidade genética. Com conteúdo gênico próprio e arranjo espécie-específicos, o cariótipo deve prover um relacionamento filogenético, bem como tendências evolutivas em vários níveis taxonômicos (Waldrigues 1982, Pieczarka & Nagamachi 2004).

Da ordem Coraciiformes, e Aves em geral, existe um número reduzido de estudos citogenéticos com descrição de cariótipos e trabalhos referentes a padrões de marcações por técnicas básicas de bandeamento estão representados em apenas uma parcela destes. Estima-se que apenas 4-5% do total de Aves tem seu cariótipo descrito (Tegelstrom 1983). Este percentual não se alterou significativamente desde então, permanecendo pouco representativo diante do número de espécies conhecidas para as Aves.

O conjunto cromossômico das Aves é característico pela variação no tamanho, apresentando dois grupos distintos: os macro e microcromossomos. Dentre estes, em torno de 8-10 pares são macrocromossomos e cerca de 25-35 pares são microcromossomos. O número diplóide do grupo varia entre  $2n=40$  em *Ceratogymna bucinator* (Belterman & Boer 1990) e  $2n=40-42$  em *Burhinus oediconemus* (Bulatova 1971, Wenhui Nie *et al.* 2009), até  $2n=132$  em *Alcedo atthis* (Xiaozhuang & Qingwei 1989), mas de modo geral a maioria das espécies apresentam um cariótipo de  $2n=78-82$  cromossomos (Tegelstrom & Rytman 1981).

Todas as aves estudadas citogeneticamente apresentam o sistema cromossômico sexual ZZ(macho)/ZW(fêmea). Nas aves ratitas estes cromossomos diferem pouco em tamanho e possuem pouca heterocromatina. Já nas neognatas, o grupo mais diversificado de aves, o cromossomo W é visivelmente menor que o Z e se demonstra bastante heterocromático. Por este motivo, estes cromossomos apresentam uma região recombinante limitada (Pigozzi & Solari 1998, 1999). O cromossomo Z é bastante conservado e representa ~7-10% do genoma das aves. Porém, os Piciformes são característicos pelo cromossomo Z estendido, sendo este o maior cromossomo do complemento (Shields *et al.* 1982).

Além do cariótipo básico, a utilização de técnicas de coloração diferencial, como bandeamento cromossômico, fornece mais detalhes sobre o conjunto cromossômico, permitindo a identificação individual dos pares cromossômicos, distribuição e localização de segmentos específicos de DNA, detecção e interpretação de rearranjos genômicos, que

auxiliam no estabelecimento de relações cariotípicas e filogenéticas do grupo (de Oliveira *et al.* 2006).

Bed'Hom (2003) utilizou dados cromossômicos e moleculares para visualizar a evolução cariotípica e filogenia em uma espécie de Falconiformes. Porém, a falta de dados sobre padrões de bandeamento comprometeu análises mais específicas no trabalho, utilizando este tipo de informação.

Outra informação relevante a respeito do cariótipo das aves é de sua estabilidade evolutiva. Seus cariótipos se mantiveram mais conservados do que em outros grupos de animais, havendo homologias entre os mais distantes clados de aves. Sendo que os genomas estão relacionados a mudanças na estrutura, composição e número de cromossomos, as variações em cima disto são determinantes na diversidade fenotípica, onde a seleção natural atua. No entanto, algumas explicações são dadas, mas as Aves continuam sendo um grupo fascinante pela diversidade, mesmo com raros eventos de alteração no conjunto cromossômico (Ellegren 2010).

#### Martins-pescadores e o *Megaceryle torquata*

Os martim-pescadores (Alcedinidae) são caracteristicamente atarracados, medindo de 10 a 46 cm de comprimento e pesando de 9 a 490 g. Divididos nas três subfamílias Alcedininae, Dacelioninae e Cerylinae, contendo 92 espécies que estão distribuídas mundialmente principalmente na região tropical, apenas seis espécies de Cerylinae ocorrem no Novo Mundo, numa abrangência que vai do Alasca até a Terra do Fogo.

O gênero *Megaceryle* recentemente incorporou a espécie *M. torquata* (Fig. 2), antes considerada como pertencente ao gênero *Ceryle*, estando fortemente relacionada com *M. alcyon*, sendo consideradas como pertencentes a uma superespécie, que compreende os demais indivíduos do gênero (Moyle 2006).

Estudos de diversidade morfológica, comportamentais, osteológicos, moleculares utilizando DNA e RNA são importantes fontes de dados utilizadas para esclarecer as relações filogenéticas. Este estudo descreve o cariótipo, inclusive índices morfométricos referentes ao conjunto cromossômico, padrões de marcação das regiões organizadores de nucléolo (NORs) e de distribuição da heterocromatina (bandas C).



Fig. 2: Martim-pescador grande, *Megasceryle torquata*. Foto: Mario Ledesma

## **Objetivos**

Determinar as características cromossômicas através de análise citogenética e determinar os padrões de bandeamento C e NORs do martim-pescador-grande (*Megaceryle torquata*).

Analisar biometricamente os primeiros 9 pares autossômicos e o par sexual do cariótipo do martin-pescador-grande.

## Materiais e métodos

As amostras de dois exemplares (macho e fêmea) do martin-pescador-grande (*Megaceryle torquata*) analisadas foram gentilmente cedidas pelo Parque Ecológico El Puma (Fig. 3), localizado as margens do Rio Paraná em Candelaria-Misiones-Argentina (27°27'36.62"S - 55°48'10.39"O).



Figura 3. Parque Ecológico El Puma – Ministério de Ecologia, Recursos Naturais Renováveis e Turismo da Província de Misiones – Argentina. Foto: Google Earth

### Obtenção das metáfases e análise por coloração convencional

Para obtenção de material foram realizadas culturas de sangue total utilizando o meio de cultura PBMax (Gibco), que consiste nos seguintes passos:

- Retirada de 1 a 2 ml de sangue periférico da veia superficial da asa, utilizando seringa estéril e heparinizada, fazendo assepsia previa do local;
- Transferência do sangue para um tubo de cultura contendo 9 ml de meio de cultura;
- Incubação do tubo em estufa à 39°C durante 72 horas, acrescentando duas gotas de colchicina 0,05% na última hora de incubação;
- Centrifugação a 1000rpm durante 7 minutos descartando o sobrenadante;
- Adição de 10 ml de solução hipotônica (KCl 0,075 M), ressuspendendo o material e incubando novamente a 39°C durante 15 minutos;
- Pré-fixação do material acrescentando 0,5 ml de fixador Farmer (metanol 3:1 ácido acético), centrifugando a 1000 rpm durante 7 minutos, descartando o sobrenadante;

- Fixação do material adicionando 10 ml de Farmer, ressuspensando o material e centrifugando a 1000 rpm durante 7 minutos;
- Repetição desta última etapa por mais duas vezes;
- Adição de 5 ml de Farmer, ressuspensando o material e pingando uma ou duas gotas em uma lâmina de microscopia;
- Coloração com giemsa em buffer fosfato 0,06 M pH 6,8 por 10 minutos;
- Análise ao microscópio;
- As melhores metáfases foram fotografadas para confecção do cariótipo segundo a nomenclatura de Guerra (1986), que utiliza o sistema de quatro tipos cromossômicos: M para cromossomos metacêntricos; SM para os submetacêntricos, A para os acrocêntricos; e T para os telocêntricos (Fig. 4).

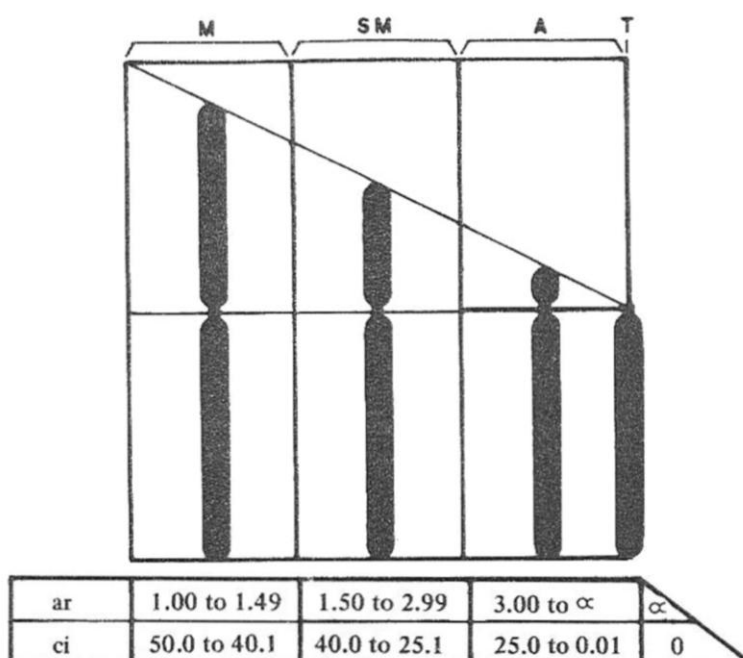


Figura 4. Limite dos valores morfométricos para cada tipo cromossômico. M, metacêntrico; SM, submetacêntrico; A, acrocêntrico; T, telocêntrico; ar, arm ratio; c.i., índice centromérico (Guerra 1986).



## Técnicas de coloração diferenciais

### Bandeamento C

Para visualização das regiões heterocromáticas, foi aplicada a metodologia proposta por Sumner(1972) com modificações, como descrito a seguir:

- As lâminas contendo material celular foram submergidas em HCl 0,02N por 20 minutos a temperatura ambiente e posteriormente lavadas em água destilada;
- Então, estas mesmas lâminas, foram submergidas em uma solução de Ba(OH) a 2%, à temperatura de 60°C por 5-7 segundos;
- Após, lavou-se estas lâminas em HCl 0,01N para remover o excesso de bário, e após em água destilada;
- Estas foram incubadas em solução de 2xSSC a 60°C por pelo menos 1 hora;
- Por último, foram lavadas em água corrente, e coradas com giemsa, conforme a técnica anterior.

### Bandeamento NORs

Para observar as regiões organizadoras do nucléolo foi feita impregnação por prata, utilizando a técnica de Howell e Black (1980) com adaptações, conforme descrito a seguir:

- Em uma câmara úmida, à 60°C, foi posta a lâmina contendo material e, então, agregou-se algumas gotas de solução coloidal e de  $\text{NO}_3\text{Ag}$ , formando uma fina camada sobre a mesma;
- Misturou-se suavemente as duas soluções e cobriu-se com uma lamínula;
- Incubou-se na câmara úmida por aproximadamente 10 minutos até que a lâmina adquirisse uma coloração marrom;
- Lavou-se a lâmina com água destilada e após a secagem foi feita a análise ao microscópio.

## Análise biométrica

Para a descrição cariotípica de *Megaceryle torquata*, foi feita a contagem manual do número diplóide de 30 metáfases, fotografando a de melhor composição (completa, sem sobreposição, coloração, condensação, etc.) para montagem do cariótipo. Utilizando o programa Micromeasure 3.3, foram medidos os comprimentos total, o de cada braço cromossômico e índices centroméricos (razão entre o tamanho do braço curto e o comprimento total de cada cromossomo) dos 9 primeiros pares de cromossomos autossômicos e dos cromossomos sexuais Z e W.

## Resultados

### Descrição cariotípica e biometria cromossômica de *Megaceryle torquata*

O martin-pescador *M. torquata* apresentou um número cromossômico  $2n=84$ , onde os pares 1, 3, 4 e 8 são submetacêntricos, os pares 2 e 5 são metacêntricos e os pares 6, 7 e 9 são acrocêntricos. Os cromossomos Z e W são macrocromossomos submetacêntricos. Os cromossomos restantes são microcromossomos acrocêntricos (Fig. 5; Tab. 1).

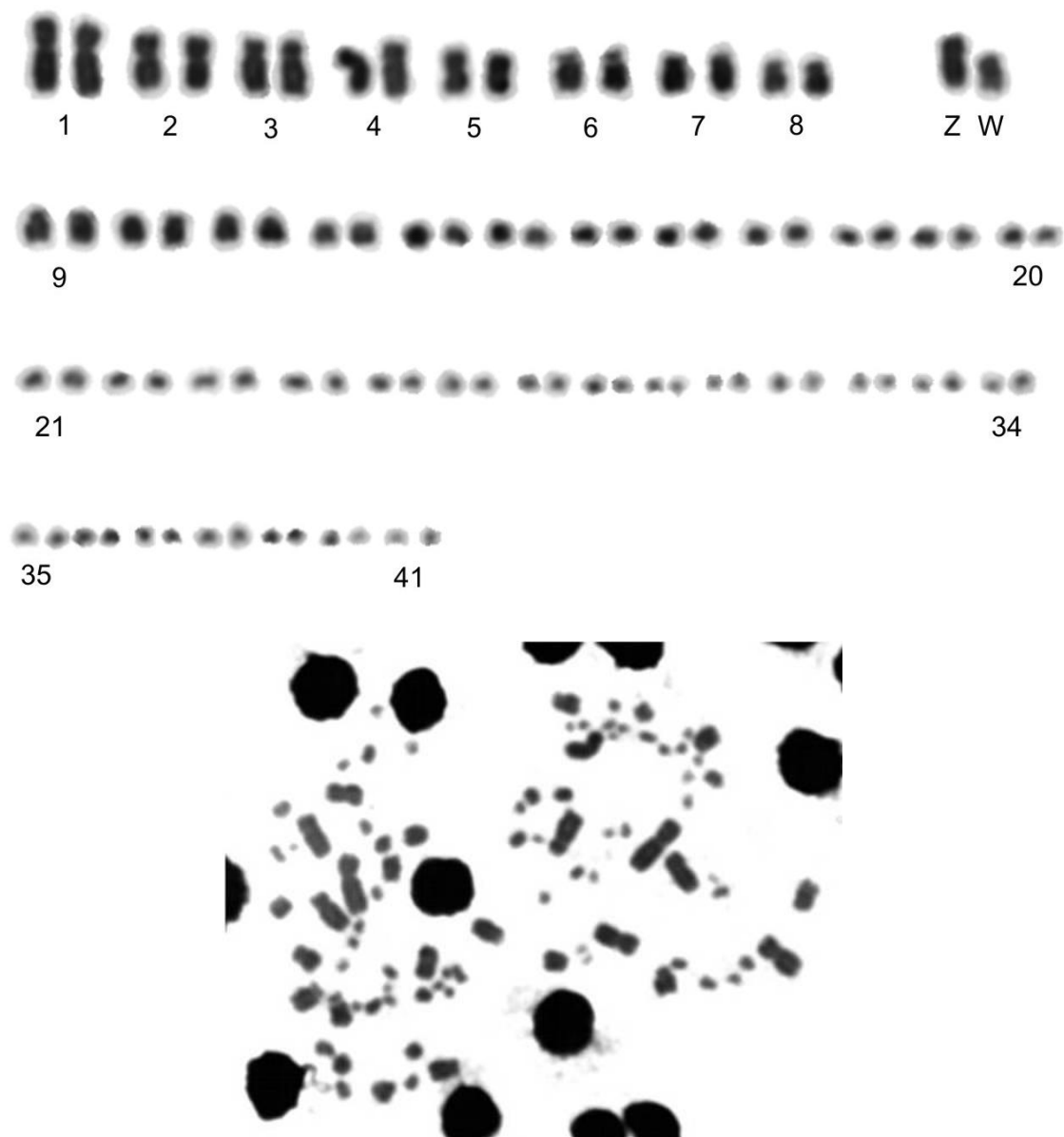


Figura 5. Cariótipo e metáfase do *M. torquata*.

Tabela 1. Índices cromossômicos e morfologia dos primeiros 9 pares autossômicos mais o par sexual de *M. torquata*..

Cromossomo	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	% do conjunto	Braço longo	Braço curto	Índice centromé-rico (S/(L+S))	Morfologia
1	11,83	15,75%	7,18	4,65	0,39	SM
2	8,73	11,63%	5,19	3,54	0,40	M
3	8,21	10,94%	6,03	2,19	0,26	SM
4	7,95	10,59%	5,72	2,23	0,28	SM
5	6,00	8,00%	3,57	2,43	0,40	M
6	5,77	7,69%	4,67	1,10	0,19	A
7	5,37	7,16%	4,32	1,06	0,19	A
8	4,43	5,90%	3,21	1,21	0,27	SM
9	4,18	5,57%	3,18	1,00	0,24	A
W	4,86	6,48%	3,61	1,25	0,26	SM
Z	7,72	10,29%	4,75	2,98	0,38	SM

S: comprimento do braço curto; L: comprimento do braço longo.

#### Coloração diferencial

A técnica de bandeamento C permitiu a observação de marcas positivas nas regiões centroméricas de alguns macros e microcromossomos. O cromossomo W apresentou marcações heterocromáticas na região centromérica, em todo o braço curto e marcações intersticiais e teloméricas no braço longo. O cromossomo Z apresentou marcação tênue na região centromérica (Fig. 6).

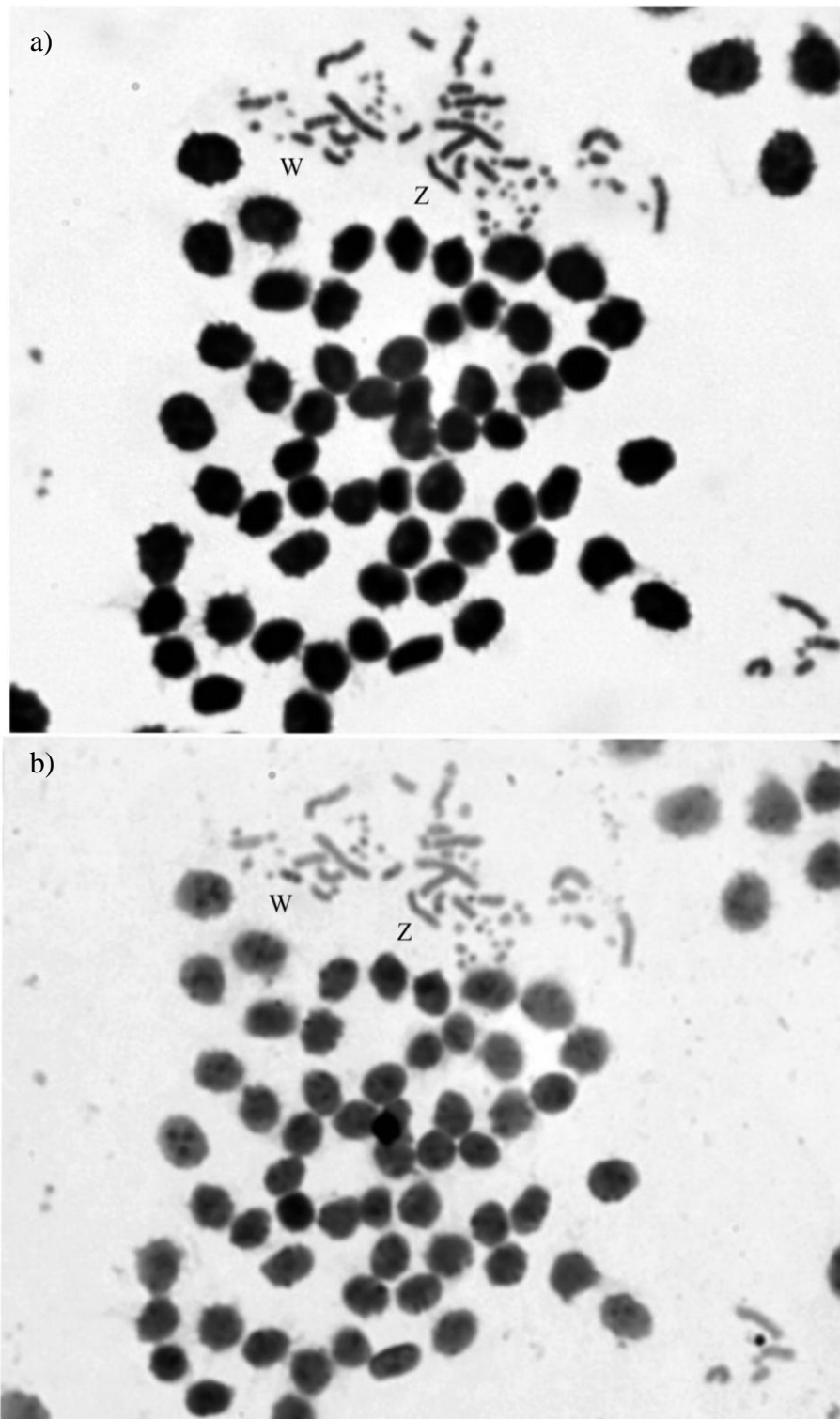


Figura 6. Metáfase com coloração sequencial giemsa (a) e banda C (b).

A impregnação por prata evidenciou a região organizadora do nucléolo (Fig. 7), transcricionalmente ativa (Sumner 2003), do braço curto do cromossomo 6 na região pericentromérica (Fig. 8).

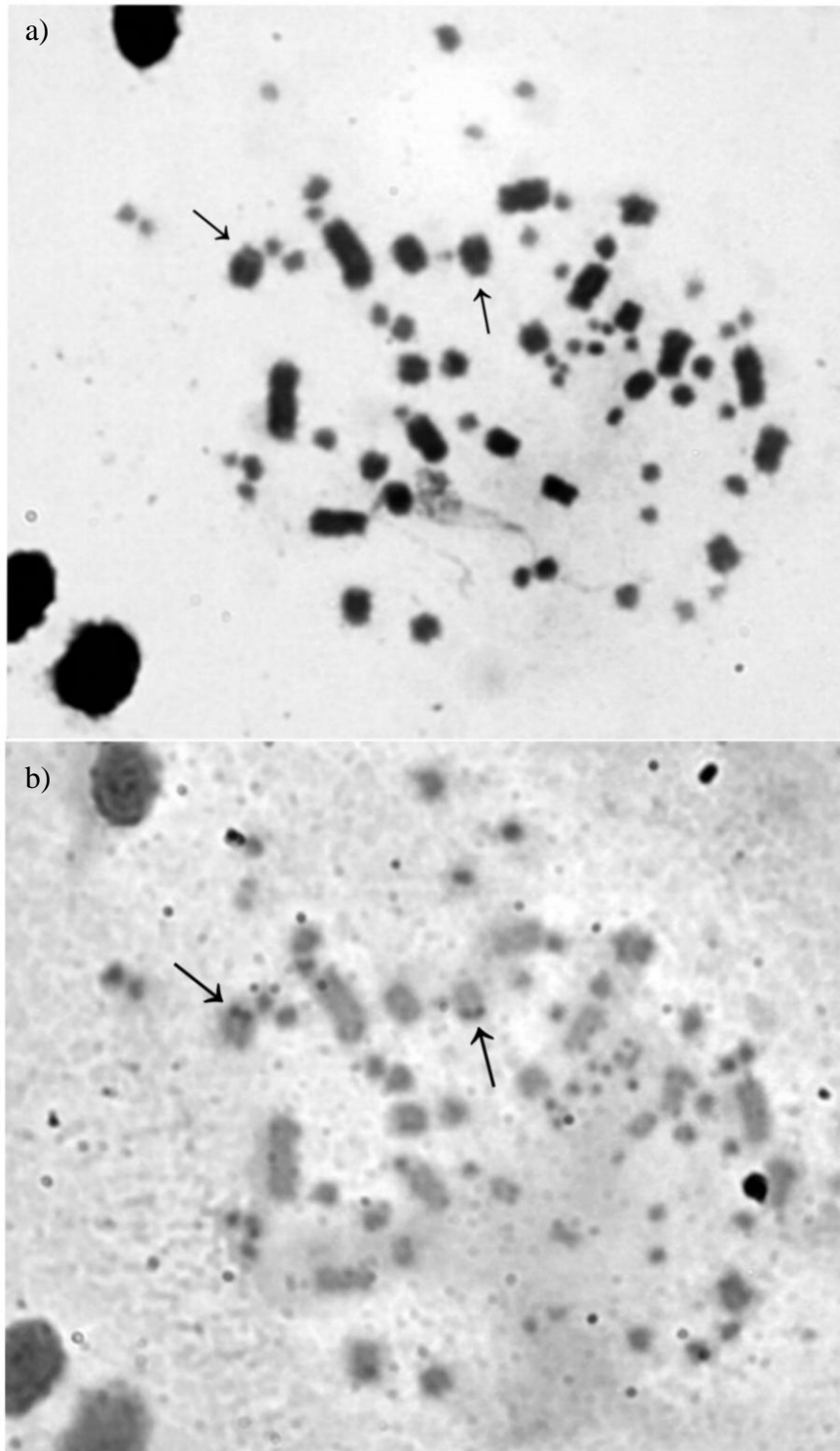


Figura 7. Metáfase em coloração seqüencial giemsa (a) e NORs (b).

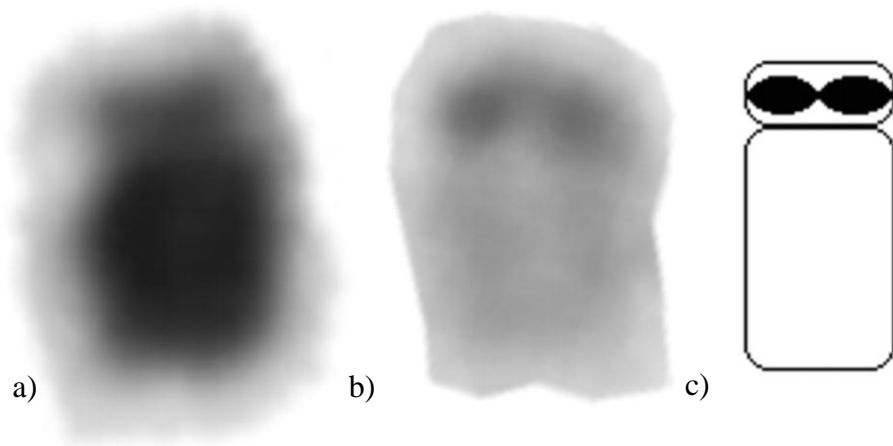


Figura 8. Cromossomo 6 corado com giemsa (a), com bandeamento NORs (b) e ideograma (c) indicando a região organizadora do nucléolo.

## Discussão

Embora o número de espécies com cariótipo descrito para a ordem Coraciiformes seja reduzido, o número cromossômico  $2n=84$  de *Megaceryle torquata* permite seu posicionamento próximo ao cariótipo geral das aves que fica entre 78-82 cromossomos. O cariótipo padrão das aves apresenta 8 macrocromossomos e cerca de 32 microcromossomos. O *M. torquata* apresentou 11 macrocromossomos e 29 microcromossomos. Uma possibilidade para isto seria a correlação negativa entre estes tipos cromossômicos, assim, a ocorrência de fusão entre microcromossomos com a formação de macrocromossomos (Tegelstrom *et al.* 1981).

O padrão de bandeamento C se demonstrou conservado, com marcações centroméricas e teloméricas, regiões conhecidas por possuírem DNA repetitivo. O cromossomo W das aves neognatas é condensado e muito menor que o Z, apresentando uma região de recombinação limitada. Isso é apresentado aqui, sendo que o cromossomo W demonstrou-se altamente heterocromático, com marcações positivas nas regiões do braço curto, centrômero e intersticiais do braço longo, e com aproximadamente metade do tamanho do cromossomo Z (7,72  $\mu\text{m}$ ), medindo 4,86  $\mu\text{m}$ .

O cromossomo Z tem um tamanho conservado, correspondendo ao 5º em tamanho, diferente dos Piciformes, grupo irmão dos Coraciiformes, onde o cromossomo Z é o maior do complemento.

A marcação de uma banda NORs em um macrocromossomo é um importante registro para a classe Aves, pois estes sítios ativos estão posicionados, geralmente, em um ou mais pares de microcromossomos (Gunki & Giannoni 1998). A identificação deste sítio em espécies próximas permitiria entender como este arranjo surgiu.



## Conclusões

O *Megaceryle torquata* apresentou um cariótipo próximo ao padrão das Aves, inclusive no que diz respeito aos cromossomos sexuais, e com tendência às espécies de número cromossômico elevado.

Os padrões de bandeamento C também se mantiveram conservados, mas o de bandeamento NORs confere uma importante característica ao conjunto cromossômico da espécie.

Na análise biométrica obteve-se de um índice centromérico bastante preciso dos macrocromossomos de *M. torquata*. E também permitiu observar os cromossomos sexuais em tamanho conservado para as aves.

## Referências

- Bed'Hom B, Coullin P, Guillier-Gencik Z, Moulin S, Bernheim A, Volobouev V. Characterization of the 173 atypical karyotype of the black-winged kite *Elanus caeruleus* (Falconiformes: Accipitridae) by means of 174 classical and molecular cytogenetic techniques. *Chromosome Research* 11: 335-343. (2003)
- Belterman RHB, De Boer LEM. A miscellaneous collection of bird karyotypes. *Genetica* 83:17-29. (1990)
- Bulatova N, Panov E, Radjabli S. Description of karyotypes of some birds from the USSR fauna. *Proc USSR Acad Sci* 199: 1420–1423. (1971)
- Christidis L, Boles WE. *Systematics and Taxonomy of Australian Birds*. Melbourne: CSIRO Publishing. (2008)
- de Oliveira EHC, Tagliarini MM, Nagamachi CY, Pieczarka JC. Comparação genômica em aves através de sondas cromossomo-específicas. *Revista Brasileira de Ornitologia* 14 (1) 47-52. (2006)
- Ellegren H. Evolutionary stasis: the stable chromosomes of birds. *Trends in Ecology & Evolution* 25 (5): 283-291. (2010)
- Fry CH, Fry K. *Kingfishers, bee-eaters, and rollers*. New Jersey, Princeton University Press, 324p. (1999)
- Guerra MS. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. *Revista Brasileira de Genética* 9: 741-743. (1986)
- Gunski, RJ; Giannoni, ML. Nucleolar organizer regions and a new chromosome number for *Rhea americana* (Aves: Rheiformes). *Genet. Mol. Biol.*, São Paulo, 21 (2). (1998)
- Hackett SJ, Kimball RT, Reddy S, Bowie RCK, Braun EL, Braun MJ, Chojnowski JL, Cox WA, Han KL, Harshman J, Huddleston CJ, Marks BD, Miglia KJ, Moore WS, Sheldon FH, Steadman DW, Witt CC, Yuri T. Phylogenomic Study of Birds Reveals Their Evolutionary History. *Science* 320 (5884): 1763-1768. (2008)
- Howell WM, Black DA. Controlled Silver Staining of Nucleolus Organizer Regions With a Protective Colloidal Developer: A L-Step Method. *Experientia, Alabama*. 36: 1014-1015. (1980)
- Moyle RG. A Molecular phylogeny of kingfishers (Alcedinidae) with insights into early biogeographic history. *The Auk*, 123(2): 487-499. (2006)

- Pascotto MC, Höfling E, Donatelli RJ Osteologia craniana de Coraciiformes (Aves). *Revista Brasileira de Zoologia* 23 (3): 841–864. (2006)
- Pieczarcka JC, Nagamachi CY. Pintura cromossômica como instrumento para estudos filogenéticos em primatas, p. 115-132. Em: M. Guerra (ed.). *FISH: Conceitos e Aplicações na Citogenética*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. (2004)
- Pigozzi MI, Solari AJ. Germ cell restriction and regular transmission of an accessory chromosome that mimics a sex body in the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Chromosome Research*, 6: 105-113. (1998)
- Pigozzi MI, Solari AJ. The ZW pairs of two paleognath birds from two orders show transitional stages of sex chromosome differentiation. *Chromosome Research*, 7: 541-551. (1999)
- Reeves A, Tear J. MicroMeasure for Windows, version 3.3. Free program distributed by the authors over the Internet from <http://www.colostate.edu/Depts/Biology/MicroMeasure>. (2000)
- Shields GF, Jarrell GH, Redrapp E. Enlarged Sex Chromosomes of Woodpeckers (Piciformes). *The Auk*. 99 (4): 767-771 (1982)
- Sumner AT. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental cell research*. 75: 304-306. (1972)
- Sumner AT. *Chromosomes: Organization and Function*. Blackwell, Malden. (2003)
- Tegelstrom H., Rytman H. Chromosomes in birds (Aves): evolutionary implications of macro- and microchromosome numbers and lengths.-*Hereditas* 94: 225-233. (1981)
- Tegelstrom H, Ebenhard T, Rytman H. Rate of karyotype evolution and speciation in birds. *Hereditas* 98: 235-239. (1983)
- Xiaozhuang B, Qingwei L. Studies on The Karyotypes of Birds V. The 20 species of climber birds. (Aves). *Zoological Research*. 10(4): 309-317. (1989)
- Waldrigues A. Citogenética de aves IV. Citotaxonomia e evolução. *Semina*. 3(11): 169-172. (1982)
- Wenhui Nie, O'Brien PCM, Ng BL, Fu B, Volobouev V, Carter NP, Ferguson-Smith MA, Yang F. Avian comparative genomics: reciprocal chromosome painting between domestic chicken (*Gallus gallus*) and the stone curlew (*Burhinus oedicnemus*, Charadriiformes)—An atypical species with low diploid number. *Chromosome Research* 17:99–113. (2009)