

## CARIÓTIPO DE DUAS ESPÉCIES DE AVES, *Fulica rufifrons* E *Aramides ypecaha* (GRUIFORMES)

ADAMOLI, JAILSON VIERIA<sup>1</sup>; MEDEIROS, FELIPE LOPES<sup>2</sup>; TOMA, GUSTAVO AKIRA<sup>3</sup>; FRANCA, RAQUELI TERESINHA<sup>4</sup>; ZEFA, EDISON<sup>5</sup>; KRETSCHMER, RAFAEL<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – jailson.adamoli@ufpel.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – felipelopesmedeiros16@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos – gustavo\_toma@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – raqueli.franca@ufpel.edu.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – ezefa@ufpel.edu.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – rafael.kretschmer@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

Estudos citogenéticos indicam que o cariótipo das aves se manteve estável ao longo de mais de 100 milhões de anos de evolução (GRIFFIN *et al.*, 2007; KRETSCHMER *et al.*, 2018; O'CONNOR *et al.*, 2024). O cariótipo típico das aves é caracterizado por um alto número diploide (aproximadamente  $2n=80$ ) e pela presença de um grupo de cromossomos chamados microcromossomos, que são pequenos e geralmente numerosos (GRIFFIN *et al.*, 2007; KRETSCHMER *et al.*, 2018; O'CONNOR *et al.*, 2024). O pequeno tamanho e grande quantidade torna os estudos citogenéticos em aves desafiadores, fazendo deste um dos grupos menos compreendidos em termos cromossômicos.

As aves são reconhecidas por sua alta diversidade, tanto em número de espécies, quanto em relação as suas diferenças morfológicas e ecológicas. Nesse sentido, uma das ordens que apresentam alta diversidade é a ordem Gruiformes. Atualmente, aproximadamente 190 espécies de Gruiformes são encontradas, distribuídas em cinco famílias: Heliornithidae, Aramidae, Gruidae, Psophiidae e Rallidae. Esta última é a mais diversificada, com cerca de 150 espécies, apresentando ampla distribuição geográfica e complexidade taxonômica (GILL *et al.*, 2024). As duas espécies foco deste estudo, *Fulica rufifrons* e *Aramides ypecaha*, pertencem à família Rallidae.

Nas espécies de Gruiformes estudadas citogeneticamente, observa-se elevada diversidade cromossômica, com o número diploide variando de 72 cromossomos em *Porzana albicollis* (GIANNONI & GIANNONI, 1983) até 92 em *Fulica atra* (HAMMAR, 1970). No entanto, são escassos os estudos citogenéticos em membros dessa ordem, e nenhuma espécie foi analisada quanto à distribuição de sequências ribossomais. Além disso, os cariótipos das duas espécies modelo deste estudo ainda não foram descritos.

O objetivo deste estudo foi descrever o cariótipo de duas espécies de aves Gruiformes, *F. rufifrons* e *A. ypecaha*, bem como o padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva e sequências ribossomais. Os resultados obtidos foram comparados com os dados da literatura e discutidos sob uma perspectiva evolutiva.

### 2. METODOLOGIA

As suspensões cromossômicas foram obtidas a partir da cultura direta de medula óssea de uma fêmea de *F. rufifrons* e uma de *A. ypecaha*, ambas coletadas

no município de Pelotas, Rio Grande do Sul, no Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS).

O protocolo de obtenção de cromossomos envolveu tratamento com colchicina (0,05%) a 37°C por 1 h, seguido por solução hipotônica 0,075 M, KCl a 37°C por 15 min, e fixação em metanol e ácido acético (3:1). O pellet obtido foi armazenado em freezer a -20°C para as análises cromossômicas.

A determinação do número diploide e a montagem do cariótipo foram realizadas em metáfases coradas com Giemsa (5% em tampão fosfato 0,07 M, pH 6,8). A distribuição de heterocromatina constitutiva foi obtida através do protocolo com hidróxido de bário proposto por SUMNER *et al.* (1972). A hibridização *in situ* fluorescente utilizando sondas de rDNA 18S marcadas com biotina e a detecção de sinal foram realizadas de acordo com DANIELS & DELANY (2003).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, descrevemos pela primeira vez o cariótipo das espécies de aves *F. rufifrons* e *A. ypecaha*.

*Fulica rufifrons* apresentou 92 cromossomos, com os seis primeiros pares exibindo morfologia metacêntrica ou submetacêntrica, enquanto os demais autossomos possuem morfologia acrocêntrica. O cromossomo Z é submetacêntrico, e o W, acrocêntrico. O cariótipo de *F. rufifrons* é bastante semelhante ao da única espécie do gênero previamente analisada, *F. atra*, que também apresentou 2n=92 e morfologias cromossômicas semelhantes (HAMMAR, 1970). A heterocromatina constitutiva em *F. rufifrons* foi claramente observada na região centromérica dos macrocromossomos, representados pelos primeiros seis pares de autossomos, incluindo os cromossomos sexuais. O cromossomo sexual W exibiu um grande bloco de heterocromatina na região pericentromérica, permitindo sua distinção dos demais cromossomos. Além disso, os dois primeiros pares mostraram um bloco de heterocromatina intersticial na região terminal do braço longo. As sequências rDNA 18S foram localizadas em dois pares de microcromossomos.

*Aramides ypecaha* apresentou 76 cromossomos, com o primeiro, segundo, quarto e quinto pares de homólogos exibindo morfologia submetacêntrica ou metacêntrica, enquanto o terceiro par é telocêntrico, assim como os demais cromossomos autossômicos. O cromossomo sexual Z apresentou morfologia metacêntrica, enquanto o W foi telocêntrico. O cariótipo de *A. ypecaha* é bastante semelhante ao das duas únicas espécies do gênero previamente analisadas, *Aramides cajaneus* e *Aramides saracura*, que apresentam 2n=78 e 80, respectivamente (DAVIDE, 1979; FURO *et al.*, 2020). A heterocromatina constitutiva foi encontrada na região centromérica dos primeiros cinco pares autossômicos. O cromossomo Z não apresentou heterocromatina constitutiva, enquanto o cromossomo W se mostrou quase totalmente heterocromático. As sequências rDNA 18S foram localizadas em dois pares de microcromossomos, assim como em *F. rufifrons*.

A análise cariotípica de *F. rufifrons* e *A. ypecaha* revelou que, embora essas espécies apresentem cariótipos distintos, elas compartilham certas características. *Fulica rufifrons* exibiu um número diploide elevado de 2n=92, enquanto *A. ypecaha* mostrou um número mais típico para aves, 2n=76. Notavelmente, o tamanho do cromossomo W diferiu significativamente entre as duas espécies, o que sugere a necessidade de estudos futuros para investigar seus conteúdos genômicos. Entre as características compartilhadas, destaca-se o padrão semelhante de distribuição

de heterocromatina constitutiva nos autossomos, além da presença de dois pares de microcromossomos contendo sequências de rDNA 18S. A presença de dois ou mais pares de microcromossomos com essas sequências é considerada uma característica derivada, visto que a maioria das espécies de aves, incluindo as aves basais, possuem apenas um par de microcromossomos com sequências 18S (KRETSCHMER *et al.*, 2018; NISHIDA-UMEHARA *et al.*, 2007).

#### 4. CONCLUSÕES

Este estudo fornece informações adicionais que destacam a alta diversidade cromossômica entre as aves Gruiformes. As espécies investigadas apresentaram tanto características cromossômicas compartilhadas quanto específicas. No entanto, são necessários estudos comparativos futuros com outras espécies da ordem. A aplicação de sondas cromossômicas de *Gallus gallus* também é essencial para identificar os rearranjos cromossômicos que moldaram os cariótipos dessas espécies.

Por fim, este trabalho representa um passo inicial na compreensão da evolução e organização cromossômica das espécies *F. rufifrons* e *A. ypecaha*.

#### 5. FINANCIAMENTO

O presente trabalho teve financiamento da Universidade Federal de Pelotas (bolsa de iniciação científica PBIP-AF) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (406747/2023-7).

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DANIELS, L.M.; DELANY, M.E. Molecular and cytogenetic organization of the 5S ribosomal DNA array in chicken (*Gallus gallus*). **Chromosome Research**, v, 11, 305–317, 2003.

DAVIDE, L.C. **Estudo do complemento cromossômico de algumas espécies da família Rallidae (Gruiformes)**. 1979. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Curso de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo.

FURO, I.D.O.; KRETSCHMER, R.; O'BRIEN, P.C.M.; PEREIRA, J.C.; FERGUSON-SMITH, M.A.; DE OLIVEIRA, E.H.C. Phylogenetic Analysis and Karyotype Evolution in Two Species of Core Gruiformes: *Aramides cajaneus* and *Psophia viridis*. **Genes**, v. 11, p. 307, 2020.

GILL, F.; DONSKER, D.; RASMUSSEN, P. (Eds). 2024. **IOC World Bird List (v14.1)**.

GRIFFIN, D.K.; ROBERTSON, L.B.W.; TEMPEST, H.G.; SKINNER, B.M. The evolution of the avian genome as revealed by comparative molecular cytogenetics. **Cytogenetic and Genome Research**, v.117, p.64-77, 2007.

HAMMAR, B. The karyotypes of thirty-one birds. **Hereditas**, v. 65, p. 29-58, 1970.

KRETSCHMER, R.; FERGUSON-SMITH, M.A.; DE OLIVEIRA, E.H.C. Karyotype

evolution in birds: from conventional staining to chromosome painting. **Genes**, v. 9, p. 181, 2018.

NISHIDA-UMEHARA, C.; TSUDA, Y.; ISHIJIMA, J.; ANDO, J.; FUJIWARA, A. et al. The molecular basis of chromosome orthologies and sex chromosomal differentiation in palaeognathous birds. **Chromosome Research**, v. 15, p. 721-734, 2007.

O'CONNOR, R.E.; KRETSCHMER, R.; ROMANOV, M.N.; GRIFFIN, D.K. A Bird's-Eye View of Chromosomic Evolution in the Class Aves. **Cells**, v. 13, p. 310, 2024.

SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 83, p. 438–442, 1972.