

ANALISIS CARIOTIPICO DE SIETE ESPECIES DE TIRANIDOS (*TYRANNIDAE*)

R.J. GUNSKI, G. S. CABANNE, M.A.; LEDESMA Y A. DEL. V. GARNERO
Dpto. de Genética, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales
Universidad Nacional de Misiones
Félix de Azara 1552 (3300) Posadas, Misiones, Argentina
E-mail: genaves@fceqyn.unam.edu.ar

Karyotypic analysis of seven species of Tyrant Flycatchers (*Tyrannidae*)

ABSTRACT. Seven species of Tyrannidae from NE Argentina were cytogenetically studied. The chromosome number and basic morphology of *Myiarchus ferox* ($2n=76$), *Tyrannus savana* ($2n=78$), and *Elaenia parvirostris* ($2n=78$) are described for the first time, while *Pitangus sulphuratus* ($2n=78$), *Tyrannus melancholicus* ($2n=78$), *Platyrinchus mystaceus* ($2n=60$) and *Cnemotriccus fuscatus* ($2n=84$) are re-analyzed. The adult specimens were captured with mist nets and chromosome preparations were stained from embryonic cells and bone marrow. *P. mystaceus* presents a low diploid number for its class ($2n=60$) with predominance of banded chromosomes. *M. ferox* has a W chromosome proportionally bigger than usual for Passeriformes. *T. savana* and *T. melancholicus* show differences only at the second chromosomal pair and at Z chromosome. A discrepancy with previous data is shown for *P. sulphuratus* ($2n=78$) versus the previous report ($2n=68$).

KEY WORDS: Tyrannidae, Cytogenetics, Karyotype, NE Argentina.

RESUMEN. Se presenta el número y morfología cromosómica de siete integrantes de la familia Tyrannidae del NE de Argentina: *Myiarchus ferox* ($2n=76$), *Tyrannus savana* ($2n=78$), *Elaenia parvirostris* ($2n=78$), *Pitangus sulphuratus* ($2n=78$), *Tyrannus melancholicus* ($2n=78$), *Platyrinchus mystaceus* ($2n=60$) y *Cnemotriccus fuscatus* ($2n=84$). En el presente trabajo se describen por primera vez los cariotipos de las tres primeras especies. El muestreo de los ejemplares adultos se realizó con redes de niebla y las preparaciones cromosómicas se obtuvieron a partir de células embrionarias y de médula ósea. *P. mystaceus* presenta un número cromosómico relativamente bajo para la clase, con predominio de cromosomas bibraquiales. El cromosoma W observado en *M. ferox* es proporcionalmente mayor al encontrado generalmente en Passeriformes. Cariotípicamente, *T. savana* y *T. melancholicus* se diferencian en la morfología del 2º par y el cromosoma sexual Z y para *P. sulphuratus* se determinó un número diploide significativamente diferente al encontrado en trabajos previos ($2n=68$).

PALABRAS CLAVES: Tyrannidae, Citogenética, Cariotipo, Noreste de Argentina.

INTRODUCCION

Según una clásica y ampliamente aceptada clasificación para los passeriformes suboscines propuesta por Wetmore (1960), la familia Tyrannidae estaría contenida en la superfamilia Tyrannoidea, en el suborden Tyranni dentro del orden Passeriformes. La familia Tyrannidae incluye a las aves comúnmente llamadas viuditas, monjitas, benteveos, fiofíos, etc. que se distribuyen a lo largo del continente americano, totalizando 380 especies, encontrándose 122 de ellas en la Argentina. La Provincia de Misiones con aproximadamente 600 especies de aves citadas (Narosky e Yzurieta 1987), representa la región de mayor diversidad de la Argentina y una de las pocas re-

giones donde es posible analizar especies de la Selva Paranaense (Brazilian Rain Forest) (Udvardy 1975).

En 1987 Shields (1987) cita aproximadamente 600 especies de aves cariotipadas a las que, si se suman los datos de trabajos de Bian *et al.* (1988) y Mittal y Sharma (1989) se tendrían unas 700 especies estudiadas citogenéticamente al fin de la década del 80, número que hasta la fecha no fue superado ampliamente. Las cifras de especies de aves estudiadas cariotípicamente en relación al número total de especies resultan extremadamente bajas en relación a otros grupos de vertebrados.

Los cariotipos de las aves se caracterizan por tener cromosomas dentro de un amplio rango de tama-

ños. Por esta razón, es común hablar de macrocromosomas y microcromosomas, aunque exista discrepancia entre diversos autores para definir criterios que permitan diferenciarlos. Sin embargo, se podría asumir que los microcromosomas son: a) cromosomas muy pequeños, Ohno *et al.* (1964) proponen un límite de longitud de 0.7 μ m, por lo que es imposible diferenciarlos entre sí, y b) no permiten definir la posición del centrómero con tinción convencional. Bian *et al.* (1988) también proponen un límite de longitud para los microcromosomas, estos serían aquellos que no superen el 80 % de la longitud del cromosoma Z. Esto considerando el aparente conservacionismo en tamaño de este cromosoma, habitualmente ordenado en 4º o 5º lugar en el total de macrocromosomas. Pero existen excepciones, como en pájaros carpinteros (Picidae), donde el Z es el cromosoma de mayor tamaño del complemento (Gunski *et al.* 1996).

Tegelström y Rytman (1981) definen al cariotipo de las aves como altamente conservado, proponiendo un "cariotipo standard" de 16 macrocromosomas y 64 microcromosomas, y un número diploide de 80 cromosomas. Estos autores hallaron una correlación

negativa entre el número de micros y macrocromosomas. Observando también que en los casos de especies con alto número de microcromosomas prevalecen los macrocromosomas de morfología monobraquial o acrocéntricos. Y a la inversa en las especies con menos microcromosomas prevalecen los macrocromosomas bbraquiales, sugiriendo con estos datos, un proceso de evolución cariotípica en las aves consistente en translocaciones robertsonianas entre macros y microcromosomas y fusiones céntricas entre estos últimos.

A pesar de ser una de las familias más numerosas y mejor conocidas taxonómicamente, menos del 2% de las especies de tiránidos han sido analizadas cariotípicamente (Lucca y Chama, 1977; Rocha, 1987; Shields *et al.*, 1987; Carvalho, 1989 y Gunski, 1995). El objetivo del presente trabajo fue analizar citogenéticamente las siguientes especies de la familia Tyrannidae: *Platyrinchus mystaceus*, *Myiarchus ferox*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Tyrannus melancholicus*, *Tyrannus savana*, *Elaenia parvirostris* y *Pytangus sulphuratus*.

Tabla 1. Detalle de los ejemplares analizados.

ESPECIE	SEXO	LOC. DE MUESTREO	Nº CFA**
<i>P. mystaceus</i>	Macho	Sta. Ana, Misiones	009798
<i>P. mystaceus</i>	Macho	Sta. Ana, Misiones	009797
<i>P. mystaceus</i>	Macho	Sta. Ana, Misiones	0010032
<i>P. mystaceus</i>	Hembra	Sta. Ana, Misiones	0010199
<i>P. mystaceus</i>	Macho	Sta. Ana, Misiones	0010198
<i>M. ferox</i>	Macho	Gdor. Roca, Misiones	009862
<i>M. ferox</i>	Hembra	Sta Ana, Misiones	0010202
<i>M. ferox</i>	Hembra	Playadito, Corrientes	009965
<i>M. ferox</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009966
<i>C. fuscatus</i>	Hembra	Sta. Ana, Misiones	009799
<i>C. fuscatus</i>	Macho	Sta Ana, Misiones	009795
<i>T. melancholicus*</i>	Macho	Sta. Ana, Misiones	---
<i>T. melancholicus*</i>	Hembra	Sta. Ana, Misiones	---
<i>T. savana*</i>	Macho	Apóstoles, Misiones	---
<i>T. savana*</i>	Hembra	Apóstoles, Misiones	---
<i>E. parvirostris</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009961
<i>E. parvirostris</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009956
<i>E. parvirostris</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009959
<i>E. parvirostris</i>	Hembra	Playadito, Corrientes	009696
<i>E. parvirostris</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009588
<i>P. sulphuratus</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009964
<i>P. sulphuratus</i>	Macho	Playadito, Corrientes	009586
<i>P. sulphuratus</i>	Macho	Playadito, Corrientes	0010113
<i>P. sulphuratus</i>	Hembra	Bonpland, Misiones	0010036

* Embrión

** Número de Catálogo en la Colección Félix de Azara.

MATERIALES Y METODOS

En la Tabla 1 se detallan por especie, sexo, local de muestreo y número de catálogo de la Colección Félix de Azara, el número de ejemplares analizados. Se utilizaron embriones y ejemplares adultos muestreados con redes de neblina ("mist net") en diferentes localidades de la Provincia de Misiones y norte de Corrientes.

La identificación taxonómica de las aves, ha sido realizada por el Profesor Julio R. Contreras (CONICET) y los ejemplares se encuentran depositados en la colección Félix de Azara (Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Bs. As).

Los embriones fueron procesados de acuerdo a la técnica de De Boer *et al.*, (1984), con modificaciones. En los ejemplares adultos, se utilizó la técnica modificada de cultivo directo de médula ósea (Garnero & Gunski en prensa), previa inyección de una solución glucosada de levadura en proporción al peso corporal. Las preparaciones fueron teñidas con una solución de Giemsa (Biopur) en buffer fosfato pH 6.8. La identificación de los cromosomas sexuales se efectuó aplicándose la técnica de bandeado C (Sumner 1972) con modificaciones.

Los cromosomas fueron ordenados de acuerdo con la clasificación propuesta por Levan *et al.*, (1964).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente trabajo se describen por primera vez los complementos cromosómicos de *M. ferox*, *T. savana* y *E. parvirostris* evidenciando estas especies, así como *P. mystaceus*, *C. fuscatus*, *T. melancholicus* y *P. sulphuratus* particularidades que merecen ser consideradas en detalle.

Descripción de los Cariotipos:

1. *Platyrinchus mystaceus*.

En la Figura 1A se presenta el cariotipo parcial de una hembra de *P. mystaceus* cuyo número diploide así como el sugerido para la especie es igual a 60 cromosomas, con 11 pares de macrocromosomas y 19 pares de microcromosomas.

El cromosoma Z es acrocéntrico, equivalente en tamaño al 4º o 5º par, en tanto el cromosoma W es también acrocéntrico similar en tamaño al 8º par.

Los pares 1º y 2º son submetacéntricos medianos. Los pares 3º, 4º y 5º son acrocéntricos, en tanto que los restantes son metacéntricos o submetacéntricos pequeños.

2. *Myiarchus ferox*.

En la Figura 1B se muestra el cariotipo parcial de una hembra de *M. ferox* que posee 76 cromosomas, con 20 macrocromosomas y 56 microcromosomas. El cromosoma Z es submetacéntrico mediano. El W es también submetacéntrico, destacándose su tamaño, teniendo en cuenta que el W es generalmente uno de los menores macrocromosomas. Los dos primeros pares del complemento, muy similares en morfología y tamaño, son acrocéntricos con diminutos brazos cortos. Los demás pares de macrocromosomas son también acrocéntricos con pequeños brazos cortos en los pares 4º, 5º y 6º.

3. *Cnemotriccus fuscatus*:

De las especies aquí analizadas, *C. fuscatus* es la que presentó el más alto número cromosómico, $2n=84$ caracterizándose por la posición terminal o subterminal de los centrómeros de sus macrocromosomas (Figura 1C).

El complemento se compone de 12 pares de macrocromosomas y 30 pares de microcromosomas. El cromosoma Z es submetacéntrico y el W acrocéntrico muy pequeño.

Los primeros 8 pares son acrocéntricos con diminutos brazos cortos en algunos de ellos. El 9º par es metacéntrico, el 10º es un pequeño par con una notable constricción secundaria banda C positiva que se muestra en la Figura 2 A-B.

4. *Tyrannus melancholicus*:

En la Figura 1D se observa el cariotipo parcial de una hembra cuyo número cromosómico diploide es igual a 78, con 10 pares de macrocromosomas y 29 pares de microcromosomas.

El cromosoma Z es submetacéntrico, mediano y equivalente en tamaño al 5º par. El cromosoma W es acrocéntrico similar en tamaño al 8º par. Entre los macrocromosomas los pares 1º, 2º, 4º y 5º son submetacéntricos, los demás son acrocéntricos con excepción del 9º que es metacéntrico y uno de los menores del complemento.

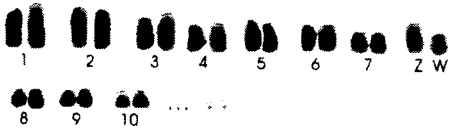
5. *Tyrannus savana*:

La Figura. 1E muestra el cariotipo parcial de una hembra. Se propone para esta especie un número diploide de 78 cromosomas, con 10 pares de macrocromosomas y 29 pares de microcromosomas. El cromosoma Z es acrocéntrico mediano, equivalente en tamaño al 5º par, evidenciándose pequeños brazos cortos. El W también es acrocéntrico pero de menor tamaño (8º-9º). Los pares 1º, 4º y 5º son submetacéntricos, los demás acrocéntricos con conspicuos brazos cortos.

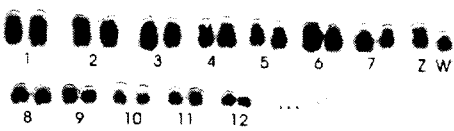
A.- *P. mystaceus*



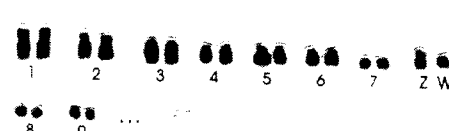
B.- *M. ferox*



C.- *C. fuscatus*



D.- *T. melancholicus*



E.- *T. savana*



F.- *E. parvirostris*



G.- *P. sulphuratus*



Fig. 1 Cariotipos parciales de ejemplares hembras de *Platyrinchus mystaceus* (A), *Myiarchus ferox* (B), *Cnemotriccus fuscatus* (C), *Tyrannus melancholicus* (D), *Tyrannus savana* (E), *Elaenia parvirostris* (F) y *Pitangus sulphuratus* (G).

6. *Elaenia parvirostris*:

E. parvirostris presenta un $2n=78$ (Figura 1F), el par sexual está constituido por cromosomas acrocéntricos. Los autosomas, con excepción del 1º par que es submetacéntrico, son acrocéntricos, observándose diminutos brazos cortos en los pares 4º, 5º y 6º, muy semejantes en morfología y tamaño. Los pares 2º y 3º son acrocéntricos medianos prácticamente indistinguibles entre si.

7. *Pitangus sulphuratus*:

El cariotipo parcial de una hembra se muestra en la Figura 1G. El número cromosómico observado en esta especie es $2n=78$, con 9 pares de macrocromosomas y 30 pares de microcromosomas. El par sexual está constituido por el cromosoma Z, submetacéntrico y el W acrocéntrico pequeño. El 1º par es submetacéntrico mediano, con excepción del 9º par que es metacéntrico todos los demás son acrocéntricos distinguiéndose en algunos de ellos diminutos brazos cortos.

P. mystaceus, previamente analizado por Gunski (1995) tiene un número diploide sorprendentemente bajo ($2n=60$), considerando que el número medio de cromosomas en aves es de aproximadamente 80 (Tegelström *et al.*, 1983). Este número es equiparable al más bajo encontrado para Colúmbidos $2n=68$ en *Uropelia campestris*; (Lucca 1980), o como en Falcónidos en *Falco sparverius* $2n=50$ (Lucca 1983). Los tres primeros pares del complemento se corresponden con aquellos que caracterizan al cariotipo básico de las aves (Tegelström y Rytzman, 1981 Tegelström *et al.* 1983), observándose varios pares de pequeños cromosomas bbraquiales que podrían resultar de rearrreglos robertsonianos como fusiones céntricas entre microcromosomas, dando como resultado una reducción numérica del complemento.

Corythopsis delalandi, *Myiophobus fasciatus* y *Camptostoma obsoletum* (Gunski, R..J. datos no publicados) constituyen un grupo de especies que presentan cariotipos con características morfológicas y numéricas semejantes a las descritas para *P. mystaceus*, lo cual a pesar del reducido número de especies analizadas, sugeriría una estrategia evolutiva común, a nivel cromosómico en algunos integrantes de esta Familia.

En *M. ferox* y *C. fuscatus*, se observa una marcada predominancia de cromosomas acrocéntricos, en algunos casos con perceptibles brazos cortos. Los dos primeros pares en estas especies son acrocéntricos y contrastan con los datos de Tegelström & Rytzman (1981) quienes observaron que el 80% de las especies analizadas presentan cromosomas metacéntricos

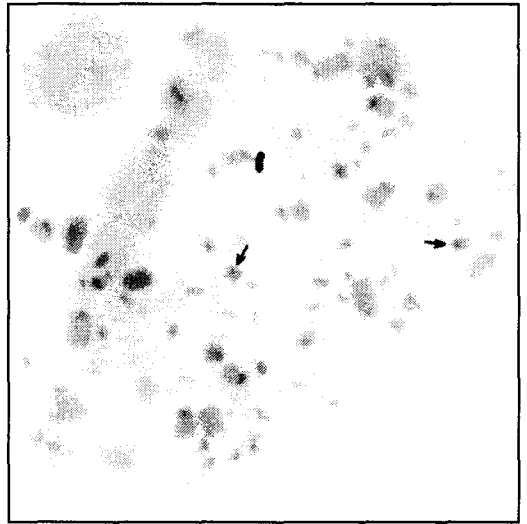


Figura 2 A-B. Análisis secuencial Giemsa – Banda C en *Cnemotriccus fuscatus*, las flechas muestran la constricción secundaria (C+) del brazo corto de los miembros del par 10.

o submetacéntricos en estos pares. Resultados similares fueron obtenidos por Shields *et al* (1987) para *Empidonax alnorum*, *E. hamondii* y *E. traillii*. El número cromosómico de *C. fuscatus* $2n=84$ supera al determinado por Rocha (1987) para *Xolmis cinerea* ($2n=80$), representando el tiránido con el mayor número hasta ahora descrito. En metafases de excelente calidad es posible observar en el par 10° , la presencia de una constricción secundaria (banda C positiva) de casi el mismo tamaño que el brazo largo. La morfología y tamaño de este par son semejantes a la del par descrito para *P. sulphuratus*, especie en la cual las regiones organizadoras del nucléolo se evidencian en el satélite de dicho par (Rocha y Lucca, 1988).

Cariotípicamente, *T. melancholicus* y *T. savanna* son muy semejantes con diferencias remarcables en el 2° par, que en *T. melancholicus* es submetacéntrico y en *T. savanna* se presenta como acrocéntrico. El cromosoma Z en estas especies, muestra las mismas características que fueron señaladas para el par 2, siendo submetacéntrico en *T. melancholicus* y acrocéntrico en *T. savanna*. Considerando que las longitudes relativas de estos cromosomas en ambas especies son muy semejantes, reordenamientos estructurales del tipo de inversiones pericéntricas podrían ser responsables de la notable diferencia morfológica entre ambos. El empleo de técnicas de coloración diferencial (bandeo G) así como el análisis de la otra especie local integrante del género *T. tyrannus* aportarían datos significativos al respecto.

Los resultados obtenidos para *E. parvirostris* son

preliminares y constituyen un primer avance sobre el género, sin duda uno de los más complejos, no sólo por el número de especies que lo componen, sino también por la gran semejanza fenotípica entre las mismas, la cual dificulta su clasificación taxonómica; el análisis cariotípico y de los respectivos patrones de bandeo, podrían constituirse en herramientas de suma utilidad en la identificación de las diferentes especies de fiofios.

El cariotipo de *P. sulphuratus* fue descrito por Rocha (1987) con un $2n=68$, a partir del análisis de dos ejemplares, un macho y una hembra, capturados en la región de Botucatu, estado de San Pablo, Brasil. Los cuatro ejemplares incluidos en este estudio y dos analizados recientemente, presentan un número diploide igual a 78 cromosomas. En base a las comparaciones realizadas con el trabajo de Rocha & Lucca (1988), aparentemente no habría diferencias en relación a los macrocromosomas, a pesar de no haberse obtenido, a fines de comparación los cariotipos originales del trabajo de Rocha (1987).

A pesar del conteo de un número elevado de metafases (20, aumentándose en casos de duda como el presente), la presencia de un elevado número de microcromosomas, que fácilmente pueden ser confundidos con manchas de colorante, residuos celulares o por ejemplo ser contados como uno solo cuando están dispuestos muy juntos en la metafase, pueden llevar a confusiones en el número total de cromosomas. Sin embargo, la diferencia observada con respecto a los datos de Rocha (1987) son significativas y requieren

de un análisis profundo de las mismas.

Las observaciones realizadas en *P. mystaceus*, *T. savana* y *E. parvirostris* revelan cromosomas Z acrocéntricos. En cambio *C. fuscatus*, *M. ferox*, *P. sulphuratus* y *T. melancholicus* muestran cromosomas Z submetacéntricos. Estos datos indican una importante variabilidad para este cromosoma, no observada en otros grupos como Ciconiidae, Falconidae (Belterman y De Boer 1984), Psittaciformes (Christidis *et al.* 1991) y Columbiformes (Gunski *et al.* 1995). El cromosoma W con excepción de *M. ferox* no presentó variaciones considerables en su morfología. En esta especie, el W es submetacéntrico y además, se distingue por su tamaño proporcionalmente mayor que el standard para la Clase.

CONCLUSIONES

Las observaciones realizadas del reducido número cromosómico de *P. mystaceus*, las características de los macrocromosomas de *M. ferox* y *C. fuscatus* o las diferencias observadas con respecto a trabajos previos en el número diploide de *P. sulphuratus*, evidencian la necesidad de continuar y profundizar las investigaciones citogénicas en Tiranidos que muestran una gran variabilidad cariotípica numérica y morfológica, lo que sugiere diferentes estrategias evolutivas a nivel cromosómico entre especies taxonómicamente próximas.

BIBLIOGRAFIA CITADA

BELTERMAN, R.H.R. & DE BOER, L.E.M. 1984. A karyological study of 55 species of birds, including karyotypes of 39 species new to cytology. *Genetica* 65: 39-82..

BIAN, X.; LI Q. & ZHANG H. 1988. Chromosome Atlas of Birds. ISBN 7-5611-0085-/Q.6.

Carvalho, M.V.P. 1989. Estudos citogenéticos na Família Fringilidae (Passeriformes-Aves). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Dissertação de Mestrado.

CHRISTIDIS, L.; SHAW, D. & SCHODDE, R. 1991. Chromosomal evolution in parrots, lorikeets and cackatoos (Aves:Psittaciformes). *Hereditas* 114: 47-56.

DE BOER, L.E.M., DE GROEN, T.A.G., FRANKENHUIS, M.T., ZONNEVELD, A.J., SALLEVELT, J. & BELTERMAN, R.H.R. 1984. Triploidy in *Gallus domesticus* embryos, hatchlings and adult intersex chickens. *Genetica*. 65: 83-87.

GUNSKI, R.J. 1995. Estudos Citogenéticos em Aves da Floresta Misionera. *Atualidades Ornitológicas* 68: 5.

SUMNER, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin.-*Expl. Cell Res.* 75: 304-306.

GUNSKI, R.J.; BLANCO, P. V.; RIVIELLO LOPEZ, G. & EL HAKEH, J.L. 1995. Estudios de las regiones organizadoras de nucleolo en palomas (Aves: Columbidae). *Anales XXVI Congr. Arg. de Genética*. San Carlos de Bariloche. Argentina.

GUNSKI, R.J.; GARNERO, A. DEL V.; LEDESMA, M.A.; CHENA, C.P.; CABANNE, G.S. 1996. El Cariotipo de Tres Especies de Pájaros Carpinteros (Aves: Picidae). *Anales XXIX Reunión Anual de la Sociedad de Genética de Chile. XXVII Congreso Argentino de Genética*. Viña del Mar Chile.

LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG. 1964. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes *Hereditas* 52: 201-220.

LUCCA, E.J. 1980. Mecanismos de evolução cromossômica em Columbiformes e Psittaciformes. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. Tese de Livre Docência.

LUCCA, E.J. 1983. Somatic chromosomes of *Falco sparverius* and *Buteo magnirostris* (Falconiformes - Aves). *The Nucleus* 26 (1): 48-56.

LUCCA, E.J. & CHAMMA, L. 1977. Estudo do Complemento cromossômico de 11 espécies de aves das ordens Columbiformes, Passeriformes e Tinamiformes. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 10 (2): 97-105.

MITTAL, O. P. & SHARMA, V. L. 1989. Chromosomes of three species of Muscicapidae (Passeriformes). *Caryologia* 98: 71-75.

NAROSKY T. & YZURIETA, D. 1987. Guía para la Identificación de las Aves de Argentina y Uruguay. *Asoc. Ornit. del Plata*.

OHNO, S.; STENIUS, C.; CHRISTIAN, L.C.; BEÇAK, W. & BEÇAK M.L. 1964. Chromosomal uniformity in the avian subclass Carinatae. *Chromosoma* 15: 89-92.

ROCHA, G.T. 1987. Estudo do coplemento cromossômico e da região organizadora de nucleolo em algumas espécies de aves. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. Dissertação de Mestrado.

ROCHA, G.T. & LUCCA, E.J. 1988. Nucleolar organizer regions in somatic chromosomes of some species of birds. *Caryologia* 41(3-4): 299-308.

SHIELDS, G.F. 1987. Chromosomal Variation in Avian Genetics. (F.Cooke and P. A. Buckley Ed.), Academic Press, London, p 79-101.

SHIELDS, G.F.; BARLOW, J.C. & JAMES, R.D. 1987. Karyotypes of five species of *Empidonax flycatchers*. *Wilson Bull.* 99 (2). 169-174.

TEGELSTRÖM, H. & RYTTMAN, H. 1981. Chromosomes in birds (Aves): Evolutionary implications of

- macro-and microchromosome number and lengths. *Hereditas* 94: 225-233.
- TEGELSTRÖM, H.; EBERNHARD, T. & RYTTMAN, H. 1983. Rate of karyotype evolution and speciation in birds. *Hereditas* 98: 235-239.
- ÚDVARDY, M.D.F. 1975. A Classification of the Biogeographical Provinces of the World. Project N°8. Man and the Biosphere Programme UNESCO. UICN. Occasional Paper 18.
- WETMORE, A. 1960. A Classification for the Birds of the World. *Smithson. Misc. Collect.* 139(11):1-37.