

# CITOGENÉTICA DE AVES. I. CARIOLOGIA DE AVES E O DESENVOLVIMENTO DA CITOGENÉTICA

ALDO WALDRIGUES\*

## RESUMO

Revisão bibliográfica visando relacionar o desenvolvimento da carilogia de aves com o desenvolvimento da citogenética em geral e mostrar a escassez de dados citogenéticos em relação às aves. Discussão das perspectivas de pesquisas nessa área do conhecimento.

## HISTÓRICO

O Brasil é um dos países do mundo que apresenta maior diversidade de espécies de aves (MAYR<sup>(20)</sup>). Tal fato se deve não só as suas vastas dimensões territoriais, mas, principalmente, às suas extensas florestas e climas tropical e subtropical, fatores que garantem enorme variedade de habitats naturais. Por outro lado, vemos, presentemente no Brasil, um intenso e extenso desmatamento para desenvolver atividades agropecuárias. Esta transformação ambiental fatalmente irá alterar profundamente os habitats, dificultando sobremaneira a sobrevivência de inúmeras espécies existentes nessa região. Além disso, após o desmatamento, há a utilização de defensivos agrícolas que irão contribuir ainda mais para o desaparecimento dessas espécies, entre as quais obviamente se incluem as aves.

Apesar da enorme diversidade e do iminente perigo de muitas espécies de aves brasileiras virem a passar para o rol das "espécies em fase de extinção", muito pouco se conhece citogeneticamente sobre as mesmas, principalmente pelas técnicas atuais de formação de bandas cromossômicas.

A escassez de dados citogenéticos não se verifica somente em espécies de aves brasileiras, mas em todas as espécies do mundo. Para nos certificarmos de tal aspecto, basta atentarmos para os dados de TAKAGI & SASAKI<sup>(33)</sup>, segundo os quais menos de 2 por cento de todas as aves foram estudadas cariotipicamente, e mais de 50 por cento de suas ordens não apre-

sentam quaisquer estudos citogenéticos. Isto é ainda mais expressivo quando se sabe que é a classe Aves a melhor classificada taxonomicamente, pois se admite ser conhecida em sua quase totalidade.

Talvez tenha contribuído decisivamente para este estrangulamento de conhecimento, o fato de as aves apresentarem um grande número de microcromossomos, os quais são de difícil caracterização morfológica e métrica, e, em consequência, não poderem ser contados acuradamente. Outro fator que também pode ter contribuído para o menor desenvolvimento da carilogia dos pássaros foi a crença inicial de que os cromossomos de aves são de "extremo conservadorismo estrutural".

minação do número de cromossomos nessa classe de vertebrados era bastante precária, limitando-se, na grande maioria dos casos, aos macrocromossomos. Por exemplo, Lécaillon, em 1910, admitiu a existência de doze cromossomos somáticos em *Gallus domesticus* e Guyer, em 1916, achou que o pombo possuía dezesseis elementos nas suas espermatogônias, oito nos citos I e quatro nos citos II; em relação aos heterocromossomos esse autor concluiu que a diagametia seria do tipo: ♂ XX; ♀ XO (segundo MATTHEY<sup>(19)</sup>).

Após 1914, com o uso dos fixadores Bouin-Allen e Flemming-acético, a carilogia das aves ganhou novo impulso e perspectiva, quando, então se obtiveram determinações mais acuradas do

Tabela I — Números diplóides de cromossomos encontrados em *Gallus domesticus* por vários autores e em diferentes anos (segundo MATTHEY<sup>(19)</sup>).

AUTOR	ANO	Número diplóide	
		macho	fêmea
Shiwago	1924	32	32
Hance	1926	36	35
Akkeringa	1927	32	32
Susuki	1930	74	73
White	1932	66	65
Popoff	1933	60-70	(60-70) - 1
Sokolow	1936	32-71	(32-71) - 1
Susuki	1938	78	77
Yamashina	1944	78	77

O início da carilogia das aves foi marcado por grandes dificuldades técnicas no que diz respeito à fixação deste material, e, em consequência, a deter-

número de cromossomos (MATTHEY<sup>(19)</sup>).

À medida que as técnicas citológicas foram permitindo melhor e mais clara

\*Professor-Doutor do Departamento de Biologia Geral - CCB/FUEL.

caracterização dos microcromossomos, também foi sendo mais corretamente determinado o número de cromossomos nas espécies analisadas. Este fenômeno torna-se mais claro ao se observar os dados da Tabela I, onde se encontram os números diplóides de cromossomos obtidos para a espécie *Gallus domesticus* por vários autores e em diferentes análises ao longo de duas décadas.

KEMP<sup>(14)</sup>, usando células da medula óssea e fibroblastos, foi o primeiro autor a se utilizar das técnicas de cultura de tecidos para o estudo dos cromossomos humanos, enquanto CHRUSTCHOV & BERLIN<sup>(6)</sup> foram os primeiros a conseguir cultivar leucócitos humanos. As possibilidades de obtenção de cromossomos metafásicos melhoraram com a descoberta de que a colchicina promovia um acúmulo de metáfases em células de *Allium cepa* em divisão (GAVANDAN et alii<sup>(11)</sup>). LEVAN<sup>(15)</sup> estendeu o tratamento com colchicina para células em cultura.

Tentativas para usar a água de torneira como pré-tratamento hipotônico de células animais destinadas ao estudo cromossômico, foram feitas por MAKINO & NISHIMURA<sup>(17)</sup>, os quais notaram sua eficiência no intumescimento de células e na dispersão dos cromossomos. No entanto, foi HSU<sup>(13)</sup> o primeiro pesquisador a estudar os cromossomos humanos em células que estavam crescendo *in vitro*, usando colchicina e pré-tratamento hipotônico (solução salina) antes da fixação das mesmas. Tais passos permitiam, respectivamente, um acúmulo de metáfases e melhor dispersão dos cromossomos, facilitando desse modo, a individualização dos cromossomos e sendo fundamentais dentro da Citogenética.

O trabalho de TJIO & LEVAN<sup>(34)</sup> deu início a um período de alta produtividade na Citogenética. Esses autores, ao realizarem cultura de pulmão de embrião humano, com o posterior choque hipotônico das células (predito por HSU<sup>(13)</sup>), obtiveram preparações citológicas que possibilitaram a exata determinação do número e das caracte-

terísticas dos cromossomos da espécie humana.

Em 1955, OSGOOD & BROOK<sup>(22)</sup>; OSGOOD & KRIPPAEHN<sup>(23)</sup> e RIGAS & OSGOOD<sup>(26)</sup> desenvolveram um sistema de cultura "em gradiente" tanto para sangue de pessoas leucêmicas como de normais. Esses autores mostraram que, com a adição de fitohemaglutinina, substância extraída do feijão (*Phaseolus vulgaris*), conseguia-se aglutinar os eritrócitos e ao mesmo tempo separá-los dos leucócitos. Além disto, observaram figuras mitóticas em células de pessoas normais.

Impressionados com esses achados, Nowell e col., em 1958 (segundo MAKINO<sup>(16)</sup>); iniciaram uma série de experimentos, chegando finalmente à conclusão de que a fitohemaglutinina atuava como iniciador da mitose de leucócitos humanos normais em cultura. Os resultados desses experimentos foram publicados por Nowell, em 1960, e esta técnica, combinada com o uso da colchicina e do tratamento hipotônico foi, então, introduzida rotineiramente em estudos citogenéticos: Nowell e col., em 1958; Hungerford e col., em 1959; Moorhead e col., em 1960; Moorhead, em 1964; segundo MAKINO<sup>(16)</sup>.

A obtenção desses conhecimentos pela citogenética humana, com a posterior transferência dos mesmos para toda a citogenética animal fez com que houvesse um grande impulso nesta área.

#### PERSPECTIVAS

Com o advento das técnicas de bandas cromossômicas, o conhecimento das variações cariotípicas foi grandemente enriquecido. Anteriormente a essas técnicas, os estudos dos cromossomos baseavam-se na morfologia, tamanho, presença ou ausência de satélites e constrições secundárias. As técnicas de "bandamento" cromossômico possibilitaram um aumento no número de características cromossômicas analisáveis, tornando mais precisas a detecção e interpretação de arranjos cromossômicos bem como a compreensão das relações cariotípicas

entre as várias espécies em estudo.

Evidentemente, a diferenciação longitudinal dos cromossomos com suas conseqüentes discriminações individuais, provocou conhecimento mais amplo e profundo dos caminhos seguidos pela natureza durante a evolução cariotípica das suas espécies.

A partir do trabalho de CASPERSSON et alii<sup>(3)</sup>, desenvolveram-se várias técnicas de obtenção de bandas. Entre as que permitem a diferenciação longitudinal dos cromossomos podemos citar: bandas Q (CASPERSSON et alii<sup>(3, 4, 5)</sup>); bandas G (DRETS & SHAW<sup>(8)</sup>); (SEABRIGHI<sup>(28)</sup>); (SUMMER et alii<sup>(32)</sup>); e bandas R (DUTRILLAUX & LEJEUNE<sup>(10)</sup>). Dentre aquelas que demarcam regiões cromossômicas específicas estão: as bandas C (PARDUE & GALL<sup>(24)</sup>); (ARRIGHI & HSU<sup>(1)</sup>); as bandas T (DUTRILLAUX<sup>(9)</sup>) e as bandas NOR (GOODPASTURE & BLOOM<sup>(12)</sup>); BLOOM & GOODPASTURE<sup>(2)</sup>.

Em aves, somente alguns autores se valeram das técnicas de formação de bandas cromossômicas para realizar análises cariotípicas (STEFOS & ARRIGHI<sup>(29)</sup>); TAKAGI & SASAKI<sup>(33)</sup>); STOCK et alii<sup>(30)</sup>); WANG & SHOFFNER<sup>(36)</sup>); STOCK & MENDGEN<sup>(31)</sup>); COMINGS & WYANDT<sup>(1)</sup>); RAMAN et alii<sup>(25)</sup>); RYTTMAN et alii<sup>(27)</sup>). Nesta classe de vertebrados, a espécie *Gallus domesticus* é a mais estudada, não somente pelas técnicas convencionais de coloração, como também pelos processos de bandamento cromossômico (WANG & SHOFFNER<sup>(35, 36)</sup>); MATEESCU et alii<sup>(18)</sup>); TAKAGI & SASAKI<sup>(33)</sup>); STOCK et alii<sup>(30)</sup>); MONALACHE<sup>(21)</sup>); STOCK & MENDGEN<sup>(31)</sup>).

Portanto, com o aperfeiçoamento das técnicas de preparações citogenéticas e principalmente com a aplicação das técnicas de bandamento cromossômico, abriram-se grandes perspectivas para a realização de trabalhos de fundamental importância em citogenética da avifauna brasileira, até o momento tão carente desses dados.

#### SUMMARY

This review article shows not only the general relationship between the development of bird cariology and the development of general cytogenetics, but also the paucity of bird cytogenetic data, and the perspectives in this research area.

## BIBLIOGRAFIA

1. ARRIGHI, F.E. & HSU, T.C. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, 10: 81-86, 1971.
2. BLOOM, S.E. & GOODPASTURE, C. An improved technique for selective staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Hum. Genet.* 34: 199-206, 1976.
3. CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G.E., KUDYNOWSKI, S., MODEST, E.S., SIMONSSON, K., WANG, V. & ZECH, L. Chemical differentiation along metaphase chromosome. *Exp. Cell Res.* 49: 219-222, 1968.
4. CASPERSSON, T., ZECH, L. & JOHANSSON, L. Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp. Cell Res.* 60: 315-319, 1970.
5. CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E.J., FOLEY, G.E., WANG, V., & SIMONSSON, E., Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in *Vicia faba* metaphase chromosomes. *Exp. Cell Res.*, 58: 128-140, 1969.
6. CHRUSTSCHOV, G., & BERLIN, E.A., Cytological investigations on culture of human blood. *J. Genet.* 31: 243-260, 1935.
7. COMINGS, D.E. & WYANT, H.E. Reverse banding of Japanese quail microchromosomes. *Exp., Cell Res.* 90: 183-185, 1976.
8. DRETS, M.E. & SHAW, M.W. Specific banding patterns of human chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 2073-2077, 1971.
9. DUTRILLAUX, B. Nouveaux système de marquage chromosomique des bands. *T. Chromosoma*, 41: 395-402, 1973.
10. DUTRILLAUX, B. & LEJEUNE, J. Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 272: 2638-2639, 1971.
11. GAVANDAN, P., GAVANDAN, N. & POMRIASKINSKI-KOBOZIEFF, N. Sur l'influence de la colchicine sur la caryocinèse dans les méristèmes de *Allium cepa*. *C. R. Soc. Biol.* 125: 705-707, 1937.
12. GOODPASTURE, C. & BLOOM, S.E. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*, 53: 37-50, 1975.
13. HSU, T.C. Mammalian chromosome "in vitro". I. The karyotype of man. *J. Hered.*, 43: 167-172, 1952.
14. KEMP, T. Ueber des Vechalter der Chromosomen in der somatischen Zellen des Menschen. *Z. Mikr. Anat. Forsh.*, 16: 1-20, 1929.
15. LEVAN, A. The Effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. *Hereditas*, 24: 471-486, 1938.
16. MAKINO, S. Studies on human chromosomes in the past and today. In: *Human Chromosomes*. Tokyo, Igaku Shoin Ltd., p. 7-21, 1975.
17. MAKINO, S. & NISHIMURA, I. Water pretreatments squash technique. *Stain Techn.* 27: 1-7, 1952.
18. MATEESCU, V. STEFANESCU, M. & STAVAR, P. G-banding patterns in *Gallus Domesticus* macrochromosomes. Proc. XV WORLD'S POULTRY SCI. CONGRESS, New Orleans, p. 321-323, 1974.
19. MATTHEY, R. *Les Chromosomes des vertébrés*. F. Rouge-Lausanne, Librairie de L'Université, 1949.
20. MAYR, E. Biological properties of species. In: *Animal species and Evolution*. Cambridge, The Belknap Press of Harvard University Press, 1963, p. 50-109.
21. MONALACHE, M. Characterization of the chromosome complement in *Gallus domesticus* by G-banding. *Avian Chrom. Newslet.*, 3: 8-9 1974.
22. OSGOOD, E.E. & BROOKE, J.H. Continuous tissue culture of leukocytes from human leukemic bloods by application of "gradient" principle. *Blood*, 10: 1010-1022, 1955.
23. OSGOOD, E.E. & KRIPPAEHN, M.L. The gradient tissue culture method. *Exp. Cell Res.*, 9: 116-127, 1955.
24. PARDUE, M.L. & GALL, J.G. Chromosomal localisation of mouse satellite DNA. *Science*, 168: 1356-1358, 1970.
25. RAMAN, R., JACOB, M. & SHARMA, T. Heterogeneity in distribution of constitutive heterochromatin in four species of birds. *Genetica*, 48: 61-65, 1978.
26. RIGAS, D.A. & OSGOOD, E.E. Purification and properties of the Phitohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris*. *J. Bioch. Chem.*, 212: 607-609, 1955.
27. RYTTMAN, H., TEGELSTROM, H. & JANSSON, H. G-and C-banding in four related *Larus* species (Aves). *Hereditas*, 91: 143-148, 1979.
28. SEABRIGHT, M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, ii: 971-972, 1971.
29. STEFOS, K. & ARRIGHI, F.E. Repetitive DNA of *Gallus domesticus* and its cytological locations. *Exp. Cell Res.*, 83: 9-14, 1974.
30. STOCK, A.D., ARRIGHI, F.E. & STEFOS, K. Repetitive Chromosome homology in birds: banding patterns of the chromosomes of the domestic chicken, ring-necked dove and domestic pigeon. *Cytogenet. Cell Genet.*, 13: 410-18, 1974.
31. STOCK, A.D. & MENDGEN, G.A. Chromosome banding pattern conservation in birds and nonhomology of chromosome banding patterns between birds, turtles and amphibians. *Chromosoma*, 50: 69-77, 1975.
32. SUMMER, A.T., EVANS, H.J. & BUCKLAND, R. New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol.*, 232: 31-32 1971.
33. TAKAGI, N. & SASAKI, M. A phylogenetic study of bird karyotypes. *Chromosoma*, 46: 91-120, 1974.
34. TJIO, J.H. & LEVAN, A. The chromosome number of man. *Hereditas*, 42: 1-6, 1956.
35. WANG, N. & SHOFFNER, R.N. Two types of trypsin banding of chicken chromosomes. *Avian Chrom. Newslet.*, 2: 24-25, 1973.
36. WANG, N. & SHOFFNER, R.N. Trypsin G-and C-banding for interchange analysis and sex identification in the chicken. *Chromosoma*, 47: 61-60, 1974.